

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS



**EVALUACIÓN DE PATOGENICIDAD DE *Fusarium* spp. AISLADOS DE
HUMANOS, ANIMALES Y PLANTAS SOBRE TRES ESPECIES VEGETALES**

ANA MARÍA CEBALLOS ROJAS

TRABAJO DE GRADO

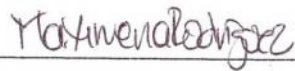
**Presentado como requisito parcial para optar al título de:
BIÓLOGA Y MICROBIÓLOGA INDUSTRIAL**

BOGOTÁ D.C.

2015

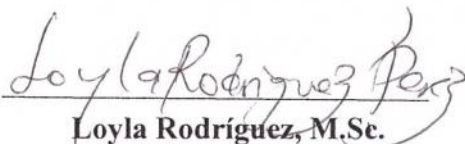
**EVALUACIÓN DE PATOGENICIDAD DE *Fusarium* spp. AISLADOS DE HUMANOS,
ANIMALES Y PLANTAS SOBRE TRES ESPECIES VEGETALES**

ANA MARÍA CEBALLOS ROJAS



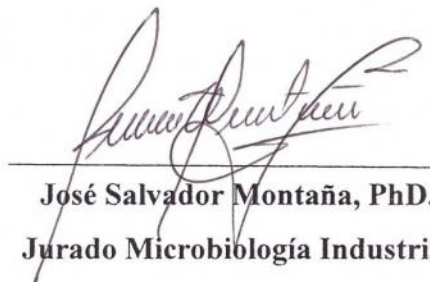
María Ximena Rodríguez, PhD.

Directora



Loyla Rodríguez, M.Sc.

Jurado Biología



José Salvador Montaña, PhD.

Jurado Microbiología Industrial

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y justicia”.

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

*A mi familia, especialmente a mis padres y a mi tía por su constante
Apoyo y amor durante todo el proceso.
Los amo mucho.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a mis padres: Myriam Rojas y Oswaldo Ceballos, porque sin su apoyo y motivación, esto no habría sido posible, a mi tía Patricia por sus consejos y apoyo incondicional en todo momento.

A mi directora de trabajo de grado: María Ximena Rodríguez, por sus enseñanzas y dedicación en pro a mi aprendizaje, por su compromiso y ayuda en el momento crítico del proceso.

A Ángela Alvarado, mi guía, gracias por el apoyo y enseñanzas durante este camino.

A Juan Miguel, por su apoyo incondicional en cada etapa de mi trabajo, a mi hermano: Andrés Ceballos y a mis amigos: Laura Perilla, Teresa Rodríguez, Luisa Benjumea, Camilo Mejía, Ricardo Herrera, Laura Olarte y Catalina García, porque sin todos ustedes finalizar mi trabajo de grado habría sido imposible, gracias de todo corazón.

A mis compañeras de UNIDIA, especialmente a Paola Correa, Laura Escobar, Alejandra Mantilla y Paola Rojas, por sus palabras de ánimo y por su ayuda desinteresada.

A los auxiliares del departamento de microbiología, por toda su colaboración.

Y Finalmente, a mis Jurados: Loyla Rodríguez y José Salvador Montaña, por sus correcciones, sugerencias y críticas constructivas en pro a generar un mejor trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	1
1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	3
3. REFERENTES CONCEPTUALES	4
3.1.Generalidades de <i>Fusarium</i>	4
3.2. <i>Fusarium</i> como patógeno.....	5
3.3.Especies vegetales y desarrollo de la infección por <i>Fusarium</i>	6
3.3.1. Gulupa (<i>Passiflora edulis</i> Sims)	6
3.3.2. Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill)	8
3.3.3. Clavel (<i>Dianthus caryophyllus</i> L)	9
4. OBJETIVOS	10
4.1.Objetivo general	10
4.2.Objetivos específico	10
5. METODOLOGÍA	11
5.1. Obtención especies vegetales	11
5.2. Aislamientos <i>Fusarium</i> spp.....	11
5.3. Preparación inóculos	12
5.4. Ensayo de patogenicidad-Inoculación.....	13
5.5. Variables evaluadas.....	13
5.6. Análisis de Resultados	14
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
6.1.Prueba de patogenicidad en clavel (<i>Dianthus caryophyllus</i> L)	15
6.1.1. Evaluación de síntomas de marchitamiento vascular	20
6.2.Prueba de patogenicidad en tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill)	25
6.3.Prueba de patogenicidad en gulupa (<i>Passiflora edulis</i> Sims)	36
7. CONCLUSIONES	45
8. RECOMENDACIONES	46
9. BIBLIOGRAFÍA	47
10. ANEXOS	54
10.1. Registro fotográfico clavel (<i>Dianthus caryophyllus</i> L)	54
10.2. Registro fotográfico tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill)	56
10.3. Registro fotográfico gulupa (<i>Passiflora edulis</i> Sims)	58
10.4. Registro fotográfico microscopia	60

10.5. Análisis estadístico para los resultados obtenidos en clavel	60
10.6. Análisis estadístico para los resultados obtenidos en tomate.....	63
10.7. Análisis estadístico para los resultados obtenidos en gulupa.....	66

INDICE DE TABLAS

Tabla 5.1. Aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. empleados en el estudio	12
Tabla 5.2. Evaluación de síntomas de marchitamiento vascular	14
Tabla 6.1. Escala de severidad para sintomatología en plantas de clavel	21

INDICE DE FIGURAS

Figura 6.1. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados longitud del tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.	16
Figura 6.2. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados longitud de necrosis vascular. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.	17
Figura 6.3. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados pudrición de raíz. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico.	18
Figura 6.4. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados Manchas necróticas en tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.	19
Figura 6.5. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados Avance del patógeno en el tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.	20

Figura 6.6. Escala de severidad para sintomatología en plantas de clavel..... **21**

Figura 6.7. Prueba de patogenicidad en clavel. Sintomatología evaluada durante 8 semanas. ... **22**

Figura 6.8. Prueba de patogenicidad en tomate. Longitud del tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05. **27**

Figura 6.9. Prueba de patogenicidad en tomate. Longitud necrosis. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05. **28**

Figura 6.10. Prueba de patogenicidad en tomate. Manchas necróticas raíz. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05. **29**

Figura. 6.11. Prueba de patogenicidad en tomate. Tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. **30**

Figura 6.12. Prueba de patogenicidad en tomate. Avance patógeno. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05. **31**

Figura 6.13. Prueba de patogenicidad en gulupa. Longitud Tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Tukey. **37**

Figura 6.14. Prueba de patogenicidad en gulupa. Longitud necrosis. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05. **38**

Figura 6.15. Prueba de patogenicidad en gulupa. Manchas necróticas raíz. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05. **39**

Figura 6.16. Prueba de patogenicidad en gulupa. Manchas necróticas tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen

humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. 40

Figura 6.17. Prueba de patogenicidad en gulupa. Avance patógeno. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05. 41

RESUMEN

Objetivo. Evaluar la patogenicidad de *Fusarium* spp. Proveniente de diferentes orígenes de aislamiento sobre tres especies vegetales. **Metodología.** Se realizaron pruebas de patogenicidad cruzada en tres especies vegetales (clavel, tomate y gulupa) a partir de 12 aislamientos de *Fusarium* spp. provenientes de humanos, animales y plantas. Durante un periodo de dos meses, se evaluó semanalmente la sintomatología característica del marchitamiento vascular (clorosis, pérdida de turgencia, epinastía y defoliación) de cada una de las especies vegetales. Pasados los dos meses de esta evaluación, se determinó el avance del patógeno en el tallo, necrosis vascular, presencia/ausencia de manchas necróticas en tallo y raíz y pudrición de raíces. **Resultados.** Para la especie vegetal *Dianthus caryophyllus* (clavel), se observaron síntomas característicos de fusariosis causados por el aislamiento 314 (*F. oxysporum*) como necrosis vascular, manchas necróticas en tallo, pudrición de raíz y marchitamiento de las plantas, lo que permitió establecer una escala de severidad; adicionalmente, todos los aislamientos de *Fusarium* spp. pudieron ser recuperados a partir de las plantas infectadas. En relación a las especies vegetales *Lycopersicon esculentum* Mill (tomate) y *Passiflora edulis* Sims (gulupa), se encontró que todos los aislamientos causaron necrosis vascular, manchas necróticas en raíz y tallo, pero no se observó clorosis, defoliación, epinastía ni pérdida de turgencia, para estas especies también se lograron recuperar los aislamientos a partir de las plantas infectadas. **Conclusiones.** Los diferentes aislamientos de *Fusarium* spp. empleados en el estudio pudieron establecerse y manifestar algunos síntomas del marchitamiento vascular en las plantas de clavel, tomate y gulupa, independientemente de su especie u origen de aislamiento, por lo cual este hongo podría ser considerado como un posible modelo de patógeno multihospedero.

Palabras clave: Fusariosis. Marchitamiento vascular. Patógeno multihospedero.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos hialinos, estos pueden encontrarse generalmente en el suelo por lo cual han sido relacionados con procesos de patogenicidad en plantas (Summerell y Leslie 2011). Estos hongos con capacidad fitopatogena pueden afectar

raíces, tallos y hojas en diferentes cultivos a nivel mundial (Reyes *et al.* 2012). De las enfermedades producidas por este género destaca el marchitamiento vascular, la cual afecta cultivos de gran interés económico en el sector agrícola, disminuyendo significativamente la producción y la calidad de los mismos (Ortiz 2012).

Algunos hongos pertenecientes al género *Fusarium* también han sido reportados como patógenos emergentes que pueden causar afecciones tanto en humanos como en animales (Olivares *et al.* 2005). Especies como *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. verticillioides*, *F. sporotrichioides*, entre otras han sido relacionadas con procesos de patogenicidad en plantas (Summerell y Leslie 2011) y en humanos donde se pueden encontrar con una mayor frecuencia *F. solani* y *F. oxysporum*, así como *F. verticillioides* entre otras, en una menor proporción (Nucci y Anaissie 2007).

Aunque *Fusarium* es reconocido como un patógeno capaz de generar enfermedades en diferentes hospederos, su capacidad patogénica no está del todo clara, por lo cual se han realizado estudios en donde se abarcan diferentes aspectos sobre este patógeno. Entre estas destacan las pruebas de patogenicidad en plantas las cuales se llevan a cabo en plantas susceptibles al patógeno y se realizan con aislamientos patógenos de estas plantas (Alvarado 2014).

Estas pruebas de patogenicidad son importantes en la determinación de la capacidad de cierto microorganismo para hacer saltos entre reinos, pero se debe destacar que para cualquiera que sea el hospedero, el éxito del desarrollo de la enfermedad dependerá de la interacción entre los factores de patogenicidad que produzca el patógeno, la capacidad para evadir las respuestas de defensa del hospedero y la susceptibilidad del hospedero al patógeno además del entorno en el que se dé la interacción (Van Baarlen *et al.* 2007).

En el presente trabajo se realizaron pruebas de patogenicidad cruzada en plantas de clavel, tomate y gulupa con aislamientos de *Fusarium* provenientes de diferentes orígenes (Humanos, Animales y plantas) con lo cual se pretende generar evidencias experimentales que permitan el planteamiento de *Fusarium* como un modelo de patógeno multihospedero.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Los hongos pertenecientes al género *Fusarium* son reconocidos como microorganismos con capacidad fitopatógena, afectando raíces, tallos y hojas en diferentes cultivos a nivel mundial (Reyes *et al.* 2012). Una de las enfermedades producidas por este género, más ampliamente distribuidas, es el marchitamiento vascular, que afecta cultivos de gran interés económico en el sector agrícola, disminuyendo de manera significativa la producción y la calidad de los mismos (Ortiz 2012). Ejemplo de esto son los cultivos de solanáceas como el tomate (González *et al.* 2012) y pasifloráceas como la gulupa (Cruz *et al.* 2012). Además, esta enfermedad también es uno de los principales limitantes en cultivos ornamentales de exportación en Colombia, especialmente el clavel (Trujillo *et al.* 2005).

De igual manera, *Fusarium* ha sido reportado como un patógeno emergente que puede ocasionar diferentes afecciones tanto en humanos como en animales (Olivares *et al.* 2005). En el caso de humanos, se ha encontrado que la mayoría de los afectados son pacientes inmunosuprimidos, en los que se da una infección a nivel sistémico, razón por lo cual se reconoce como una causa importante de morbilidad y mortalidad en estos pacientes. Además, puede causar enfermedades alérgicas y micotoxicosis en pacientes inmunocompetentes por la ingestión de comida contaminada por toxinas del patógeno. También presenta una alta prevalencia de lesiones superficiales, en piel, uñas y córnea (Cohén 2000; Nucci & Anaissie 2007). En cuanto al sector pecuario, se han reportado lesiones superficiales y micotoxicosis en los animales, lo cual ha llegado a generar abortos y disminución en su crecimiento (Desjardins y Proctor 2007; Nucci & Anaissie 2007; Fagbamila *et al.* 2010).

Por lo mencionado anteriormente y debido a que un mismo aislamiento de *Fusarium* tiene la potencial capacidad de infectar una amplia gama de hospederos, algunas especies se han considerado como posibles modelos de patógenos multihospedero. Un ejemplo de esto es *F. oxysporum*, pues reúne las características patogénicas necesarias para generar enfermedades en hospederos diferentes, además de ser causante de fusariosis vascular en las plantas, es un patógeno emergente oportunista de humanos (Di Prieto y Roncero 2004). A pesar de que se reconoce esta capacidad de *Fusarium*, solo hay dos reportes que evalúan la capacidad de este patógeno para hacer saltos entre reinos en hospederos animales (Navarro-Velasco *et al.* 2011; Ortoneda *et al.* 2004). Por esta razón y por las implicaciones a nivel económico y sanitario que

presentan las infecciones por este hongo, el estudio de la patogenicidad cruzada de aislamientos de *Fusarium* provenientes de diferentes orígenes (humanos, animales y plantas) en diferentes especies vegetales (clavel, tomate y gulupa) se hace necesario para caracterizar su capacidad infectiva en plantas y de esta manera generar evidencias experimentales que permitan el planteamiento de *Fusarium* como un modelo de patógeno multihospedero.

3. REFERENTES CONCEPTUALES

3.1. Generalidades de *Fusarium*

Los hongos pertenecientes al género *Fusarium* presentan una gran distribución a nivel mundial, comúnmente en el suelo, aire y agua. Son de gran importancia desde el punto de vista agrícola (Arbeláez 2000). Este género se encuentra en el filo Ascomycota, clase-forma Hyphomycetes, que se caracteriza por la producción de macroconidios, microconidios y clamidosporas, siendo las últimas los propágulos más resistentes. Los macroconidios se caracterizan por ser fusiformes y fragmentados con una célula basal en forma de pie, su forma es el principal criterio taxonómico para identificación a nivel de especie (Suárez 2002). Las colonias de *Fusarium* crecen de manera rápida y presentan colores blancos, rosados, morados o grises en agar papa dextrosa, el micelio puede presentarse con una densidad alta o baja con textura algodonosa o aterciopelada (Dignani y Anaissie 2004).

Summerell y Laurence (2010) reportan que inicialmente *Fusarium* fue descrito por Link en el año 1809, quien lo agrupó en un género que llamó *Fusisporium*, basándose en *F. roseum*, posteriormente en el año 1821, se definieron alrededor de 1000 especies cuya descripción dependía de la asociación con un hospedero. En 1935, Wollenweber y Reinking proporcionaron un sistema subgenérico basado en 16 secciones, muchas de las cuales todavía son utilizadas como un medio por el cual el género se puede dividir en el proceso de identificación. En los años 1940 a 1954, Snyder y Hansen, redujeron el número de especies dentro del género a nueve, esta simplificación hizo que la identificación y la diagnosis de las especies de *Fusarium* fuera mucho más simple, pero los conceptos de especies fueron polifiléticos, por lo que una gran parte de los datos en función de las cepas identificadas por el uso de estos conceptos de especie es ahora difícil de interpretar. En los años 1971, 1982 y 1983 en los trabajos de Booth, Gerlach y

Nirenberg, y Nelson y colaboradores respectivamente, se deshicieron la mayor parte de los cambios que propusieron Snyder y Hansen y se dio lugar a sistemas taxonómicos que tomaron el enfoque de Wollenweber y Reinking. En estos sistemas se tomó con mayor atención la evaluación de características morfológicas como las células conidiógenas, macro y microconidios y clamidosporas (Summerell y Laurence 2010). Han sido reportadas 500 especies de *Fusarium*, pero este número de especies y su documentación puede continuar incrementándose en la medida en que nuevos ecosistemas sean explorados, así como los conceptos generales de especies son redefinidos con mayor precisión (Summerell y Laurence 2010).

3.2. *Fusarium* como patógeno

El género *Fusarium* ha sido considerado como un modelo de patogénesis multihospedero, esto debido a la capacidad que presenta para infectar tanto a plantas, como a animales y humanos (Di Pietro y Roncero 2004).

En humanos, se reporta como un patógeno oportunista emergente, causando infección fúngica invasiva en pacientes inmunocomprometidos (Di Pietro y Roncero 2004; Nucci y Anaissie 2007). La fusariosis invasiva es una de las enfermedades fúngicas más devastadoras, pues esta afecta en su mayoría a pacientes con leucemia y destinatarios de trasplante de células hematopoyéticas. Se cree que la infección se adquiere por inhalación de conidios, y la piel también puede ser en ocasiones un portal de entrada por la ruptura del tejido u onicomicosis (Varón *et al.* 2013).

Cohén (2000) reporta que la gran mayoría de pacientes afectados por infección diseminada por *Fusarium* spp. son pacientes con cáncer hematológico (leucemia, linfoma), es decir en pacientes inmunosuprimidos. En pacientes inmunocompetentes se han evidenciado infecciones localizadas en piel, uñas y córnea (Cohén 2000). Por su parte, en el sector pecuario, se han reportado lesiones superficiales y micotoxicosis en los animales, lo cual ha llegado a generar abortos y disminución en el crecimiento de estos (Desjardins y Proctor 2007; Fagbamila *et al.* 2010).

Por otro lado, en plantas, *Fusarium* es el hongo fitopatógeno con el mayor número de especies que causa serias enfermedades alrededor del mundo. Dentro de estas especies se destaca *F.*

oxysporum que causa marchitamiento vascular, por otro lado está *F. solani* que es el principal causante de pudrición de raíz y semillas, acompañado por la producción de micotoxinas (Agrios 2005).

Fusarium puede sobrevivir en el suelo como micelio, conidios o clamidosporas en ausencia de un hospedero. Si el hospedero está presente, entonces el micelio o los propágulos en germinación penetran las raíces del hospedero, luego al sistema vascular (xilema) y allí se distribuye y multiplica causando en el hospedero síntomas de marchitamiento (Agrios 2005).

3.3. Especies vegetales y desarrollo de la infección por *Fusarium*

3.3.1. Gulupa (*Passiflora edulis* Sims)

La gulupa es una planta con habito de enredadera perteneciente a la familia Passifloraceae, su arquitectura está determinada por el tallo principal a partir del cual se desprenden numerosas ramas laterales, presenta un sistema radicular débil y no presenta una raíz principal definida, tiene extensas raíces laterales superficiales que son de color marfil y se distribuyen generalmente en los primeros 45 cm de profundidad en el suelo. El tallo de esta planta es subangular, hueco, glabro y estriado, sus hojas son alternas, simples, glabras y trilobuladas con bordes dentados (Ortíz 2010).

El cultivo de gulupa, gracias a sus propiedades organolépticas, ha adquirido una gran importancia en los mercados europeos. Dentro de los países que tienen gran participación en la oferta de este producto, se encuentra Colombia debido a su gran potencial productor, pues durante el año 2010 exportó US\$9,2 millones, ocupando el segundo lugar de exportación dentro de las frutas, siendo el primero la uchuva (Cruz *et al.* 2012).

A pesar de esta creciente demanda, la producción a nivel nacional no ha tenido el aumento esperado, debido a problemas fitosanitarios que afectan el cultivo, pues este es susceptible a diferentes microorganismos como virus, bacterias, nematodos y hongos. Dentro de las

enfermedades que generan una mayor limitación en el cultivo, está la secadera o fusariosis causada por hongos del género *Fusarium* (Cruz *et al.* 2012).

Según Di Prieto *et al.* (2003) citado en el trabajo de Cruz *et al.* (2012), la infección comienza cuando las raíces de la planta se encuentran en suelos contaminados con propágulos de resistencia del hongo (clamidosporas), las cuales comienzan a germinar, lo que da inicio al proceso de infección. Las hifas de *Fusarium* se adhieren a la raíces de la planta penetrándolas a través de heridas, luego el micelio del hongo avanza hasta el sistema vascular de la planta, específicamente el xilema. Estando allí, *Fusarium* utiliza el xilema como un sistema de transporte que le permite diseminarse de manera rápida mediante el crecimiento rápido de sus hifas y por la producción abundante microconidios, estas pueden circular más fácilmente en el flujo de agua y de esta manera ir invadiendo toda la planta (Cruz *et al.* 2012).

Según lo reportado por Sun & Matthews (2008), en el trabajo de Cruz *et al.* (2012), con el crecimiento y el desarrollo del hongo en la planta, esta reacciona con el fin de impedir su avance, por lo cual genera geles o gomas y tilosas que cumplen la función de barreras físicas y químicas para detener la infección. Como consecuencia de la obstrucción del sistema vascular, se comienzan a observar síntomas de marchitez muy similares a los que se observan cuando la planta presenta déficit hídrico (Cruz *et al.* 2012).

Esta sintomatología, aunque inicialmente es leve, se vuelve cada vez más agresiva e invasiva ocasionando finalmente la muerte de la planta (Cruz *et al.* 2012). El tiempo que transcurre desde el momento en que el hongo ingresa a la planta y el momento en que se hacen evidentes los primeros síntomas de la enfermedad, puede diferir dependiendo del estado de desarrollo de la planta y la intensidad de ataque del hongo, además de las condiciones ambientales en donde se haya dado la interacción (Agrios 2005). Los síntomas de la infección, en estados iniciales, son la clorosis de hojas jóvenes y la epinastía de las hojas viejas, se observa deshidratación que va aumentando con el paso del tiempo afectando cada vez a un mayor número de hojas y ramas, hasta que finalmente toda la planta se observa marchita, los frutos deshidratados no alcanzan la madurez y el número de flores disminuye, en algunas ocasiones se puede observar abundante micelio al interior del tallo (Agrios 2005; Cruz *et al.* 2012). En plantas en estadios juveniles de

desarrollo, las hojas bajas presentan amarillamiento seguido de una rápida defoliación severa, además el crecimiento de las plantas se ve retardado con respecto al crecimiento de las plantas sanas (Agrios 2005; Cruz *et al.* 2012). Otro síntoma que se observa es la coloración marrón de los haces vasculares (necrosis vascular), esto se observa al realizar un corte transversal del tallo (Cruz *et al.* 2012).

3.3.2. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

El tomate es una hortaliza que pertenece a la familia Solanaceae, se encuentra constituida por un tallo principal largo y con ramificaciones, presenta hojas con disposición alterna. Sus tallos y las hojas son de color verde y ásperas al tacto, su tallo es débil y por esto debe ser sembrado como una enredadera (FAO 2006). Su raíz es pivotante pero tiende a ser fasciculada cuando la planta proviene de trasplante. Todas las partes aéreas, junto con los pedúnculos, pedicelos y cálices florales presentan pubescencia, sus tallos son angulosos con nodos compuestos de tres hojas y una inflorescencia (Matas 2005).

El tomate es una de las solanáceas de mayor importancia a nivel mundial, ocupa el segundo lugar después del cultivo de la papa (González *et al.* 2012), esto se debe a su área sembrada y su alto nivel de consumo. Los principales países productores son: China, EEUU, Turquía, Egipto, Italia, India, Irán, España, Brasil y México, los cuales contribuyen con cerca del 70% de la producción mundial. En Colombia, la producción se encuentra dispersa por todo el país, cultivándose en 18 departamentos, pero cerca del 80% de la producción está concentrada en los departamentos de Cundinamarca, Norte de Santander, Valle del Cauca, Caldas, Huila, Risaralda y Antioquia, donde se cultivan tradicionalmente las variedades chonto y milano (Jaramillo *et al.* 2006).

En estos cultivos pueden darse pérdidas en los rendimientos de hasta un 60% afectando también la calidad del producto a causa de una de las enfermedades más importantes que lo afectan, la marchitez vascular, cuyo causante es *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, esta enfermedad afecta alrededor de 32 países (Jaramillo *et al.* 2006).

Las especies de *Fusarium* que causan la marchitez vascular, presentan un patrón similar de infección en donde penetran por la raíz y colonizan en el tallo de las plantas el sistema vascular. La colonización se ve restringida, igual que en plantas de gulupa, por la región de entrada inicial, pues se da una oclusión de los vasos por geles, deposiciones de calosa y tilosas, pero cuando los geles y calosas son degradados por las enzimas pectinolíticas de *Fusarium* y el crecimiento de las tilosas es inhibido, la colonización por *Fusarium* continua (González *et al.* 2012). Los primeros síntomas de la enfermedad que se observan son el amarillamiento del follaje, comenzando con la caída de las hojas, las hojas que han sido infectadas muestran un encrespamiento bajo y posteriormente se oscurecen y se secan, la parte superior de la planta se marchita y se puede observar oscurecimiento vascular en los tallos y los peciolo infectados, y los sistemas radiculares se atrofian (González *et al.* 2012).

Tanto para gulupa como para tomate, se han realizado estudios previos llevados a cabo por el grupo de la Unidad de Investigaciones Agropecuarias (UNIDIA), al realizar ensayos de patogenicidad sobre plantas de gulupa, se encontraron algunos síntomas de marchitamiento vascular, en donde la totalidad de los aislamientos de los hongos empleados (las mismas series 100, 200, 300 y 400, del estudio actual) generaron una clorosis progresiva y ascendente de las hojas con diferentes grados de amarillamiento, posteriormente al alcanzar el grado máximo de amarillamiento se dio una defoliación. Además, se observó un retraso del crecimiento de las plantas con respecto al control abiótico, con algunos aislamientos se generó necrosis vascular, pero con ninguno de los aislamientos evaluados se generó pudrición de raíz (Alvarado 2014). Por su parte, al realizar ensayos de patogenicidad en tomate, se obtuvo una menor altura de los tallos de las plantas infectadas con los aislamientos 314 (*F. oxysporum*) y 319 (*F. solani*) con respecto al control abiótico, para ninguno de los aislamientos fue posible evidenciar los síntomas de pudrición de raíz y tampoco ninguno de los síntomas asociados con la fusariosis vascular en este tipo de plantas (Alvarado 2014).

3.3.3. Clavel (*Dianthus caryophyllus* L.)

El clavel es una planta ornamental perteneciente a la familia Caryophyllaceae, es una planta herbácea, con hojas angostas, opuestas, lineales y envainadoras, sus tallos terminan con una flor terminal vistosa (Borja & Chimbo 2013).

Este cultivo presentan una gran importancia como plantas ornamentales, pues resaltan por su belleza y multiplicidad de especies (Trujillo *et al.* 2005). En Colombia, el negocio de la floricultura se ha constituido en una excelente opción productiva, ocupa el primer lugar como generadora de divisas dentro de exportaciones no tradicionales del país (Afanador 2005). La actual demanda mundial de flores occidentales cortadas se concentra en EEUU y Japón, en dónde el sector floricultor Colombiano es el segundo exportador mundial de flores frescas cortadas entre las que destacan las flores de clavel (Fenalco 2013). En el país el área que ha sido sembrada con flores de corte aumentó a 6544 hectáreas, en donde el 85% de la producción tiene lugar en la Sabana de Bogotá, 12% en Rionegro, 3% Valle, Cauca y el eje cafetero. La principal especie exportada es el clavel, con más de 4000 hectáreas de cultivo (Afanador 2005); sin embargo hay un descenso en los niveles de producción, en donde la principal causa es un problema fitosanitario, donde *Fusarium* spp resalta como el patógeno más limitante (Trujillo *et al.* 2005).

Fusarium spp. produce en las plantas de clavel, al igual que en las de gulupa y tomate, marchitez vascular, en donde específicamente para el clavel ésta puede ser producida por dos especies, *Fusarium oxysporum* f. sp *dianthi* y *Fusarium culmorum* (Trujillo *et al.* 2005). El proceso de infección es el mismo explicado anteriormente para el tomate y la gulupa, y la sintomatología que se observa tras la infección es la misma, necrosis vascular, epinastía, defoliación, deshidratación y muerte de la planta (Trujillo *et al.* 2005).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar la patogenicidad de *Fusarium* spp. provenientes de diferentes orígenes de aislamiento sobre tres especies vegetales: *Dianthus caryophyllus* L (Clavel), *Lycopersicum esculentum* Mill (tomate) y *Passiflora edulis* Sims (gulupa).

4.2. Objetivos específicos

- Caracterizar la sintomatología de la patogenicidad de diferentes aislamientos de *Fusarium* spp. provenientes de humanos, animales y plantas, en plantas de clavel, tomate y gulupa.
- Determinar el avance de diferentes aislamientos de *Fusarium* spp. provenientes de humanos, animales y plantas, en los tallos de plantas de clavel, tomate y gulupa.
- Evaluar la necrosis vascular causada por la patogenicidad de diferentes aislamientos de *Fusarium* spp. provenientes de humanos, animales y plantas, en plantas de clavel, tomate y gulupa.

5. METODOLOGÍA

5.1. Obtención de especies vegetales

Para realizar las pruebas de patogenicidad de *Fusarium* spp. en plantas, se emplearon tres especies vegetales: tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), gulupa (*Passiflora edulis* Sims) y clavel (*Dianthus caryophyllus* L). Las plantas de tomate correspondieron a tomate chonto variedad Santa Clara con 30 días después de siembra (dds), presentando tres trifolios verdaderos. Las plantas de gulupa empleadas tuvieron 60 dds, presentando cinco hojas verdaderas. Tanto las plantas de tomate como las de gulupa fueron propagadas por semilla y adquiridas en el Centro Agrícola de Investigación y Desarrollo Tecnológico - CAIDVANDRE SAS, ubicado en Villa de Leyva. En cuanto a las plantas de clavel, se obtuvieron esquejes enraizados de variedad Nelson con 8-10 hojas verdaderas, estos esquejes se obtuvieron en Suata Plants S.A., ubicado en el municipio el Rosal.

5.2. Aislamientos de *Fusarium* spp.

Se recuperaron 12 aislamientos de *Fusarium* spp. provenientes de diferentes orígenes (Tabla 5.1) a partir del banco de conservación en papel filtro establecido por la Unidad de Investigaciones

Agropecuarias (UNIDIA) de la Pontificia Universidad Javeriana, esto se realizó en agar avena (15 g/L avena molida, 15 g/L agar-agar).

Tabla 5.1. Aislamientos de *Fusarium* spp. empleados en el estudio.

Código	Especie	Origen	Tipo de infección
108	<i>F. solani</i>	Animal	Queratitis – bovino
161	<i>F. verticillioides</i>		Micosis superficial - cola de canino
162	<i>F. oxysporum</i>		Micosis superficial - lomo zona superior de canino
201	<i>F. sporotrichioides</i>	Humano-superficial	Onicomycosis
203	<i>F. verticillioides</i>		Queratitis
205	<i>F. oxysporum</i>		Onicomycosis
310	<i>F. oxysporum</i>	Vegetal	Marchitamiento vascular - haces vasculares de planta de tomate
314	<i>F. oxysporum</i>		Marchitamiento vascular - haces vasculares de planta de clavel
319	<i>F. solani</i>		Marchitamiento vascular - haces vasculares de planta de gulupa
404	<i>F. solani</i>	Humano-sistémico	Fungemia - paciente neutropénico
406	<i>F. oxysporum</i>		Fungemia - paciente neutropénico
409	<i>F. oxysporum</i>		Fungemia - paciente neutropénico

5.3. Preparación de inóculos

Para la preparación de los inóculos se realizó una siembra de cada uno de los 12 aislamientos en agar avena (2 cajas por hongo), posteriormente se incubaron a 25°C durante 15 días. Pasado este tiempo se inocularon 150 mL de medio para producción de conidios (azúcar pulverizada 10g/L, levadura panaria 5 g/L), esto se realizó raspando las dos cajas crecidas de cada aislamiento con 6 mL de solución salina al 0,85%; posteriormente, con ayuda de una micropipeta se pasó el contenido al medio de producción de conidios. Los inóculos fueron llevados a incubación a 30°C con una agitación constante de 120 rpm, durante 72 horas (Shaker Innova 44). Finalizado este tiempo, se realizó un ajuste de la concentración de conidios de cada inóculo a 1×10^7 conidios/mL, esto se hizo realizando recuento en cámara de Neubauer.

5.4. Ensayo de patogenicidad – Inoculación

Los ensayos de patogenicidad se realizaron de la misma manera en las tres especies vegetales (clavel, tomate y gulupa), Se realizó un diseño experimental completamente al azar, con 14 tratamientos donde 12 correspondieron a los 12 aislamientos de *Fusarium* spp., los aislamientos correspondientes a las serie 300 (310, 314, 319) fueron los controles positivos, y los dos tratamientos restantes fueron un control abiótico (control absoluto) y un control negativo, la unidad experimental empleada fue las plantas (clavel, tomate y gulupa) y cada tratamiento tuvo tres réplicas cada una con 10 plantas, para un total de 30 plantas por tratamiento. se evaluaron. Estos ensayos se realizaron en los invernaderos de la Pontificia Universidad Javeriana, las plantas fueron dejadas en acondicionamiento a las condiciones del invernadero durante 8 días antes de realizar los ensayos.

Los ensayos de patogenicidad se realizaron haciendo heridas en los ápices de las raíces de las plantas (cortes de 5 mm) y posteriormente infectándolas mediante una inmersión de cada una de ellas en 20 mL de suspensión de propágulos (1×10^7 conidios/mL) durante 5 minutos (10 plantas por cada 20 mL) para cada tratamiento. Los controles positivos que se emplearon fueron: aislamiento 310 para las pruebas de patogenicidad en plantas de tomate, aislamiento 314 para las pruebas de patogenicidad en plantas de clavel y aislamiento 319 para las pruebas de

patogenicidad en plantas de gulupa, esto debido a que fueron aislados del correspondiente hospedero (Tabla 5.1). Para el control negativo se realizaron heridas en los ápices de las raíces de las plantas y se sumergieron en solución salina estéril (0,85%). El control abiótico fueron plantas trasplantadas sin ninguna modificación ni tratamiento. Todas las plantas fueron sembradas en vasos plásticos de 10 onzas de capacidad con una mezcla de suelo: arena 3:1 y se realizó una aplicación foliar de un fertilizante del complejo NPK cada 15 días (Nutrifoliar 3mL/L). Estos ensayos de patogenicidad fueron mantenidos bajo condiciones de invernadero durante dos meses.

5.5. Variables evaluadas

Durante un periodo de dos meses de ensayo, se realizó una evaluación con frecuencia semanal de los síntomas típicos de marchitamiento vascular generados por *Fusarium* (clorosis, pérdida de turgencia, epinastía y defoliación) (Tabla 5.2). Esto con el fin de determinar una escala de severidad de los síntomas de la enfermedad.

Tabla 5.2. Evaluación de síntomas de marchitamiento vascular

Síntoma	Evaluación
Clorosis	Amarillamiento de las hojas.
Pérdida de Turgencia	Pérdida de rigidez en hojas y tallo.
Epinastía	Recogimiento o doblamiento de las hojas.
Defoliación	Número de hojas caídas

Adicionalmente se evaluó el avance del patógeno a través del tallo, la longitud de necrosis en los haces vasculares, la longitud del tallos y las manchas necróticas tanto en raíz como en tallo al finalizar cada ensayo. Para determinar el avance del patógeno se emplearon 15 plantas por cada tratamiento, a las cuales se les realizó una desinfección a nivel superficial con hipoclorito de sodio al 2,5% durante 5 minutos, posteriormente se realizó un lavado con agua estéril durante 5 minutos, seguido a esto se realizaron aproximadamente entre 10 a 19 cortes transversales de 5 mm desde la base de la raíz principal hacia el tallo, estos cortes se sembraron en el sentido de las manecillas del reloj en medio PDA suplementado con cloranfenicol (0,2 g/L) y diclorán (800

$\mu\text{L/L}$ de concentración 2% p/v), con el fin de recuperar el patógeno y ver el avance del mismo. Las siembras fueron incubadas a 30°C por 5 días, posteriormente se realizó la lectura del avance del patógeno y se evaluaron las características macroscópicas y microscópicas de cada hongo recuperado.

Con las 15 plantas restantes de cada tratamiento, se evaluó la longitud de necrosis presente en los tallos, realizando cortes longitudinales desde la base de la raíz principal hacia el tallo. Para las 30 plantas de cada tratamiento se determinó la pudrición de raíz.

5.6. Análisis de resultados

Los resultados se analizaron empleando medidas de tendencia central, posteriormente se realizó una prueba de homogeneidad de varianzas (estadístico de Levene) y una de normalidad (Shapiro-Wilk), para la verificación de cumplimiento de supuestos. Al no cumplirse los supuestos de normalidad, se realizó una transformación de los datos y se volvieron a correr las dos pruebas, después de realizado esto, tampoco se logró el cumplimiento de supuestos (Significancia $< 0,05$), por lo cual se realizó una prueba de estadística no paramétrica Kruskal-Wallis (H), con el fin de probar la existencia de diferencias significativas entre los resultados obtenidos para las variables medidas en cada tratamiento, posteriormente se realizó un prueba de Dunn para evidenciar específicamente las diferencias entre tratamientos. Todos los análisis estadísticos fueron ejecutados mediante el software SPSS 2.0 y Statistix 10.0, los gráficos se realizaron en SigmaPlot versión 11.0.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Prueba de patogenicidad en clavel (*Dianthus caryophyllus* L)

Los resultados obtenidos para las variables: longitud del tallo, longitud de necrosis, manchas necróticas en raíz, manchas necróticas en tallo y avance del patógeno, al ser sometidos estadísticamente presentaron ausencia de normalidad y homogeneidad de varianzas, es decir no cumplieron los supuestos estadísticos, por lo cual se procedió a realizar una prueba estadística no

paramétrica, Kruskal Wallis, para cada una de las variables anteriormente nombradas, en donde el objetivo principal fue probar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos con respecto a estas variables. Esta prueba arrojó una significancia inferior a 0,05 para cada una de las variables analizadas, lo cual indicó la existencia de diferencias significativas en los resultados de estas variables con respecto a los tratamientos, esto también se evidenció en la prueba de Dunn, pues en ésta se observaron las diferencias existentes en los 14 tratamientos con respecto a las variables analizadas.

En la figura 6.1 se muestran los promedios obtenidos para la longitud del tallo en cada tratamiento, en donde se puede observar que el control biótico, es decir el aislamiento 314 correspondiente a *F. oxysporum* proveniente de clavel, fue el tratamiento en el que se obtuvieron plantas con menor longitud del tallo (9,8 cm); mientras que el tratamiento en el que se obtuvieron plantas con mayor longitud del tallo (19,73 cm) fue el tratamiento correspondiente al aislamiento 161 correspondiente a *F. verticillioides* proveniente una lesión superficial en un canino, seguido de los controles negativo (18,8 cm) y abiótico (18,12 cm). Por los agrupamientos de la prueba de Dunn se pueden evidenciar diferencias estadísticamente significativas entre las series 200 (origen humano-lesiones superficiales) y 400 (origen humano-sistémico) y el aislamiento 314 (control biótico), con respecto al control abiótico (Anexo 10.5).

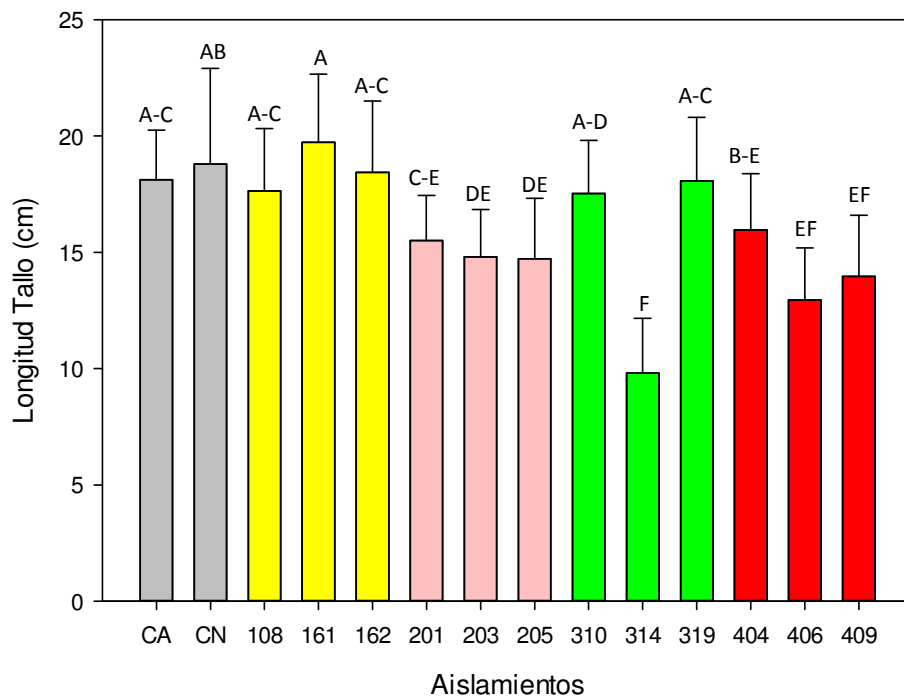


Figura 6.1. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados longitud del tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's $\alpha=0,05$.

En cuanto a la longitud de la necrosis vascular, en la figura 6.2 se puede evidenciar que únicamente dos de los aislamientos evaluados causaron necrosis vascular en las plantas de clavel, siendo el aislamiento 314 (control biótico) correspondiente a *F. oxysporum*, el que causó una mayor longitud de necrosis (5,58 cm) seguido del aislamiento 203 correspondiente a *F. verticillioides* (0,053 cm), el resto de los aislamientos incluyendo el control abiótico y el control negativo, no causaron necrosis vascular en las plantas (Anexo 10.1).

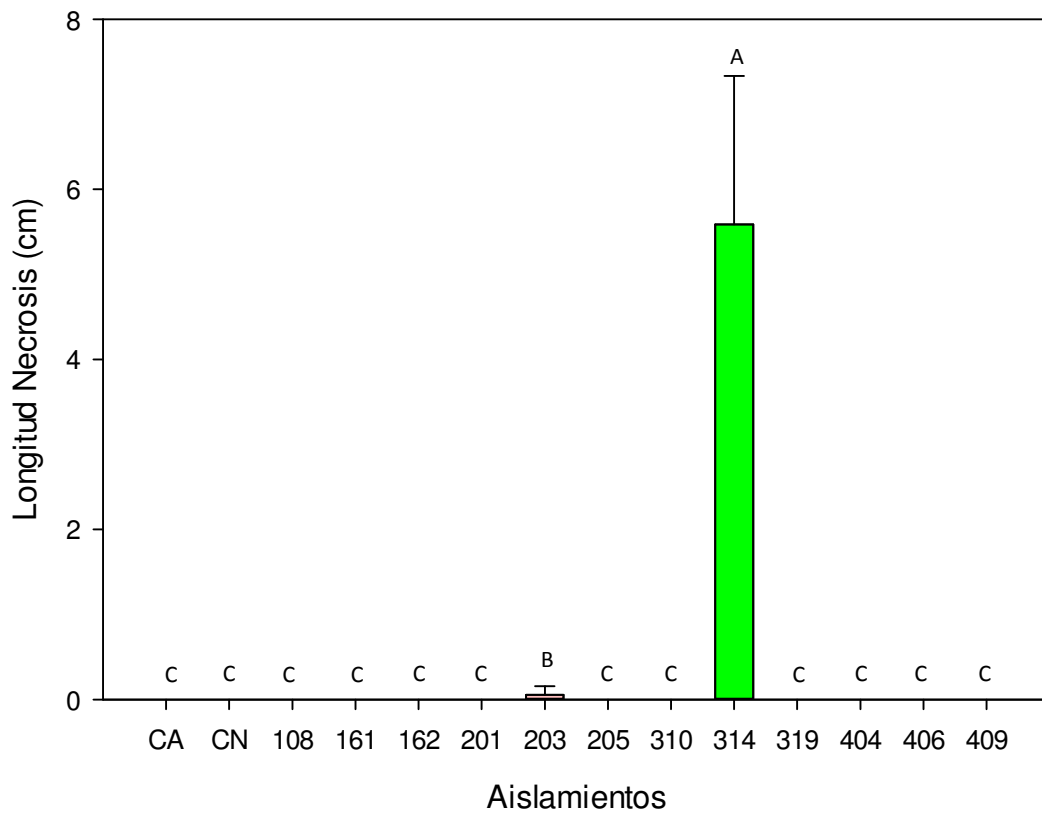


Figura 6.2. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados longitud de necrosis vascular. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.

En la figura 6.3, se observa la pudrición de raíz de una planta correspondiente al tratamiento con el aislamiento 314 con respecto a los 13 tratamientos restantes, que no la presentaron pues los tratamientos restantes mantuvieron sus raíces adheridas, aunque con una coloración marrón con respecto a los controles abiótico y negativo.



Figura 6.3. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados pudrición de raíz. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico.

En la figura 6.4 se observan los resultados obtenidos para la presencia/ausencia de manchas necróticas en el tallo, en esta se puede observar que todos los tratamientos presentaron diferencias significativas con respecto al control abiótico y al control negativo (Anexo 10.5), pues en estos dos controles no se encontraron manchas necróticas en los tallos de las plantas. La serie 200 (origen humano-superficial) y la serie 400 (origen humano-sistémico) acompañadas del aislamiento 314 (control biótico) fueron los que presentaron una mayor presencia de manchas necróticas en el tallo de las plantas (100% de las plantas), mientras que los aislamientos que presentaron un menor número de plantas con este síntoma fueron el 108 (origen animal) (53% de las plantas) y el 319 (origen vegetal-gulupa) (60% de las plantas), ambos correspondientes a *F. solani* (Anexo 10.1).

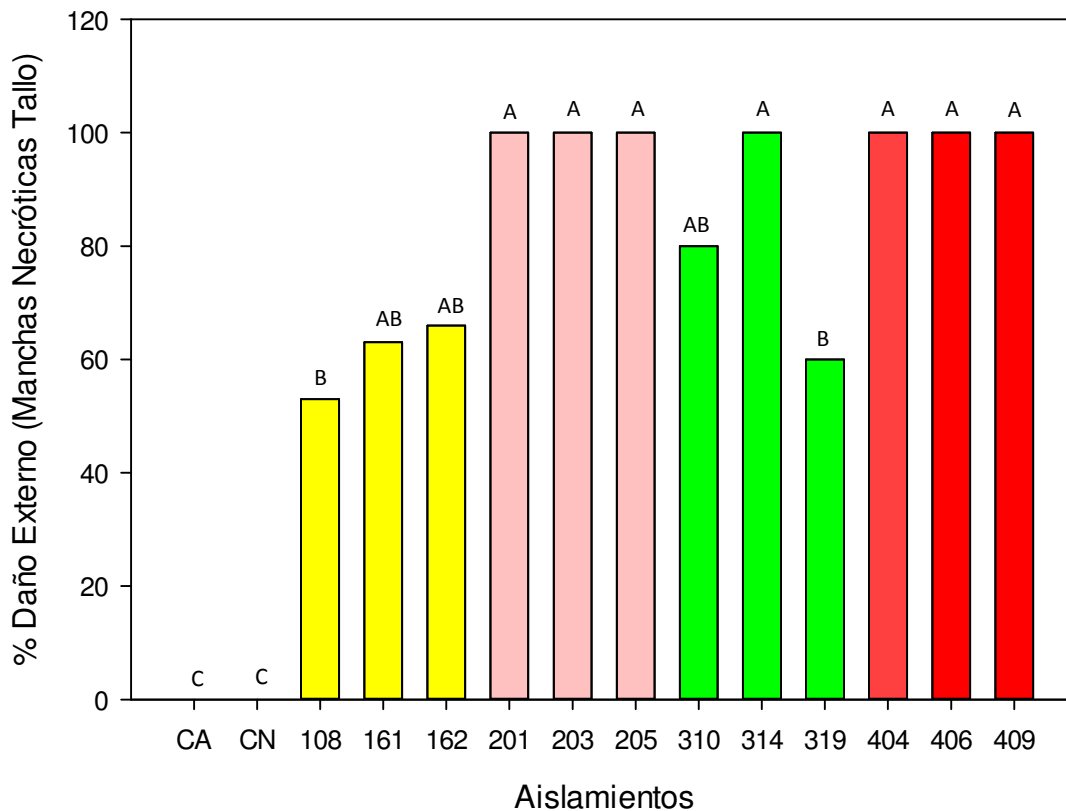


Figura 6.4. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados Manchas necróticas en tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's $\alpha=0,05$.

En la figura 6.5 se observan los resultados obtenidos para el avance del patógeno en el tallo, en ésta se observa que para la totalidad de las series 100, 200, 300 y 400 se logró recuperar el patógeno a partir del tallo (Anexo 10.1), en esta figura se observa que el aislamiento a partir del cual se obtuvo un mayor avance del patógeno fue el aislamiento 314 (control biótico) (5,5 cm), seguido de los aislamiento 406 (origen humano-sistémico) (2,1 cm) y 310 (origen vegetal-tomate) (1,4cm) los tres correspondientes a *F. oxysporum*; por su parte los aislamientos que presentaron un menor avance fueron el 404 correspondiente a *F. solani* (0,13 cm), seguido del aislamiento 409 correspondiente a *F. oxysporum* (0,367 cm), ambos de origen humano-sistémico. En cuanto a las agrupaciones generadas por la prueba de Dunn, se puede observar que los aislamientos de la serie 100 (origen animal) se encuentran relacionados entre sí, al igual que los aislamientos de la serie 200 (origen humano-superficial) (Anexo 10.5).

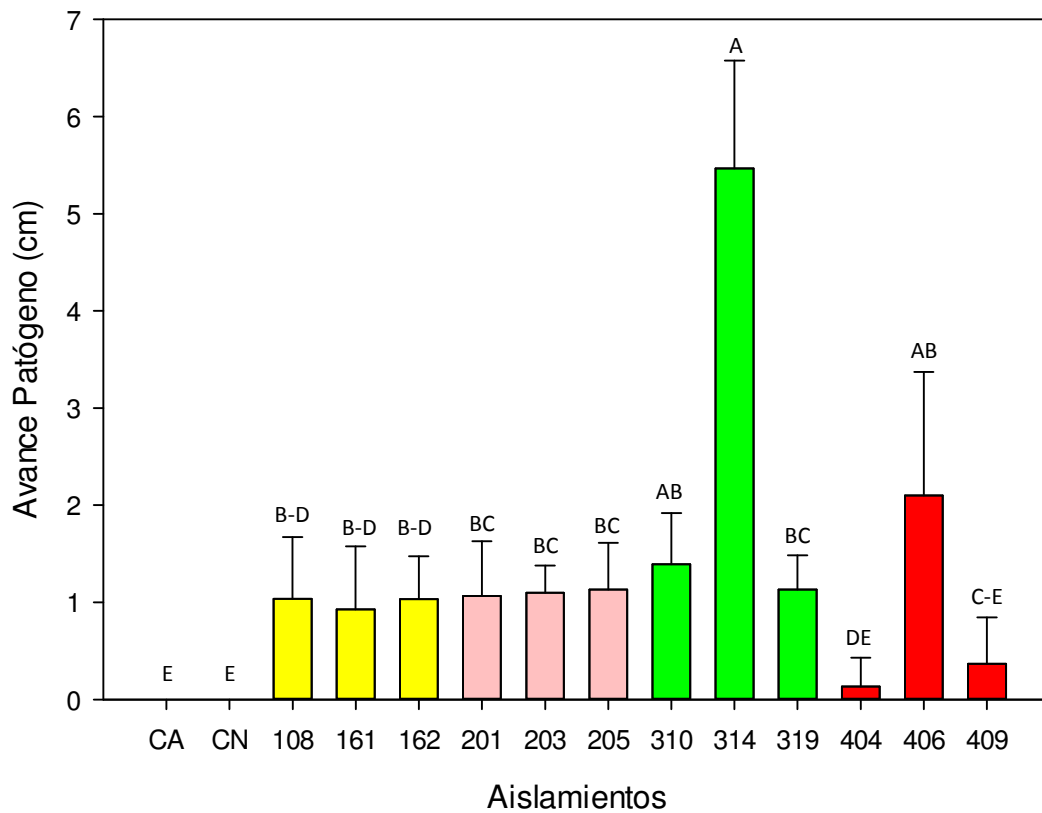


Figura 6.5. Prueba de patogenicidad en clavel. Resultados Avance del patógeno en el tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.

6.1.1. Evaluación de síntomas de marchitamiento vascular

Para la evaluación de los síntomas de marchitamiento vascular se realizó una escala de severidad siguiendo la escala propuesta por Nava (2012) (Tabla 6.1), para esta escala se tomaron en cuenta los síntomas descritos anteriormente en la tabla 5.2, los cuales fueron evaluados con frecuencia semanal por un periodo de 8 semanas. En la figura 6.6 se observa la escala de severidad con imágenes.

Tabla 6.1. Escala de severidad para sintomatología en plantas de clavel

Severidad	Características
1	No hay manifestación de síntomas
2	Follaje presenta clorosis o amarillamiento leve, primeras hojas basales con síntomas
3	Follaje presenta clorosis o amarillamiento medio, síntomas de marchitez 50% parte aérea
4	Follaje presenta clorosis o amarillamiento, síntomas de marchitez 75% parte aérea
5	Plantas muertas o severamente infectadas, con la totalidad de su follaje clorótico, con epinastía y pérdida de turgencia



Figura 6.6. Escala de severidad para sintomatología en plantas de clavel

En la figura 6.7 se muestra el nivel de severidad en el que se encontraron cada uno de los tratamientos a lo largo de las 8 semanas. Con ningún tratamiento se logró la muerte de las plantas, pero si se observó un severo desarrollo de la enfermedad con el aislamiento 314 (control biótico), en el resto de los tratamientos no se presentaron los síntomas típicos de la enfermedad a lo largo de las 8 semanas de evaluación. La sintomatología observada en las plantas tratadas con

el aislamiento 314 alcanzaron una severidad de nivel 5, al presentar plantas con la totalidad de su follaje clorótico con epinastía y pérdida de turgencia, pero en ningún caso se observó defoliación.

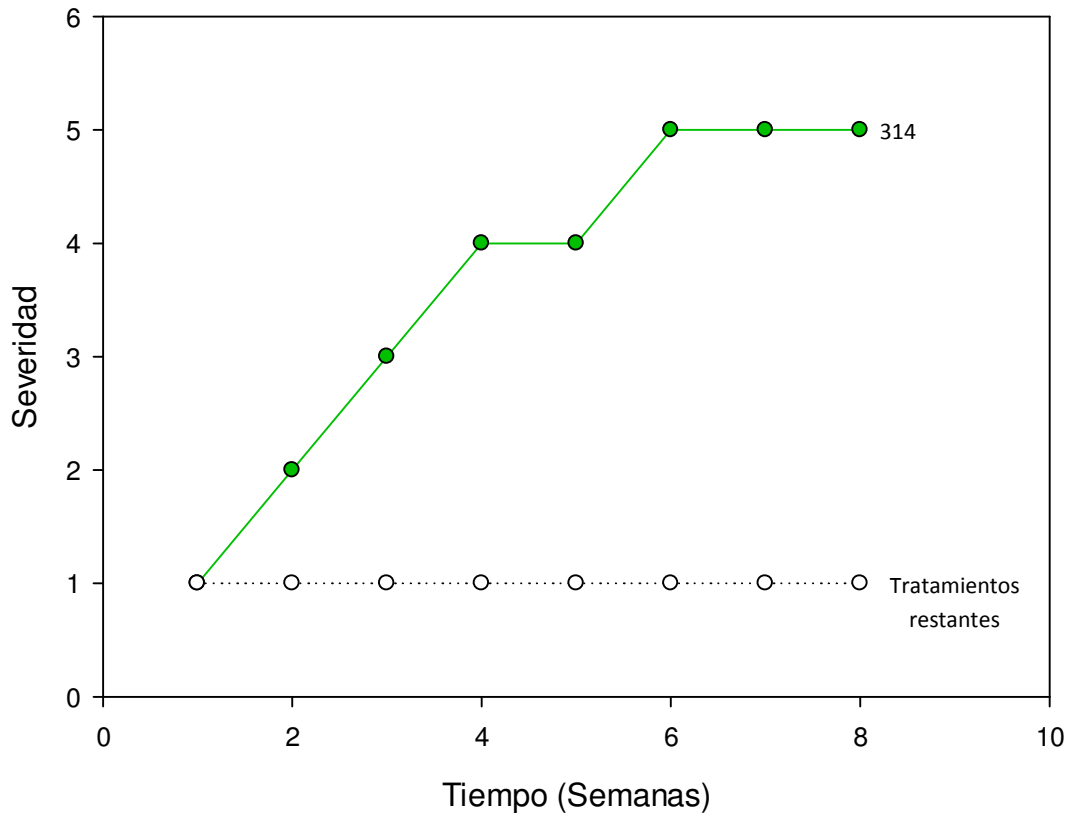


Figura 6.7. Prueba de patogenicidad en clavel. Sintomatología evaluada durante 8 semanas.

Como bien se sabe, especies de *Fusarium* como *F. oxysporum* son causantes de marchitamiento vascular en plantas de clavel, y esta enfermedad se presenta como una de las más limitantes y la que mayores pérdidas de clavel ocasiona en los cultivos del mismo, esto se debe a la fácil propagación del patógeno y a la resistencia del hongo a condiciones adversas. Esta enfermedad se caracteriza principalmente por presentar amarillamiento parcial de las hojas e interferencia en el crecimiento de la planta, entre otros; estos síntomas van avanzando hasta causar un marchitamiento generalizado y posteriormente la muerte de la planta (Garcés *et al.* 2001). Uno de los aspectos con más relevancia para el diagnóstico de esta enfermedad es la coloración marrón que se presenta en los haces vasculares generada por la necrosis de los mismos en respuesta a la colonización del patógeno (Garcés *et al.* 2001; Acurio 2010). Estos síntomas pudieron ser

evidenciados claramente en las plantas infectadas con el aislamiento 314 (*F. oxysporum*) proveniente de plantas de clavel, pues como puede observarse en la figura 6.1, las plantas infectadas con este aislamiento fueron las que presentaron una menor longitud del tallo con respecto a los otros aislamientos, también se observa en la figura 6.2 que las plantas correspondientes a este aislamiento presentaron una longitud de necrosis vascular promedio de 5,58 cm, mientras que en los demás tratamientos no se evidenció necrosis vascular con excepción al tratamiento con el aislamiento 203 correspondiente a *F. verticillioides*, que aunque presentó necrosis vascular, esta no fue de tal longitud, fue mucho menor (0,053 cm) (Anexo 10.1). *F. verticillioides* no ha sido reportado como causante de la enfermedad en plantas de clavel pero si se ha reportado como causante de marchitamiento de raíz en plantas de maíz (Villa *et al.* 2015). Como puede observarse en la figura 6.3, en todos los tratamientos con excepción de los controles abiótico y negativo, se observó un oscurecimiento de la raíz y en las plantas del tratamiento con el aislamiento 314 se observó pudrición de raíz, este es uno de los síntomas del marchitamiento vascular causados por especies de *Fusarium*, pues la raíz es por donde comienza a darse la infección de la planta (Garcés *et al.* 2001). Por su parte en la figura 6.4 se observa que en la totalidad de los aislamientos se logró evidenciar necrosis en la base del tallo de las plantas (Anexo 10.1), este síntoma es típico de la enfermedad llamada pudrición de cuello o pudrición basal del tallo causada por algunas especies de *Fusarium*, esta se caracteriza por la presencia de manchas rojizas sobre la base del tallo, donde posteriormente se da lugar a una pudrición que llega hasta los tejidos vasculares lo cual puede generar una marchitez gradual de la planta hasta ocasionar la muerte, según la severidad de la infección (Rincón 2010). En el trabajo de Rincón (2010), se reporta esta enfermedad en plantas de clavel causada principalmente por tres especies de *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum* y *F. graminearum*, y se reporta que esta enfermedad ha cobrado importancia con el pasar del tiempo y aunque se encuentra poca documentación de la misma algunos autores han realizado diversos estudios para documentar esa enfermedad en cultivos de clavel.

Todos los síntomas anteriormente descritos pudieron ser evidenciados como parte del ciclo de infección de *Fusarium* en las plantas de clavel, pues la enfermedad comienza con la germinación de los conidios del hongo en el suelo, donde posteriormente las hifas del hongo van a penetrar en la epidermis de las raíces por medio de las heridas presentes en estas, causando posteriormente la

coloración marrón de las raíces (figura 6.3) por la actividad enzimática del hongo. La entrada del patógeno también puede darse por heridas en la base del tallo causando la pudrición basal del tallo (figura 6.4), posteriormente el patógeno pasa a la corteza y a la endodermis de la planta entrando en los vasos del xilema, una vez en el tejido vascular se da una colonización intracelular causando la necrosis vascular (figura 6.2), la cual va avanzando a medida que el patógeno va ascendiendo por los haces vasculares. Todo este proceso infectivo causa un retardo en el crecimiento de la planta generando enanismo en las mismas (figura 6.1) y, según la severidad de la enfermedad, una marchitamiento parcial o generalizado de la planta (Garcés et al 2001; Acurio 2010), lo cual puede observarse en las figuras 6.6 y 6.7, donde se muestra una escala de severidad de la enfermedad causada por el aislamiento 314 correspondiente a *F. oxysporum*.

En cuanto al avance del patógeno se observa en la figura 6.5 que el mayor avance se determinó en las plantas infectadas con el aislamiento 314, lo cual concuerda con la longitud de la necrosis vascular observada en la figura 6.2. Aunque no se observó en los demás tratamientos (plantas inoculadas con *Fusarium* spp.) parte de la sintomatología típica del marchitamiento vascular, como es epinastía, clorosis y pérdida de turgencia, que en conjunto generan el marchitamiento, (Garcés *et al.* 2001), el hecho de que se haya logrado re-aislar con éxito los diferentes aislamientos, permite una confirmación a los postulados de Koch, pues el microorganismo causante de la enfermedad debe poder ser re-aislado a partir de una planta previamente inoculada con un cultivo del patógeno puro (Volcy 2008).

Aunque solamente se observó una sintomatología clara en las plantas inoculadas con el aislamiento 314, pues fue en éstas donde se llegó a una marchites de las plantas, en los tratamientos restantes a excepción de los controles abiótico y negativo, se confirmó el establecimiento de la infección y se observó un inicio de la enfermedad, pues como fue mencionado anteriormente, se encontró necrosis en la base del tallo, oscurecimiento de las raíces y se lograron re-aislar todos los hongos a partir de las plantas infectadas lo que implica un avance de estos por los haces vasculares (desde 0,3 cm hasta 5,5 cm). Este establecimiento se dio gracias a la maquinaria enzimática empleada por los hongos, pues en el trabajo Alvarado (2014) se realizó un estudio de la actividad enzimática de los aislamientos empleados en el presente estudio

y se confirmó la presencia de enzimas relacionadas con la patogenicidad en plantas como lo son las enzimas degradadoras de pared celular, las cuales son determinantes para el establecimiento y colonización del patógeno en su hospedero (Alvarado 2014). El hecho de que todos los aislamientos, a excepción de los aislamientos 314 y 203, no hayan mostrado una necrosis en los haces vasculares, pudo deberse a que el patógeno puede colonizar por medio de transporte pasivo de microconidias, por lo cual se da una colonización no uniforme lo que causa que el material de propagación que aparentemente está sano, realmente esté afectado (Garcés *et al.* 2001; Acurio 2010).

Por su parte el que la severidad en todos los tratamientos no haya sido la misma, pudo deberse a que aunque hubo una colonización exitosa de todos los aislamientos en las plantas, estas pueden mantenerse en cierta medida sanas, debido a la manifestación de varios mecanismos de defensa (Madriz 2002), como lo son la acumulación de compuestos fenólicos como las fitoalexinas, la formación de gomas para la oclusión del patógeno y el fortalecimiento de las paredes celulares por lignificación (Ardila e Higuera 2005).

Por otro lado, el hecho de que todos los aislamientos a excepción del aislamiento 314 provengan de diferentes orígenes (Tabla 5.1), también pudo influir en el desarrollo de la enfermedad, pues esto puede sugerir que estos aislamientos no presentan una especificidad hacia las plantas de clavel, por lo cual la manifestación de los síntomas de la enfermedad pueden tardar más. Esto debido a que la infección no se da a la misma velocidad a la cual la ocasiona un patógeno con especificidad hacia la planta, como es el caso del aislamiento 314 (aislado de plantas de clavel), pues entre la especie de este aislamiento y las plantas de clavel pudo haberse desarrollado una evolución de la enfermedad, en donde el patógeno logró cubrir las respuestas de defensa del hospedero lo que conlleva a un desarrollo de la enfermedad más rápido (Rocha *et al.* 2004).

6.2. Prueba de patogenicidad en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Los resultados obtenidos para las variables: longitud del tallo, longitud de necrosis, manchas necróticas en raíz, manchas necróticas en tallo y avance del patógeno, al ser sometidos estadísticamente presentaron ausencia de normalidad y homogeneidad de varianzas, es decir no

cumplieron los supuestos estadísticos, por lo cual se procedió a realizar una prueba estadística no paramétrica, Kruskal Wallis, para cada una de las variables anteriormente mencionadas, en donde el objetivo principal fue probar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos con respecto a estas variables. Esta prueba arrojó una significancia inferior a 0,05 para cada una de las variables analizadas, lo cual indicó la existencia de diferencias significativas en los resultados de estas variables con respecto a los tratamientos, esto se evidenció en la prueba de Dunn, pues en ésta se observaron las diferencias existentes en los 14 tratamientos con respecto a las variables analizadas (Anexo 10.6).

En la figura 6.8 se muestran los promedios obtenidos para la longitud del tallo en cada tratamiento, en donde se puede observar que el control biótico, es decir el aislamiento 310 correspondiente a *F. oxysporum*, fue el tratamiento con menor longitud del tallo promedio (21,62 cm) seguido de las plantas del tratamiento 404 (origen humano-sistémico) (21,82 cm) correspondiente a *F. solani*; mientras que el aislamiento que presentó mayor longitud del tallo promedio fue el 314 (origen vegetal-clavel) (29,8 cm) correspondiente a *F. oxysporum*, seguido del tratamiento 319 (origen vegetal-gulupa) (29,4 cm) correspondiente a *F. solani*. Aunque los controles abiótico y negativo no presentaron la mayor longitud de tallo promedio, estos estuvieron entre los tratamientos con mayor promedio con 27,3 y 27,5 cm respectivamente. Por los agrupamientos de la prueba de Dunn se pueden evidenciar dos grandes agrupaciones en donde se encuentran en el primer grupo los controles abiótico y negativo y los tratamientos de la serie 100 (origen animal) y también los aislamientos 314 y 319 de la serie 300 (origen vegetal), en el segundo grupo se encuentran los aislamientos pertenecientes a la serie 200 (origen humano-lesiones superficiales) y a la serie 400 (origen humano-sistémico), junto con el tratamiento 310 (control biótico) (Anexo 10.6).

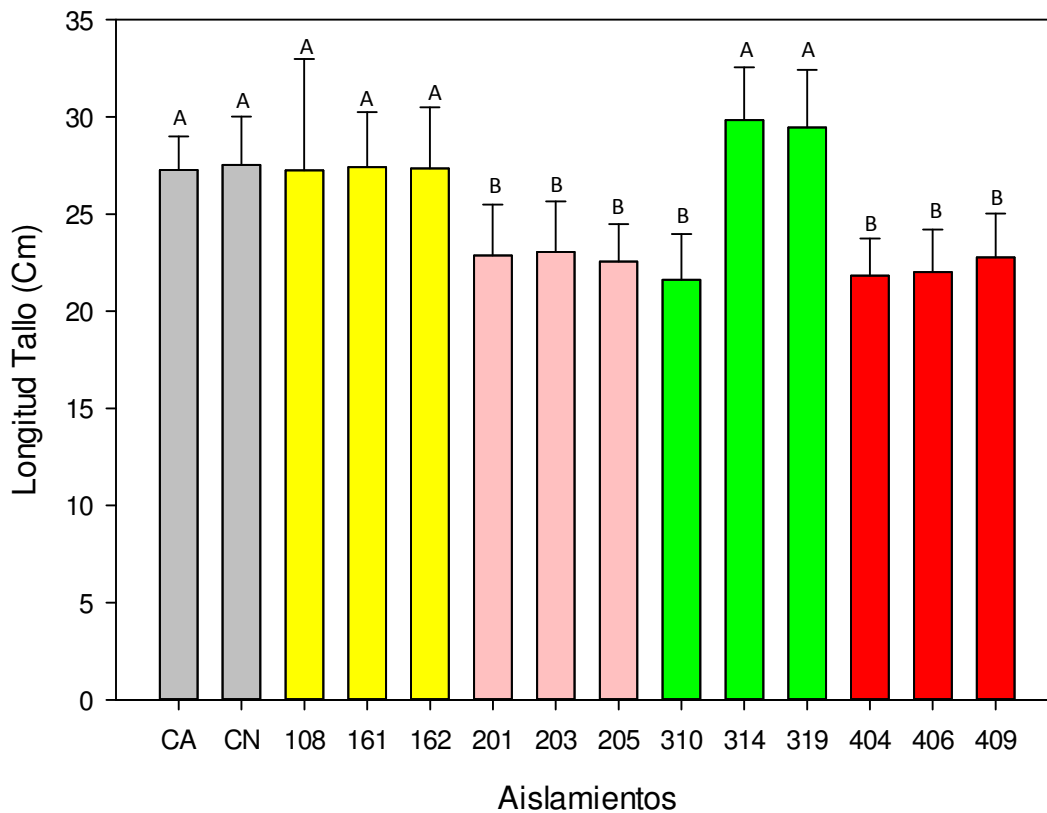


Figura 6.8. Prueba de patogenicidad en tomate. Longitud del tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's $\alpha=0,05$.

En cuanto a la longitud de la necrosis vascular, en la figura 6.9 se puede evidenciar que en todos los tratamientos menos el tratamiento 409 (origen humano-sistémico) correspondiente a *F. oxysporum*, se evidenció necrosis vascular siendo esta mayor en los aislamientos 201 (*F. sporotrichioides*) y 203 (*F. verticillioides*) ambos con 3,1 cm de necrosis (origen humano-superficial), en la figura se observa que el aislamiento 205 (*F. oxysporum*, origen humano-superficial) fue el que causó una menor longitud de necrosis (0,08 cm) seguido por los aislamientos de la serie 100 (origen animal). Por su parte el aislamiento 310 (control biótico), correspondiente a *F. oxysporum*, generó una necrosis promedio de 1,37 cm (Anexo 10.2). Como puede observarse después de realizar la prueba de Dunn se encontró un agrupamiento estadístico entre los aislamientos provenientes de la serie 100 (origen animal) (Anexo 10.6).

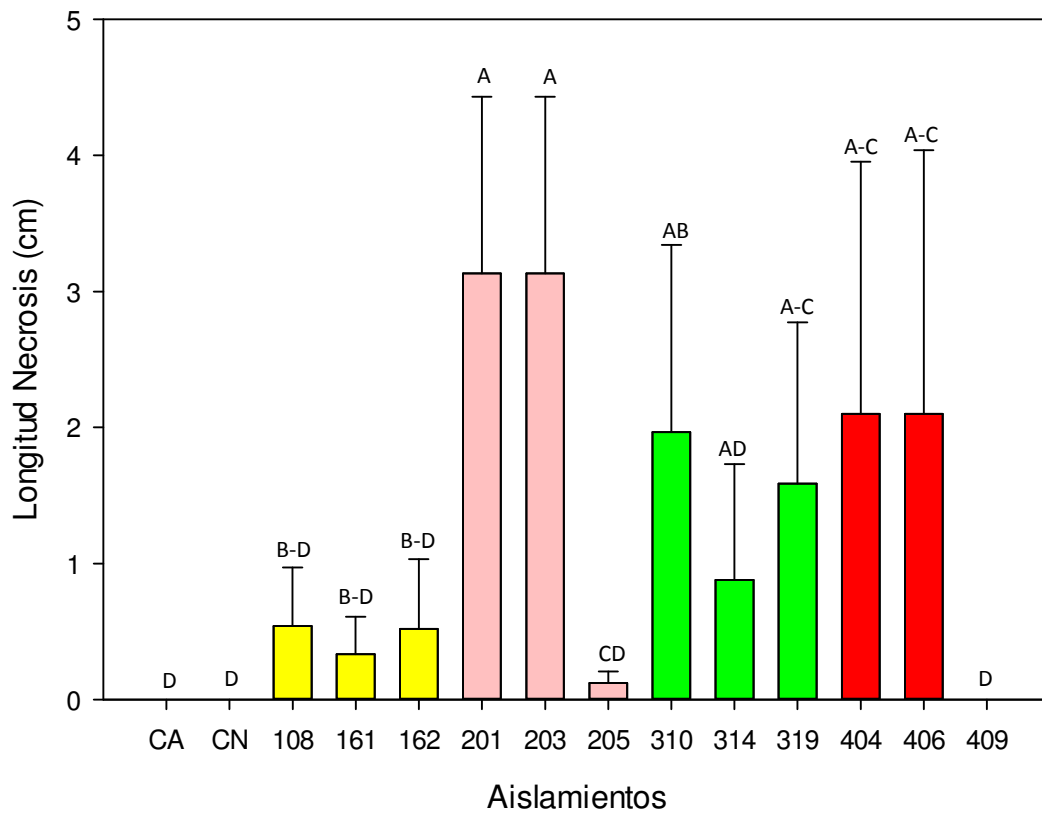


Figura 6.9. Prueba de patogenicidad en tomate. Longitud necrosis. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's $\alpha=0,05$.

Como se observa en la figura 6.10, se encontraron manchas necróticas en la raíces de las plantas para todos los aislamientos (Anexo 10.2), en los aislamientos de las series 200 y 400 (origen humano) la totalidad de las plantas presentaron manchas necróticas en las raíces, el aislamiento 108 (origen animal) correspondiente a *F. solani* también generó manchas necróticas en la totalidad de las plantas. El aislamiento 161 correspondiente a *F. verticillioides* (origen animal) presentó el menor porcentaje de plantas con manchas necróticas en raíz (50%) seguido de los aislamientos 162 (*F. oxysporum*, origen animal) y 310 (*F. oxysporum*, control biótico) con un 63% cada uno.

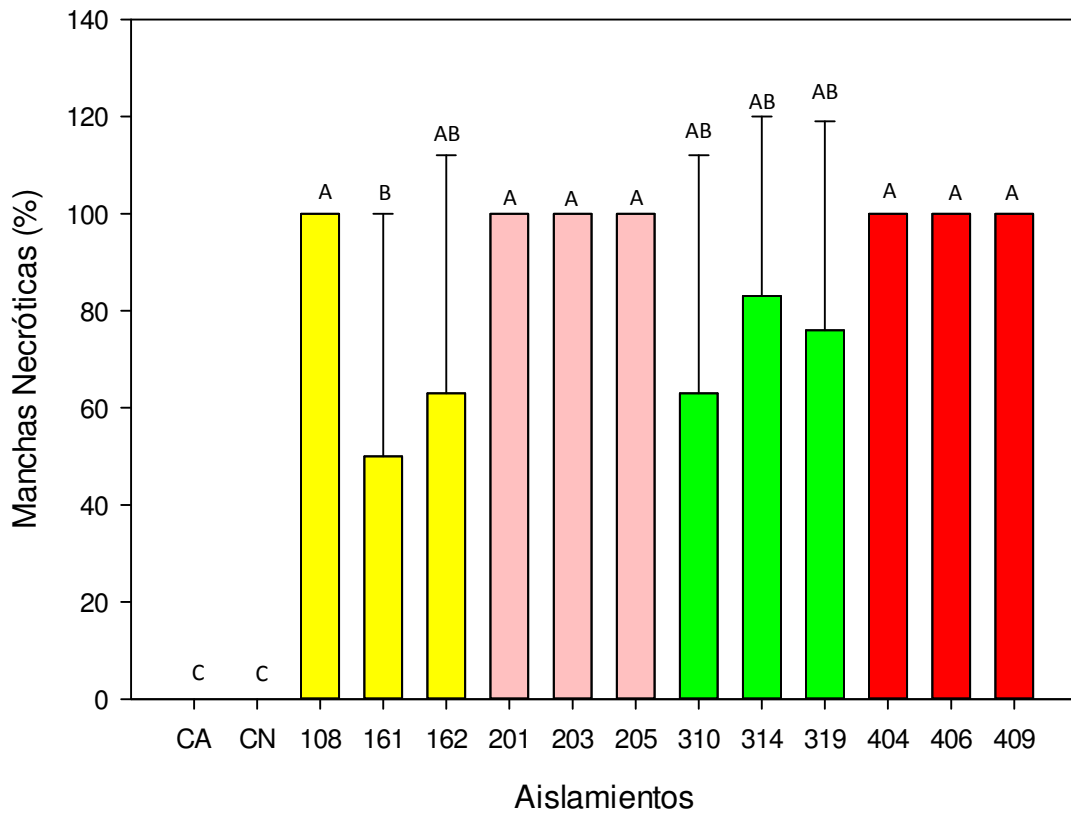


Figura 6.10. Prueba de patogenicidad en tomate. Manchas necróticas raíz. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.

En la figura 6.11 se observan los resultados obtenidos para la presencia/ausencia de manchas necróticas en el tallo, en esta se puede observar la presencia de manchas necróticas en el tallo en la totalidad de los aislamientos en comparación a los controles CA y CN.

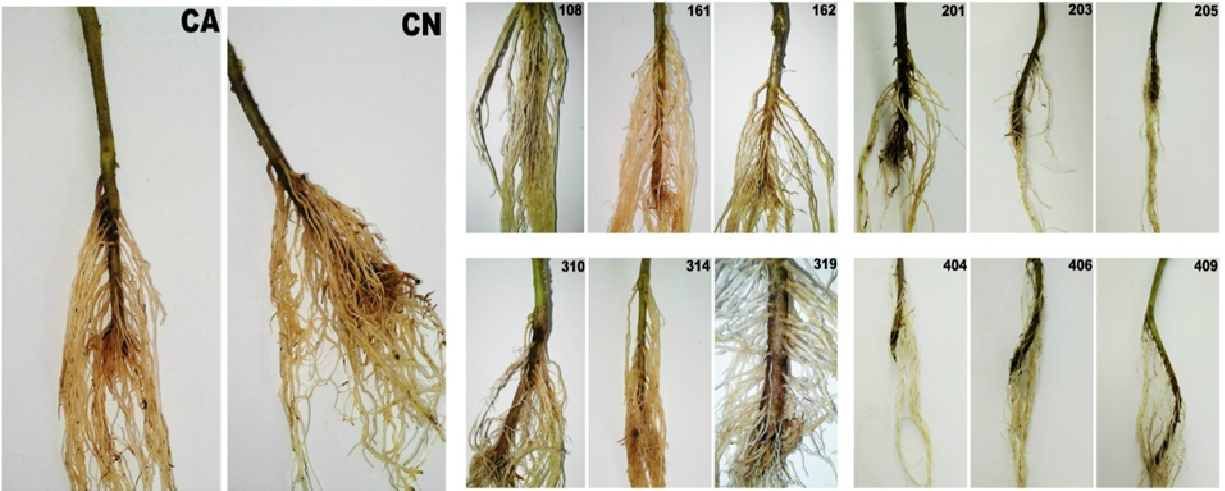


Figura. 6.11. Prueba de patogenicidad en tomate. Tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico.

En la figura 6.12 se observan los resultados obtenidos para el avance del patógeno en el tallo, en esta se observa que para la totalidad de las series 100, 200, 300 y 400 se logró recuperar el patógeno a partir del tallo (Anexo 10.2), en esta figura se observa que el aislamiento a partir del cual se obtuvo un mayor avance del patógeno fue el aislamiento 314 (origen vegetal-clavel) (5,13 cm) correspondiente a *F. oxysporum*, seguido de los aislamiento 108 (4,9 cm) correspondiente a *F. solani* y 162 (4,6cm) correspondiente a *F. oxysporum* (ambos de origen animal), el aislamiento 310 (control biótico) presentó un avance de 4,5 cm. Por su parte el aislamiento que presentó un menor avance fue el 205 (origen humano-superficial) correspondiente a *F. oxysporum* (2,5 cm).

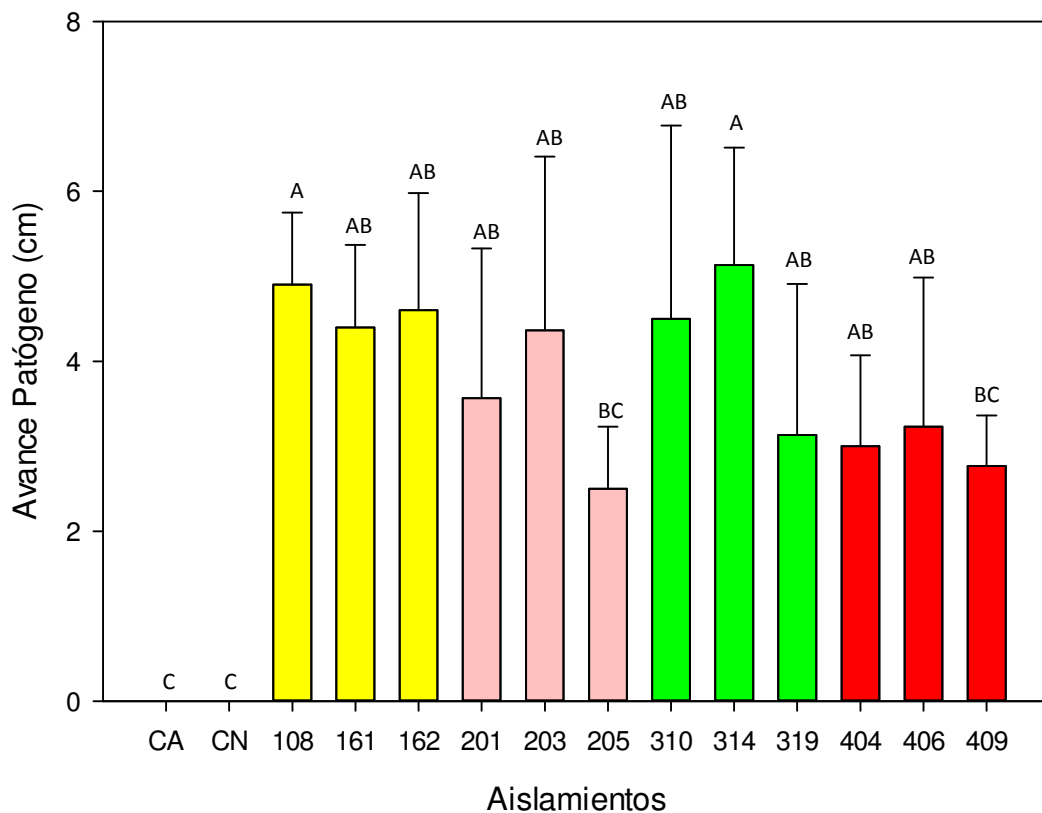


Figura 6.12. Prueba de patogenicidad en tomate. Avance patógeno. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's $\alpha=0,05$.

Debido a que solo se evidenció clorosis, leve epinastía y leve pérdida de turgencia en algunas plantas, además de no observar marchitamiento ni muerte en ninguna de las plantas (Anexo 10.2), no fue posible construir una escala de severidad para las plantas de tomate.

Para este ensayo se esperaba encontrar sintomatología típica del marchitamiento vascular o fusariosis causada por los diferentes aislamientos, en donde se encontrara limitado el crecimiento de las plantas, se observara necrosis vascular junto con necrosis en tallos y raíces y un re-aislamiento del patógeno exitoso, debido a que las plantas de tomate se ven fuertemente afectadas por esta enfermedad a causa especies pertenecientes al género *Fusarium* como por ejemplo *F. oxysporum* (Báez *et al.* 2010).

Como puede observarse en la figura 6.8 no hubo una gran variabilidad en la altura de los tallos y, aunque éste no es un parámetro que se evalúe comúnmente para las plantas de tomate, algunos autores precisan que este es un síntoma que puede ser evidenciado en plantas infectadas con *Fusarium* (Lugo & Sanabria 2001; Tamayo & Jaramillo 2006). Aunque algunos tratamientos presentaron plantas con menor longitud, como es el caso del tratamiento con el aislamiento 310 (control biótico) correspondiente a *F. oxysporum*, no se puede asegurar que lo observado sea un efecto producido por la infección del hongo debido a la inconsistencia encontrada entre las longitudes de los tallos de los controles abiótico y negativo con respecto al resto. Además se debe tener en cuenta que los aislamientos 314 y 319 presentaron una mayor longitud de los tallos con respecto a los controles, lo que puede deberse a una variabilidad propia del material vegetal empleado para los ensayos.

Por otro lado, la necrosis vascular es un síntoma del marchitamiento vascular que se puede presentar desde la raíz extendiéndose por el tallo (Momol *et al.* 2004). Esta se reporta con mucha frecuencia en las infecciones causadas por *Fusarium* en plantas de tomate, especialmente cuando las especies son *F. oxysporum* y *F. solani*, donde se han alcanzado hasta 50 cm de longitud de necrosis (Tello y Lacasa 1988). Aunque los valores encontrados en este estudio no son de tal longitud el síntoma logró evidenciarse con claridad, inclusive en especies como *F. verticillioides* y *F. sporotrichioides*, que no están reportadas como causantes de marchitamiento vascular en plantas de tomate (Alvarado 2014). Esto puede observarse en la figura 6.9 en donde se muestra que en todos los tratamientos se presentó necrosis vascular con excepción de los controles abiótico y negativo y el aislamiento 409 (origen humano-sistémico) correspondiente a *F. oxysporum*, siendo los tratamientos 201 y 203 correspondientes a *F. sporotrichioides* y *F. verticillioides*, respectivamente (ambos origen humano-superficial) los que presentaron una mayor longitud de necrosis (3,1 cm), estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Alvarado (2014), pues en este estudio en el mismo ensayo bajo las mismas condiciones, las necrosis vasculares evidenciadas en las plantas de tomate no excedieron el centímetro, mientras que en el presente estudio se alcanzaron necrosis con longitudes mucho más largas. Por otra parte, en el estudio de Alvarado (2014) no se evidenció este síntoma en los tratamientos con los aislamientos 319 y 409 en una de las repeticiones, mientras que en el presente estudio, con el aislamiento 319 correspondiente a *F. solani* se logró una longitud de necrosis de 2 cm. Con

respecto al aislamiento 409, al igual que en una de las repeticiones del trabado de Alvarado (2014), tampoco se pudo evidenciar este síntoma. Estas diferencias pueden deberse a la variedad de tomate chonto empleada en los dos estudios, pues aunque ambos son variedad Santa Clara y fueron adquiridos a través del mismo proveedor, los ensayos se realizaron en tiempos diferentes, por lo cual se presume la existencia de una diferencia en el genotipo del material vegetal entre los tres montajes en el tiempo, pues hay algunos clones híbridos de esta variedad de tomate que son resistentes a algunas razas de *Fusarium* (Jaramillo *et al.* 2006), lo que pudo haber afectado los resultados obtenidos por dicho estudio, pues las longitudes de necrosis encontradas por Alvarado (2014) son mucho más inferiores a las encontradas en el presente estudio.

En lo que respecta a las manchas necróticas en raíz (figura 10), se observa este síntoma en todos los tratamientos con excepción de los controles abiótico y negativo. Esto indica que el proceso de infección se está desarrollando, teniendo en cuenta lo propuesto por Lagopodi *et al.* (2002), Donde el inicio del proceso infectivo se da con el contacto del patógeno con los pelos radicales, seguido de la adhesión y penetración de las raíces por parte del hongo, posteriormente se da la penetración en las células de la epidermis, que conlleva a la colonización del tejido radical, generando una coloración café en la raíces infectadas debido a la necrosis de las células radiculares, tal como se observa en este estudio (Anexo 10.2). También se encontraron manchas necróticas en el tallo (figura 6.11) como síntoma asociado a la marchitez vascular causada por *Fusarium*, pues este se presenta debido al contacto del patógeno con este tejido, seguido de la penetración del patógeno en este, por lo cual se genera un oscurecimiento a causa de la necrosis del tejido (González *et al.* 2012).

En cuanto al avance del patógeno (figura 6.12), en todos los tratamientos con excepción de los controles negativo y abiótico, fue posible el re-aislamiento de los hongos, lo cual concuerda con los postulados de Koch (Volcy 2008), esto confirma que los aislamientos evaluados expresan factores de patogenicidad que permiten el establecimiento de la infección. Estos resultados también concuerdan con el estudio de Alvarado (2014), pues en este estudio se logró el re-aislar satisfactoriamente los mismos aislamientos a partir de las plantas de tomate, con la diferencia de que se recuperaron en menor proporción, pues la longitud de avance del patógeno fue menor.

Para finalizar, solo se logró observar amarillamiento y una coloración púrpura en las hojas bajas de las plantas, pero no fue tomado como un síntoma de la enfermedad debido a que los controles abiótico y negativo también presentaron estos síntomas, por lo cual estos fueron atribuidos a las condiciones del invernadero. La coloración púrpura específicamente, se atribuyó a las bajas temperaturas, pues en horas de la mañana se presentaban temperaturas inferiores a 10°C, lo cual conllevó a que se diera una posible mala asimilación del fósforo, lo que generó una carencia de este y una producción de antocianinas en exceso, lo que provocó en las hojas más viejas (hojas bajas) tonalidades púrpuras (Taiz y Zeiger 2006; Bermejo 2011).

Para este ensayo se esperaba evidenciar síntomas de clorosis, epinastía, defoliación y consecuentemente marchitamiento vascular, pues en plantas de tomate ha sido reportado que inclusive con concentraciones del inóculo menores a las empleadas en este estudio y en periodos más cortos de evaluación, estos síntomas si se han manifestado. Un ejemplo de esto son los estudios de Bao y Lazarovits (2001) y Lugo y Sanabría (2001) que con una inmersión de las raíces de las plantas en suspensiones conidiales de 1×10^6 conidios/mL de *F. oxysporum*, la enfermedad se desarrolla y aparecen los síntomas luego de 15 días con progreso de los mismos durante 45 días de evaluación o en 28 días respectivamente, aunque hay que destacar que estos estudios de patogenicidad son realizados con aislamientos de formas especiales y razas conocidas sobre hospederos susceptibles, lo cual favorece el desarrollo de la enfermedad.

Para el presente estudio no se tenían formas especiales que favorecieran el desarrollo de la enfermedad en un menor tiempo, a excepción del aislamiento 310 (origen vegetal-tomate), pues al provenir de plantas de tomate, se esperaba que tuviera una especificidad hacia las mismas y se desarrollara la enfermedad con la sintomatología típica en el periodo establecido para el ensayo. La ausencia de estos síntomas puede ser atribuida a las condiciones ambientales del invernadero en el que se llevaron a cabo los ensayos, pues a lo largo del día se presentaban grandes fluctuaciones en la temperatura desde 10°C hasta 37°C aproximadamente. En diversos estudios se ha logrado demostrar el efecto de las condiciones ambientales sobre el desarrollo de la enfermedad, pues aislamientos de *Fusarium* provenientes de tomate tienen la capacidad de crecer *in vitro* en temperaturas entre los 15°C a los 40°C, teniendo un óptimo crecimiento 25°C a 30°C (Kumar *et al.* 2011). En el estudio de Clayton (1923) se planteó una relación entre la temperatura

y el proceso de patogenicidad de *Fusarium* en plantas de tomate, pues para que haya un desarrollo óptimo de la enfermedad, la temperatura debe estar entre los 25-30°C, ya que a esta temperatura se favorece la penetración del hongo en la planta y se da el inicio al marchitamiento en las hojas bajas de esta, mientras que en temperaturas por debajo de los 25°C (Hasta los 20°C) y por encima de los 30°C (Hasta los 34°C) aunque se induce la aparición de los síntomas de amarillamiento de las hojas, se disminuye el desarrollo del marchitamiento. En temperaturas superiores a los 34°C e inferiores a 20°C, no se permite la manifestación de síntomas de la enfermedad.

Por otro lado se debe tener en cuenta el proceso de colonización que se da en los diferentes órganos de la planta, pues esto es determinante en la manifestación de la enfermedad. El estudio de Pshibytko *et al.* 2006, reporta la aparición de dos patrones de la enfermedad relacionados con las condiciones ambientales, una enfermedad lenta que se da en un periodo de 20 a 30 días, a una temperatura de 18-22°C y una humedad de 50-60%, y una enfermedad rápida que se da en un periodo de 7-10 días en temperaturas superiores a los 25°C con una humedad del 65 al 85%. Para la enfermedad lenta, los microconidios del patógeno y el micelio colonizan parcialmente el xilema y una gran parte de las células del parénquima en donde se encuentran los productos de reserva, razón por la cual las plantas mueren por un déficit nutricional, por otro lado en la enfermedad rápida, los conidios y el micelio colonizan el xilema y el floema por lo cual hay una interrupción del flujo de agua y nutrientes y consecuentemente la planta muere; por su parte, los síntomas relacionados a la enfermedad lenta fueron el amarillamiento de las hojas causando una disminución en la clorofila y por tanto afectado el aparato fotosintético y la actividad de la enzima Rubisco. Mientras que en la enfermedad rápida no se evidenciaron síntomas y se generó un incremento en los carotenoides y un cierre estomático como respuesta a la deshidratación. Estos resultados son de gran importancia debido a que muestran la relevancia que tienen las condiciones ambientales para el proceso de colonización de los órganos, pues esto puede ser determinante para el tipo de manifestación de la enfermedad que se genere. Para el presente estudio, debido a las fluctuaciones en las condiciones ambientales del invernadero donde se llevaron a cabo los ensayos, establecer qué tipo de enfermedad (rápida o lenta) se llevó a cabo, no fue posible, pues en el presente estudio no se alcanzó la enfermedad en ninguno de los periodos de tiempo ni con la sintomatología descrita por Pshibytko *et al.* (2006). A pesar de esto se puede

afirmar que debido al re-aislamiento del patógeno a partir de los haces vasculares y la necrosis encontrada en estos, la enfermedad si se está generando, por lo cual se confirma que factores de patogenicidad como las enzimas líticas estuvieron presentes en la degradación del tejido vegetal, por lo cual se puede inferir que realizando el ensayo bajo condiciones ambientales óptimas, se habría podido observar los síntomas descritos por Pshibytko *et al.* (2006), con todos los aislamientos o al menos con el aislamiento 310 (control biótico).

6.3. Pruebas de patogenicidad en gulupa (*Passiflora edulis* Sims.)

Los resultados obtenidos para las variables: longitud de necrosis, manchas necróticas en raíz, manchas necróticas en tallo y avance del patógeno, no cumplieron los supuestos estadísticos normalidad y homogeneidad de varianza, por lo cual se procedió a realizar una prueba estadística no paramétrica, Kruskal Wallis para cada una de las variables anteriormente nombradas, en donde el objetivo principal fue probar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos con respecto a estas variables. Esta prueba arrojó una significancia inferior a 0,05 para cada una de las variables analizadas, lo cual indicó la existencia de diferencias significativas en los resultados de estas variables con respecto a los tratamientos, esto se evidenció en la prueba de Dunn, pues en esta se observaron las diferencias existentes en los 14 tratamientos con respecto a las variables analizadas (Anexo 10.7).

En el caso de la variable longitud del tallo, se presentó homogeneidad de varianzas (p -valor=0,38), por lo cual se procedió a realizar estadística paramétrica (Anova), en esta se evidenciaron diferencias significativas en los resultados de esta variable con respecto a los distintos tratamientos (p -valor=0,0), lo cual también se corroboró con la prueba de Tukey, que mostró diferentes agrupaciones entre los 14 tratamientos (Anexo 10.7). En la figura 6.13 se muestran los promedios obtenidos para la longitud del tallo en cada tratamiento, en donde se puede observar que el control abiótico, fue el tratamiento con mayor longitud del tallo (21,94 cm) seguido del aislamiento 319 (control biótico) correspondiente a *F. solani* (20,8 cm); mientras que el aislamiento que presentó menor longitud del tallo (14,17 cm) fue el 314 (origen vegetal-clavel), seguido del aislamiento 162 (origen animal) (14,2 cm) ambos correspondientes a *F. oxysporum*.

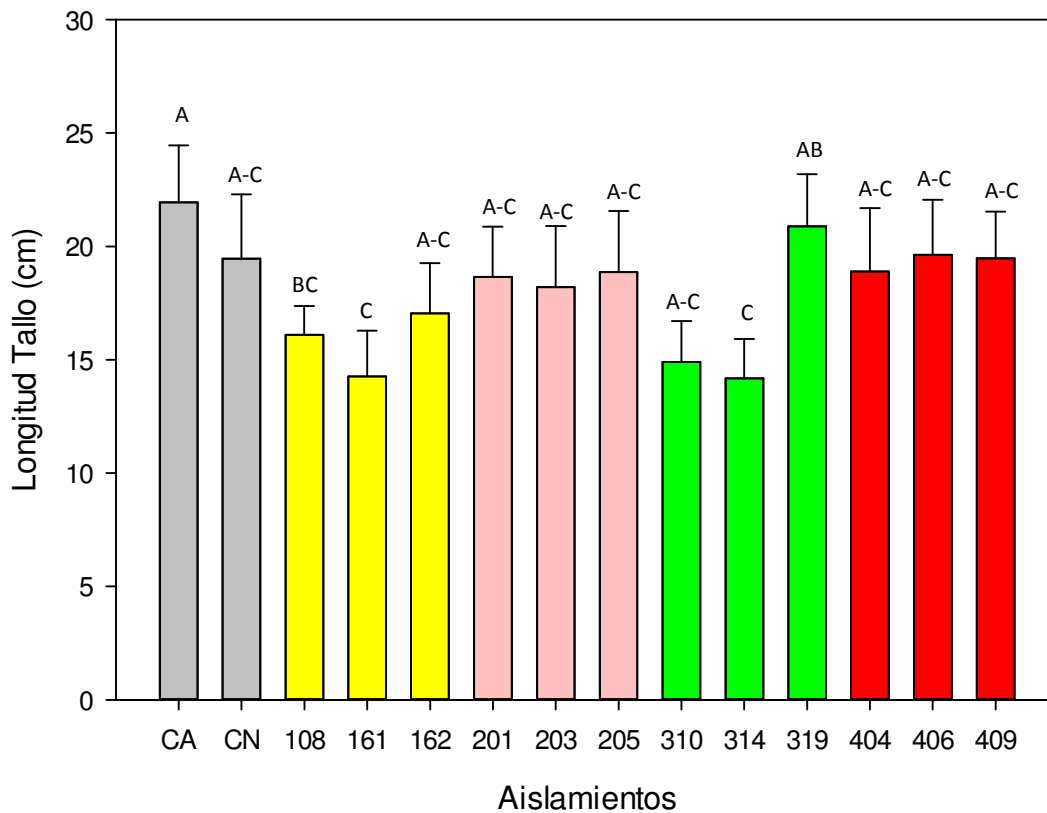


Figura 6.13. Prueba de patogenicidad en gulupa. Longitud Tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Tukey.

En cuanto a la longitud de la necrosis vascular, en la figura 6.14 se puede evidenciar que en todos los tratamientos con los diferentes aislamientos, se evidenció necrosis vascular (Anexo 10.3) siendo esta mayor en los aislamientos 203 (origen humano-superficial) correspondiente *F. verticillioides* (0,34 cm) y 404 (origen humano-sistémico) correspondiente a *F. solani* (0,30 cm), en la figura se observa que el aislamiento 108 (origen animal) correspondiente a *F. solani*, seguido por el aislamiento 314 (origen vegetal-clavel) correspondiente a *F. oxysporum* fueron los que causaron una menor longitud de necrosis, 0,1 cm y 0,09 cm respectivamente; por su parte el aislamiento 319 (control biótico) correspondiente a *F. solani*, generó una necrosis promedio de 0,2 cm.

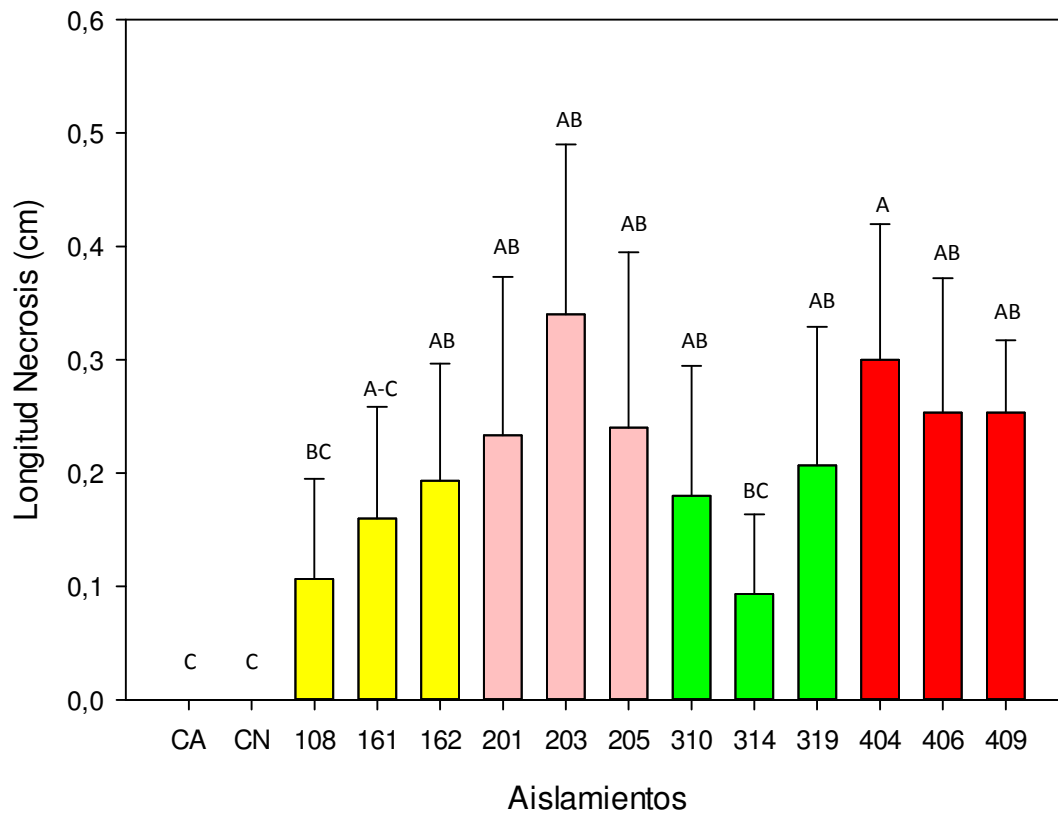


Figura 6.14. Prueba de patogenicidad en gulupa. Longitud necrosis. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.

Como se observa en la figura 6.15, se encontraron manchas necróticas en la raíces de las plantas de todos los aislamientos (Anexo 10.3), en los aislamientos de las series 100 (origen animal) y 300 (origen vegetal) la totalidad de las plantas presentaron manchas necróticas en las raíces, el aislamiento 201 (origen humano-superficial) correspondiente a *F. sporotrichioides* fue el que generó un menor porcentaje de plantas con manchas necróticas en las raíces (20%), en los controles abiótico y negativo no se encontraron manchas necróticas en las raíces.

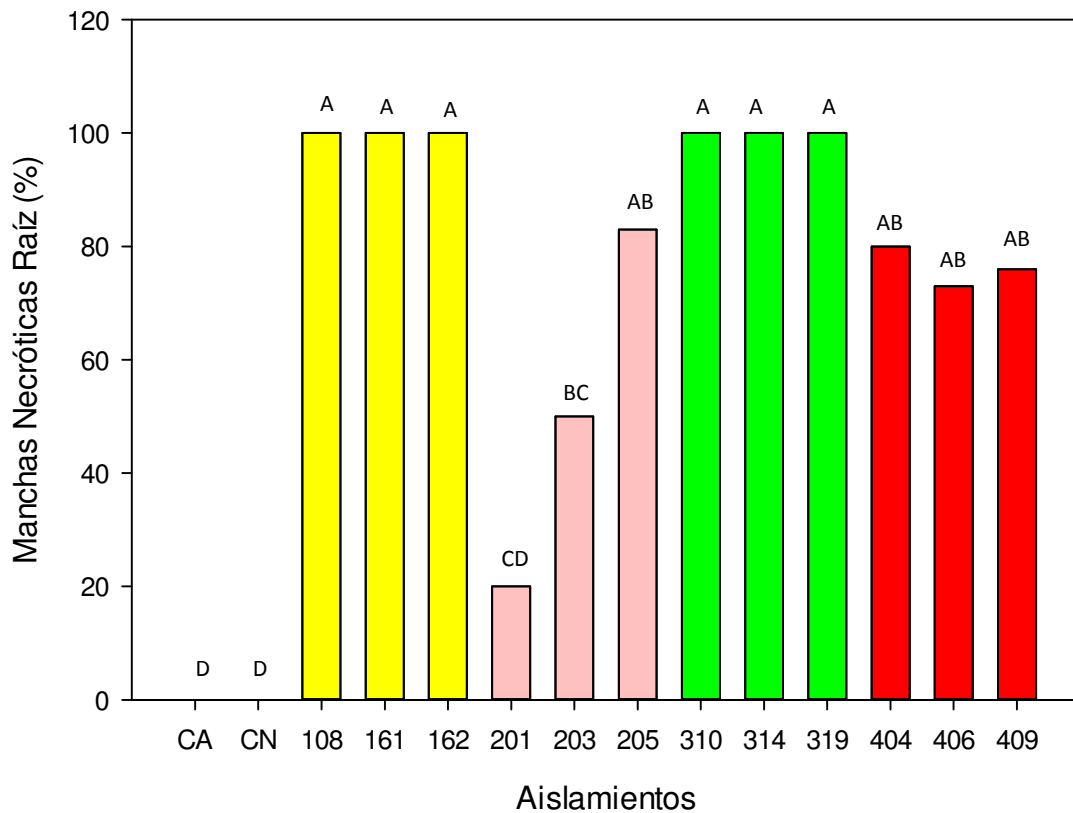


Figura 6.15. Prueba de patogenicidad en gulupa. Manchas necróticas raíz. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's $\alpha=0,05$.

En la figura 6.16 se observan los resultados obtenidos para la presencia/ausencia de manchas necróticas en el tallo, en esta se puede observar que todos los tratamientos presentaron plantas con manchas necróticas en tallo, en comparación a los controles abiótico y negativo que no presentaron este síntoma

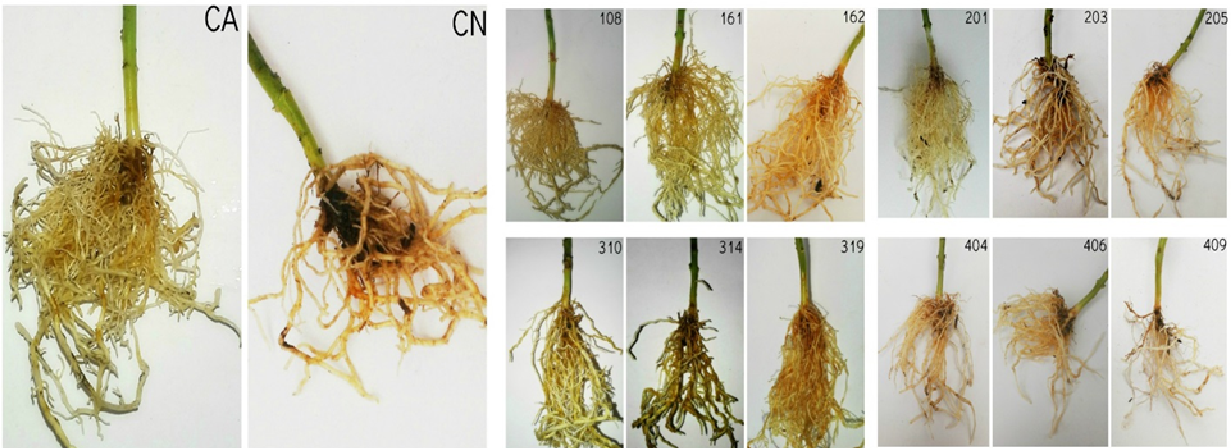


Figura 6.16. Prueba de patogenicidad en gulupa. Manchas necróticas tallo. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico.

En la figura 6.17 se observan los resultados obtenidos para el avance del patógeno en el tallo, en esta se observa que para la totalidad de las series 100, 200, 300 y 400 se logró recuperar el patógeno a partir del tallo (10.3), en esta figura se puede ver que el aislamiento a partir del cual se obtuvo un mayor avance del patógeno fue el aislamiento 203 (*F. verticillioides*, origen humano-superficial) (1,8 cm), seguido del aislamiento 319 (*F. solani*, control biótico) (1,3 cm), por su parte los aislamientos que presentaron un menor avance fueron los aislamientos de la serie 100 (origen animal). En cuanto a las agrupaciones generadas por la prueba de Dunn, se puede observar que los aislamientos de la serie 100 se encuentran relacionados entre sí, al igual que los aislamientos de la serie 200 (origen humano-superficial) (Anexo 10.7).

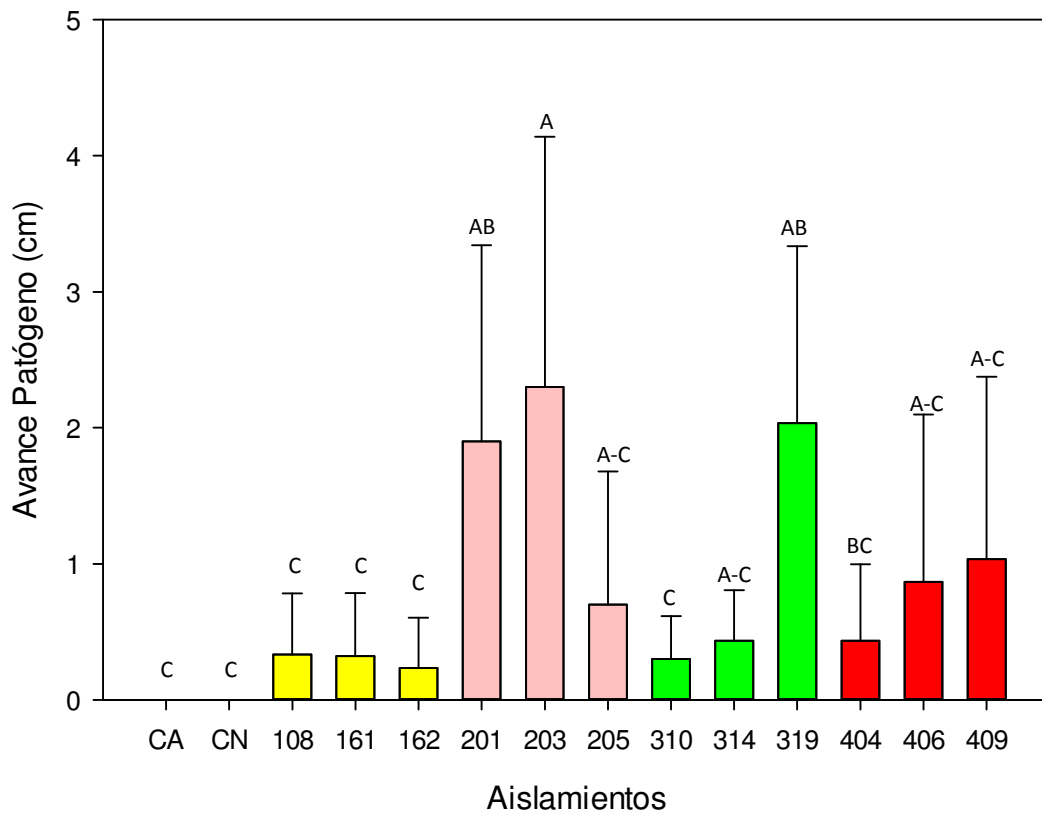


Figura 6.17. Prueba de patogenicidad en gulupa. Avance patógeno. CA: Control Abiótico. CN: Control negativo; Serie 100: aislamientos de origen animal; Serie 200: Aislamientos de origen humano superficial; Serie 300: Aislamientos de origen vegetal; Serie 400: Aislamientos de origen humano sistémico. Las letras sobre las barras corresponden al agrupamiento de Dunn's α -0,05.

Debido a que solamente se evidenciaron síntomas de clorosis en algunas plantas infectadas y tampoco se observó marchitamiento (Anexo 10.3), no fue posible construir una escala de severidad para las plantas de gulupa.

Para las plantas de gulupa, según Ortíz y Hoyos (2012), han sido reportados diferentes síntomas que indican un proceso de marchitez y pudrición del cuello causada por *Fusarium*, estos son el retraso en el crecimiento de las plantas y una clorosis leve en algunas hojas que progresa moderadamente. En las plantas infectadas también se puede observar un oscurecimiento de los haces vasculares, tornándose a un tono rojizo que indica que se está llevando a cabo una necrosis vascular; al extenderse esta necrosis, la enfermedad progresa causando una clorosis severa y un marchitamiento ascendente de la planta, también se observa un oscurecimiento en la base del

tallo lo cual indica que se está produciendo una pudrición del cuello, lo que también se asocia a clorosis y defoliación de la planta. La necrosis puede llegar a alcanzar hasta 20 cm de altura, cuando la enfermedad se encuentra en estados avanzados causa la muerte de la planta.

Algunos de los síntomas previamente descritos pudieron evidenciarse en el presente estudio; por ejemplo, como se observa en la figura 6.13 algunas de las plantas presentaron una longitud inferior a las plantas de los controles lo que concuerda con lo reportado por Ortiz (2012) y Cruz *et al.* (2012), pues en estos estudios se reporta que en plantas jóvenes de gulupa que sean afectadas por *Fusarium*, se presenta un retraso en el crecimiento de la planta, aunque se debe resaltar que si bien este puede ser un indicio de que se está llevando a cabo la infección, el que el control negativo haya presentado una disminución de la altura con respecto al control abiótico puede indicar que el retraso del crecimiento de las plantas se pudo haber dado por el estrés causado al cortar las raíces y no por el patógeno. Además de esto, se debe tener presente que factores abióticos como los son la alta radiación solar y las temperaturas extremas, entre otros, pueden generar estrés en la planta lo cual se ve reflejado en el crecimiento y desarrollo adecuado de las mismas (Cabello *et al.* 2014). Así que teniendo en cuenta que en el invernadero donde se realizaron los ensayos se presentaban marcadas fluctuaciones de temperatura, no se puede asegurar que la variación en la altura de las plantas infectadas con respecto a los controles abiótico y negativo sea un efecto causado por los diferentes aislamientos de *Fusarium* spp., por esto se requiere evaluar la presencia de otros síntomas para asegurar que los aislamientos empleados en este estudio tienen un potencial patogénico en estas plantas.

En lo que respecta a la necrosis vascular, todos los aislamientos la presentaron (figura 6.14), aunque en ningún aislamiento se alcanzó un centímetro de necrosis. El hecho de que este síntoma se haya podido evidenciar sugiere que la infección efectivamente se estableció (Ortíz y Hoyos 2012). Este resultado también concuerda también con lo reportado por Alvarado (2014), pues en su trabajo también se encontró necrosis vascular en plantas de gulupa causadas por los mismos aislamientos empleados en el presente estudio, lo que sugiere un potencial de los mismos para causar marchitamiento vascular, independientemente del origen de aislamiento y su especie. La necrosis vascular también ha sido reportada en los trabajos de Ortiz (2012) en plantas de gulupa de dos y cuatro meses de desarrollo que fueron infectadas con *F. oxysporum*, también por Angulo

(2009) dónde se resalta que la presencia de este síntoma es clave en la identificación del marchitamiento vascular.

En cuanto a las manchas necróticas en raíz (figura 6.15), se observa que todos los aislamientos independientemente de su origen causaron este síntoma, lo que indica que el hongo logró penetrar por la raíz, ya sea por la heridas generadas en el procedimiento de inoculación o las generadas naturalmente durante la ramificación de las raíces secundarias, pues Ortiz (2012) reporta que no existe una diferencia estadística significativa en incidencia y severidad que demuestre que *Fusarium* requiera de heridas inducidas para causar la infección. Aunque *Fusarium* no genere estructuras especializadas para penetración, como los apresorios, su maquinaria enzimática le permite degradar la epidermis del sistema radicular y así ingresar a la planta. Posterior a la penetración de la epidermis, la colonización a nivel intracelular genera los puntos necróticos en raíz, y en estados avanzados de la infección la pudrición de la misma (Ortiz y Hoyos 2012).

El oscurecimiento en la base del tallo o necrosis en tallo pudo ser observado en todos los tratamientos a excepción de los controles abiótico y negativo (figura 6.16), lo cual corrobora lo observado por Alvarado (2014), trabajo en que se evidenció la aparición de manchas rojizas o puntos de necrosis en la base de los tallos de todas las plantas infectadas con los mismos aislamientos empleados en este estudio. Este es un síntoma determinante para la identificación de la enfermedad conocida como pudrición de cuello como se mencionó anteriormente, se ha reportado que esta enfermedad en plantas de gulupa es causada por la especie *F. solani*, particularmente por su forma especial (*F. solani* f. sp. *passiflorae*) (Ortiz y Hoyos 2012; Bueno et al. 2014), mientras que en este estudio y en el de Alvarado (2014) se puede asegurar que este síntoma fue causado además de los aislamientos de *F. solani* (108, 319 y 404), por aislamientos de *F. oxysporum*, *F. verticillioides* y *F. sporotrichioides*, sin importar el origen de aislamiento ya sea humano, animal o vegetal.

La recuperación del patógeno a partir de las plantas infectadas con los diferentes aislamientos como se observa en la figura 6.17 fue exitosa, lo cual concuerda con el estudio de Alvarado (2014), y nuevamente se confirman los postulados de Koch (Volcy 2008).

El que se haya logrado recuperar el patógeno a partir de los tallos de gulupa sugiere que efectivamente se estableció la infección en el hospedero, lo que sugiere una interacción compatible hospedero-patógeno.

Como se mencionó anteriormente, no se lograron evidenciar síntomas como epinastía y pérdida de turgencia, ni clorosis progresiva en la planta (Anexo 10.3), por lo cual no se pudo establecer una escala de severidad, esto pudo deberse a lo encontrado por Ortiz (2012), quien afirma que la manifestación de los síntomas de la enfermedad y la rapidez de su avance depende de la capacidad patogénica de los aislamientos evaluados, pues los aislamientos más patogénicos manifiestan un colapso de las plantas más rápido. Por lo que se puede sugerir que aunque los aislamientos empleados en este estudio tienen un potencial patogénico, al presentar enzimas propias para llevar a cabo este proceso (Alvarado 2014), y por generar necrosis vascular y manchas necróticas en tallo y raíces, al provenir de diferentes orígenes el proceso de patogenicidad puede ser más lento.

Para finalizar y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en todos los ensayos realizados en las plantas de clavel, tomate y gulupa, se pueden inferir varias cosas. En primer lugar, los aislamientos empleados en el presente estudio, presentan la maquinaria enzimática necesaria para causar patogenicidad en las plantas. Esto se confirmó gracias al trabajo de Alvarado (2014), pues como ya fue mencionado anteriormente, en ese estudio se confirmó la presencia de enzimas degradadoras de pared y compuestos de reserva, en los aislamientos trabajados en el presente estudio. La relevancia de dichas enzimas radica en que estas son determinantes en el establecimiento y colonización del patógeno en el hospedero, pues actúan de manera sinérgica para lograr la ruptura de la pared vegetal y así entrar a la planta (Di Pietro *et al.* 2009).

En segundo lugar se debe resaltar que si bien los microorganismos pueden presentar la maquinaria enzimática necesaria para causar la patogenicidad, se deben tener presentes las respuestas de defensa de las plantas. Pues además de las barreras estructurales como la cutícula y la peridermis, existen metabolitos secundarios que proporcionan defensa a la planta (Taiz y Zeiger 2006) los cuales pueden frenar o retrasar la infección.

Según Taiz y Zeiger (2006), una vez las plantas son infectadas por un patógeno, debido a que este logró atravesar la barrera estructural de la planta, las plantas presentan varias defensas contra los microorganismos invasores. Se debe tener presente que los microorganismos que pueden causar la infección pueden ser microorganismo biotróficos, hemi-biotróficos y necrotrofico, en donde *Fusarium* entra en el grupo de los microorganismos necrotroficos, pues penetra por una herida en la planta y para sobrevivir mata las células de esta; hay que resaltar que cualquiera que sea el microorganismo que entre a la planta, su desarrollo va a depender del tipo de interacción que se dé entre el hospedero y el, en donde se pueden dar interacciones compatibles e incompatibles, donde en las primeras el patógeno es capaz de evadir o retrasar la respuesta de defensa de la planta causando así la infección, mientras que en las interacciones incompatibles, la planta detecta al patógeno e inmediatamente lo bloquea evitando así la infección (Taiz y Zeiger 2006), esto último pudo ser una causa importante de la ausencia de sintomatología típica de marchitamiento vascular en las plantas de clavel, tomate y gulupa. Los mecanismos de defensa inician con el reconocimiento de las moléculas efectoras de los patógenos, estas pueden ser generales o específicas, en donde las generales como la quitina, son llamados patrones moleculares asociados al patógeno (Pamps), también se encuentran los genes R que codifican receptores proteicos que reconocen y se unen a las moléculas específicas generadas por los patógenos (elicitors) (Ramos y Portal 2010; Riveros 2010). Al darse estas uniones la planta recibe una alerta de la presencia del patógeno, lo cual desencadena rutas de señalización que activan los mecanismos de defensa contra los patógenos (Taiz y Zeiger 2006). El inicio de la respuesta de la planta ocurre segundos después del reconocimiento descrito anteriormente en donde se da un aumento de los genes relacionados con las defensas y se genera un fortalecimiento físico de las paredes celulares por la producción de ligninas y la formación de callo, disparando la producción de fitoalexinas que limitan el crecimiento del patógeno, e induciendo la producción de proteína antimicrobianas lo cual sucede por la activación de sustancias señalizadoras como el etileno, jasmonato, el ácido abscísico y el ácido salicílico (Ardila e Higuera 2005; Taiz y Zeiger 2006; Riveros 2010; Rangel *et al.* 2010 González *et al.* 2012; Díaz 2012). Estas sustancias actúan como factores claves de transcripción y se difunden en la totalidad de la planta, posteriormente se da una súper producción de especies reactivas de oxígeno, lo cual induce lisis en las células próximas al patógeno, esto se conoce como respuesta hipersensible, pero como *Fusarium* es un microorganismo necrotrofo, este mecanismo no es útil

para detenerlo, esta respuesta hipersensible ocurre por la presencia del ácido salicílico pues este inhibe a la enzima catalasa encargada de detoxificar el peróxido de hidrogeno en la planta (Arauz 1998; Rangel *et al.* 2010). Por otra parte, cuando hay una activación de etileno se ve involucrada la expresión de ERF1 (factor 1 de respuesta al etileno) el cual es un gen de respuesta inmediata al etileno, el cual participa en una cascada de activación transcripcional de genes inducibles por esta hormona; Para activarlo también se requiere ácido jasmónico. Se debe resaltar que los cambios comienzan a darse de manera local en la zona donde ocurre el contacto e invasión del patógeno y posteriormente se extiende de manera sistémica por la planta (Jordan y Casaretto 2006). Estos mecanismos de defensa en conjunto pudieron ser una de las causas de la ausencia de sintomatología de marchitamiento en las plantas de clavel (a excepción de las plantas infectadas con el aislamiento 314), en las plantas de gulupa y tomate.

Aunque no se haya evidenciado la sintomatología típica del marchitamiento vascular en las plantas de clavel (a excepción de las infectadas con el aislamiento 314), tomate y gulupa, el haber encontrado necrosis vascular y necrosis en tallo y raíz, además de haber logrado la recuperación del patógeno a partir de las plantas infectadas, permite asegurar que hubo un establecimiento de la infección. Por esta razón y debido a que un mismo aislamiento de *Fusarium* tiene la capacidad de infectar más de un hospedero (independientemente de su origen de aislamiento), *Fusarium* spp. podría ser considerado como un posible modelo de patógeno multihospedero.

7. CONCLUSIONES

El establecimiento de una escala de severidad para comparar la patogenicidad de los doce aislamientos de *Fusarium* spp. en estudio, no se logró para las plantas de gulupa y tomate, debido a que no se evidenciaron síntomas característicos de marchitamiento vascular como epinastía, clorosis y pérdida de turgencia.

La evidencia del avance de los diferentes aislamientos de *Fusarium* spp. en el tallo de los tres hospederos vegetales (clavel, tomate y gulupa) confirma el establecimiento del proceso infeccioso, etapa crítica para el desarrollo del marchitamiento vascular.

Todos los aislamientos evaluados, independientemente de su origen, generaron necrosis al interior de los haces vasculares en alguno o en los tres tipos de hospedero (clavel, tomate y gulupa). Este síntoma, directamente asociado al marchitamiento vascular, evidencia colonización a nivel intracelular, una característica típica de patógenos necrótrofos como *Fusarium* spp.

Aunque no se observaron todos los síntomas asociados a marchitamiento vascular en los tres hospederos vegetales por parte de los doce aislamientos evaluados, el establecimiento del proceso infeccioso y la necrosis de los haces vasculares en las plantas de clavel, tomate y gulupa, independientemente de la especie y del origen de los aislamientos, demuestra el potencial de *Fusarium* spp. como modelo de patógeno multihospedero.

8. RECOMENDACIONES

Realizar una identificación de formas especiales de los aislamientos trabajados con el fin de entender de manera más precisa su comportamiento en los hospederos vegetales evaluados.

Realizar las pruebas de patogenicidad empleando los mismos modelos vegetales pero bajo las condiciones óptimas controladas para el desarrollo de la enfermedad.

Realizar las evaluaciones de sintomatología en periodos de tiempo más largos.

9. BIBLIOGRAFÍA

Acurio R (2010) Técnicas de prevención y control de *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi* en clavel *Dianthus caryophyllus* y su incidencia en la productividad. Tesis Maestría. *Universidad técnica de Ambato*

Afanador A (2005) Propagación *in vitro* a partir de meristemas de cinco variedades comerciales de *Dianthus caryophyllus* L. (clavel). <http://bit.ly/1rFFI08> Consultado el: 27 de Junio de 2014.

Agrios G (2005) Plant Pathology. Elsevier Academic Press- 163-164, 523.

Alvarado A (2014) Caracterización molecular por AFLP y evaluación de factores de patogenicidad de *Fusarium* spp. Aislados de humanos, animales y plantas como herramientas para el planteamiento de un modelo multihospedero. Tesis de Maestría. *Pontificia Universidad Javeriana*.

Angulo R (2009) Gulupa *Passiflora edulis* var. *edulis* Sims. Bayer CropScience. Bogotá, Colombia.

Arauz, LF. (1998). Fitopatología, un enfoque agroecológico. Primera edición. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 163-182, 289-290 p.

Arbeláez G (2000) Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Colombiana*. 17: 11-22.

Báez E, Carrillo J, Báez M, García R, Valdez J, Contreras R (2010) Uso de Portainjertos Resistentes para el control de la fusariosis (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* Snyder & Hansen raza 3) del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en condiciones de malasombra. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28(2): 111-122.

Bao JR, Lazarovits G (2001) Differential colonization of tomato roots by nonpathogenic and pathogenic *Fusarium oxysporum* strains may influence *Fusarium* wilt control. *Phytopathology* 91(5):449-456.

Bermejo J (2011) Deficiencias y excesos nutricionales en tomate: síntomas y corrección. *Disponible en línea: <http://bit.ly/1HPM9ma>*.

Borja C, Chimbo J (2013) Adaptación y caracterización morfológica de plantas medicinales subtropicales del cantón Echeandía provincia de Bolívar. <http://bit.ly/1qA1DRN>. Consultado el: 27 de Junio de 2014.

- Bueno CJ, Fischer IH, Rosa DD, Firmino AC, Harakava R, et al (2014) *Fusarium solani* f. sp. *passiflorae*: a new forma specialis causing collar rot in yellow passion fruit. *Plant pathology* 63(2): 382-389.
- Cabello JV, Lodeyro AF, Zurbriggen MD (2014) Novel perspectives for the engineering of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 26: 62-70.
- Camacho N, Gil J (2008) Evaluación preliminar de modelos de infección cruzada por *Fusarium* sp., aislados de procesos patológicos en plantas, animales y humanos. *Pontificia Universidad Javeriana*
- Campo M, Lewis R E, Kontoyiannis D P (2010) Invasive fusariosis in patients with hematologic malignancies at a cancer center: 1998-2009. *The Journal of Infection* 60(5): 331–7. doi:10.1016/j.jinf.2010.01.010
- Cohén C (2000). Sepsis por *Fusarium* en un paciente con anemia aplásica. *Dermatología Venezolana* 38(1) 8–10.
- Cruz M, Hoyos L, Melgarejo LM (2012) *Ecofisiología del cultivo de la gulupa-(Passiflora edulis Sims)* Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C.
- Desjardins E, Proctor R H (2007) Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 119(1-2): 47–50. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.024
- Díaz L (2012) Resistencia sistémica adquirida mediada por el ácido salicílico. *Biotechnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 10(2): 257-267.
- Dignani MC, Anaissie E (2004) Human fusariosis. *Clinical Microbiology and Infection* 10(1): 67-75.

- Di Prieto A, Roncero MI (2004) *Fusarium oxysporum*: un modelo para el análisis de la patogénesis fúngica en plantas y humanos. *Actualidad Sociedad Española de Microbiología* 37: 6-13.
- Estupiñán H, Ossa JA (2007) Efecto del agente causal de la marchitez vascular de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) el hongo *Fusarium oxysporum* Schelecht, sobre algunas solanáceas y otras especies cultivadas afectadas por formas especiales del microorganismo. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. <http://bit.ly/1m0cOo0> consultado: 09 de septiembre 2014.
- Fagbamila I O, Meseko CA, Adedeji JA, Ngulukun SS, Akalusi Y, et al. (2010) *Fusarium graminearum* in a papilloma virus infected friesian bull in om, Nigeria: Case Report. *Nigerina Veterinary Journal* 31(4): 302-305.
- FAO (2006). Tomate (*Lycopersicon esculentum*). <http://bit.ly/1nJU4oU> Consultado el: 27 de Junio de 2014.
- Fenalco (2013) Boletín económico sectorial, sector flores. <http://bit.ly/1GvoDXA> Consultado el: 27 de Abril de 2015.
- Garcés E, Orozco M, Bautista G, Valencia H (2001) *Fusarium oxysporum* El hongo que nos falta conocer. *Acta biológica Colombiana* 6(1): 7-25.
- González I, Arias Y (2012) Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycipersici*-Tomate. *Revista de Protección Vegetal* 27(1): 1-7.
- Jaramillo J, Rodríguez V, Guzmán M, Zapata M (2006) El cultivo de tomate bajo invernadero (*Lycopersicon esculentum* Mill). Corpoica <http://bit.ly/1ljTEml> Consultado el: 27 de Junio de 2014.

- Jordan M, Casaretto J (2006) Hormonas y reguladores del crecimiento: Etileno, Ácido Abscísico, Brasinoesteroides, Poliaminas, Ácido salicílico y Ácido Jasmónico. *Fisiología Vegetal*. <http://bit.ly/1GxT52W>.
- Kumar B, Singh R, Saha S, Kumar A, Rai A (2011) Effect of temperatura, pH and media on the growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing wilt of tomato. *Progressive horticulture* 43(2):186-192.
- Lagopodi AL, Ram A, Lamers G, Punt P, Van Den Hondel C, et al (2002) Novel aspects of tomato root colonization and infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* revealed by confocallaser scanning microscopic analysis using the green fluorescent protein as a marker. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 15(2): 172-179.
- Lugo ZC, Sanabria NH (2001) Características culturales y patogénicas en aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* procedentes de plantaciones comerciales de tomate *Agronomía tropical* 51(4): 519-530.
- Matas A (2005) Estudios de los factores incidentes en el agrietado del fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Tipo cereza: el papel de la cutícula del fruto. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. <http://bit.ly/1qhrY9n> Consultado el: 27 de Junio de 2014.
- Madriz K (2002) Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. *Manejo Integrado de Plagas* 63: 22-32.
- Momol T, Pernezny K, McGovern, Olson S (2004) Three Soilborne Tomato Diseases Caused by *Ralstonia* and *Fusarium* Species and their Field Diagnostics¹. *University of Florida – Institute of food and Agricultural Sciences*.
- Nava, R (2012) Efecto de la adición de enmiendas orgánicas y cubiertas plásticas del sustrato sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* razas uno y dos en clavel, asociadas con posibles Fusaria antagonistas. *Tesis Doctoral. Universidad de Cordoba*

- Navarro-Velasco G, Prados-Rosales R, Ortíz-Urquiza A, Quesada-Moraga E, Di Prieto A (2011) *Galleria mellonella* as model host for the trans-kingdom pathogen *Fusarium oxysporum*. *Fungal genetics and biology* 48: 1124-1129.
- Nucci M, Anaissie E (2007) *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews* 20(4): 695-704.
- Olivares R, Alfaro J, Díaz C, Thompson L (2005) Fusariosis diseminada por *Fusarium oxysporum* en un paciente adulto con leucemia mieloide aguda y neutropenia severa febril. *Revista Chilena de Infectología* 22(4): 356–360.
- Ortiz D (2010) Estudio de la variabilidad genética en materiales comerciales de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) en Colombia. *Universidad Nacional de Colombia* <http://bit.ly/1vc6Cbb>
- Ortíz E, Hoyos L (2012) Descripción de la sintomatología asociada a fusariosis y comparación con otras enfermedades en gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en la región de Sumapaz (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 6(1): 110-116.
- Ortiz H (2012) Etiología de enfermedades asociadas a fusariosis en el cultivo de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims) en la región del Sumapaz. Tesis Maestría. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Ortoneda M, Guarro J, Madrid MP, Caracuel Z, González MI, et al. (2004) *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. *Infection and Immunity* 72(3): 1760-1766.
- Pshibytko N, Zenevich L, Kabashnikova L (2006) Changes in the Photosynthetic Apparatus during *Fusarium oxysporum* Wilt of tomato. *Russian Journal of Plant Physiology* 53(1): 25-31.

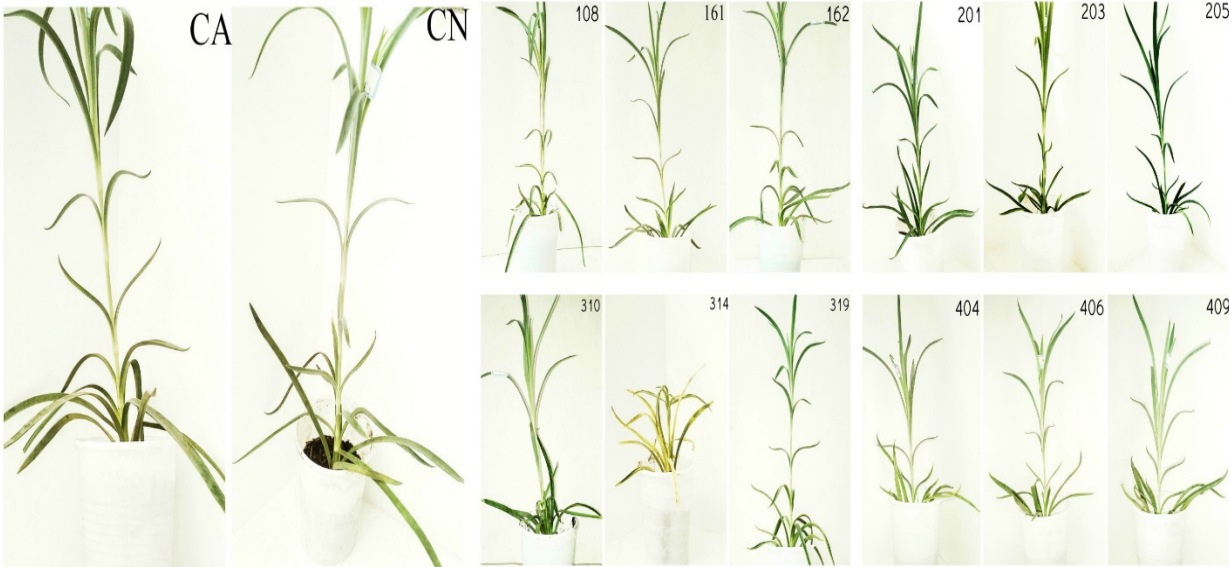
- Ramos K, Portal O (2010) Introducción al sistema inmune en plantas. *Biotecnología vegetal* 10(1): 3-19.
- Rangel G, Castro E, Beltrán E, Reyes de la Cruz H, García P (2010) El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. *Biológicas* 12(2): 90-95.
- Reyes A, Alejo JC, Ruiz E, Suárez J (2012) Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad* 16(3): 161-165.
- Rincón C (2010) Reconocimiento taxonómico preliminar de *Fusarium roseum* (clasificación pendiente) responsable de la pudrición basal del clavel comercial en la sabana de Bogotá. Trabajo de grado. *Universidad Militar Nueva Granada*.
- Riveros A (2010) Inducción de resistencia en plantas. Interacción: Planta-patógeno. *IICA*. Ibagué, Colombia. 64-77.
- Rocha RC, Lozano P, Martínez Y (2004) Mecanismos de Patogenicidad e interacción: Parásito-Hospedero. Primera edición. *Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*. Puebla, México. 201-202.
- Suárez F (2002) Persistencia y capacidad infectiva del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, f. Sp. *Melonis* en residuos vegetales de melón. *Universidad Almería*. Tesis doctoral.
- Summerell B, Laurence M (2010) Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: a review. *Fungal Diversity* 44: 3-13.
- Taiz L, Zeiger E (2006) Fisiología Vegetal. *Universitat Jaume*. 128, 533-576.

- Tamayo PJ, Jaramillo JE (2006) Enfermedades del tomate, ají, pimentón y berenjena en Colombia. Corporación Agropecuaria de Investigaciones Agropecuarias-CORPOICA. Centro de Investigación La Selva. Rionegro Antioquía, Colombia.
- Tello JC, Lacasa A (1988) “La podredumbre del cuello y de las raíces”, causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, nueva enfermedad en los cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), Españoles. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 14: 307-312.
- Trujillo E, Moreno B, Acevedo R, Vera, R (2005) Variabilidad genética de *Fusarium* spp., causante de la marchitez en clavel, determinada mediante electroforesis Fitopatología Venezolana 18(1): 9–14.
- Valencia-Guerrero M F, Quevedo-Hidalgo B, Franco-Correa M (2011) Evaluación de actividades enzimáticas de *Fusarium* spp., aislados de lesiones en humanos, animales y plantas. *Universitas Scientiarum* 16 (2): 147–159.
- Varón AG, Nouer, S. a, Barreiros, G., Moritz B, Magalhães F. Tiyomi A, Garnica M, Nucci M (2013) Superficial skin lesions positive for *Fusarium* are associated with subsequent development of invasive fusariosis. *The Journal of Infection* 68(1): 85–9. doi:10.1016/j.jinf.2013.08.011.
- Villa A, Pérez R, Morales HA, Basurto M, Soto JM, Martínez E (2015) Situación actual en el control de *Fusarium* spp. Y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica* 64(2): 194-205.
- Volcy C (2008) Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 26(1): 107-115.

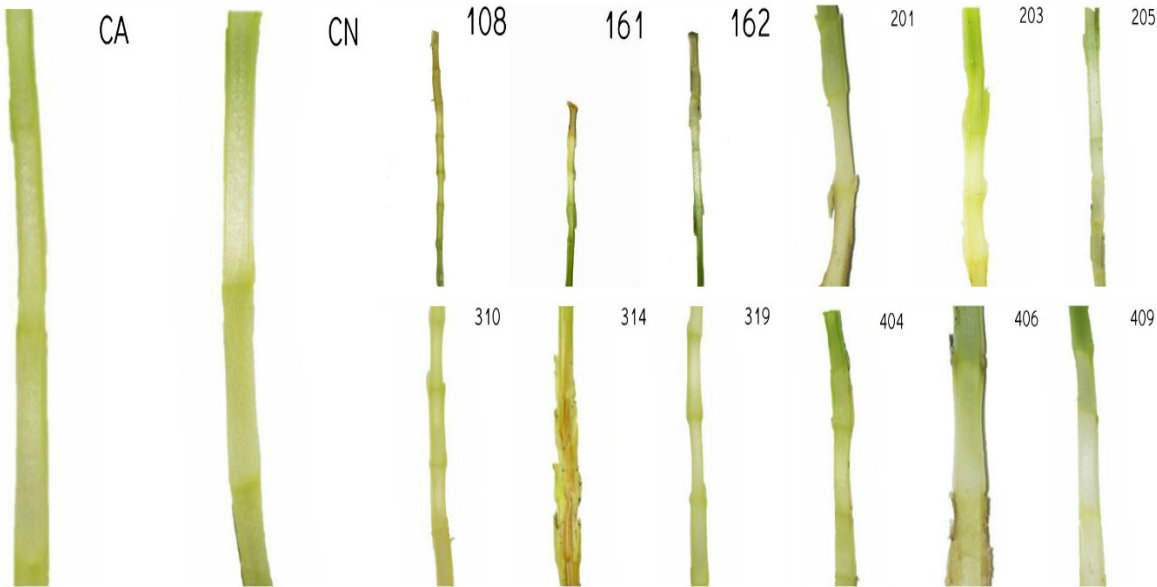
10. ANEXOS

10.1. Registro Fotográfico Clavel (*Dianthus caryophyllus* L)

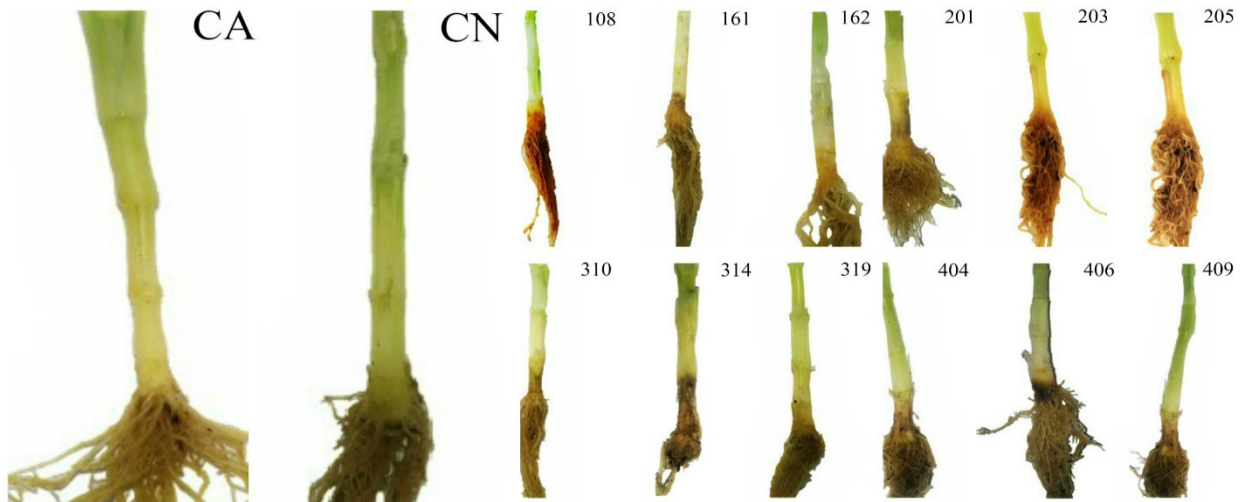
Plantas



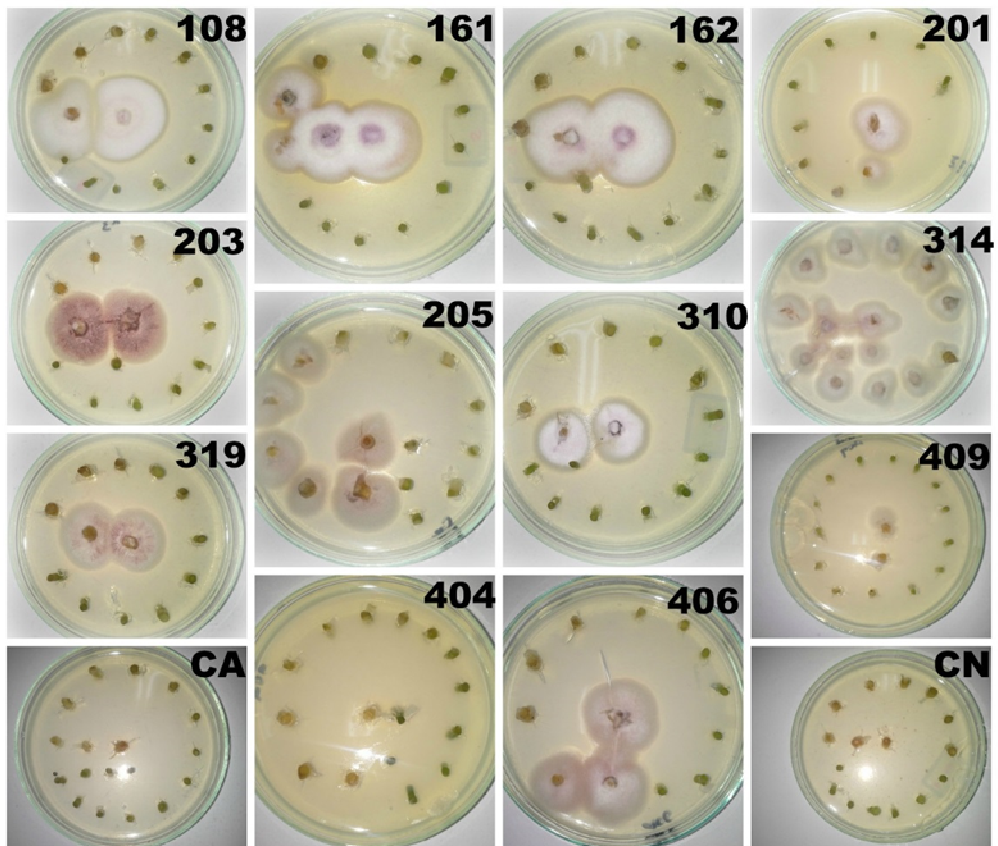
Necrosis



Raíz y Tallo

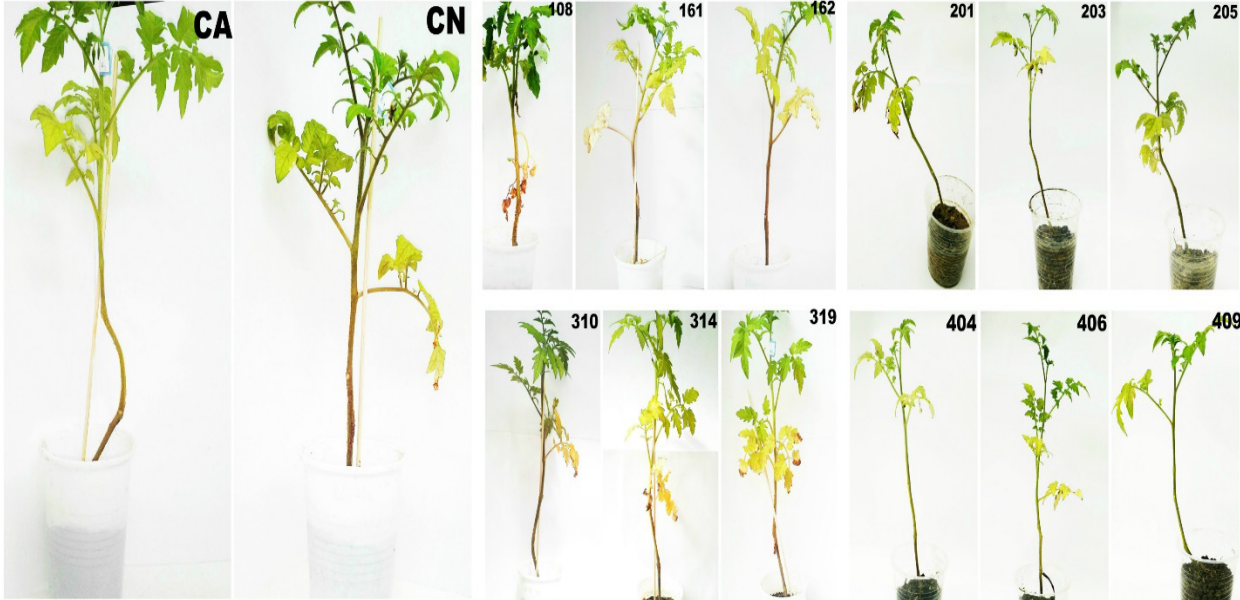


Avance Patógeno

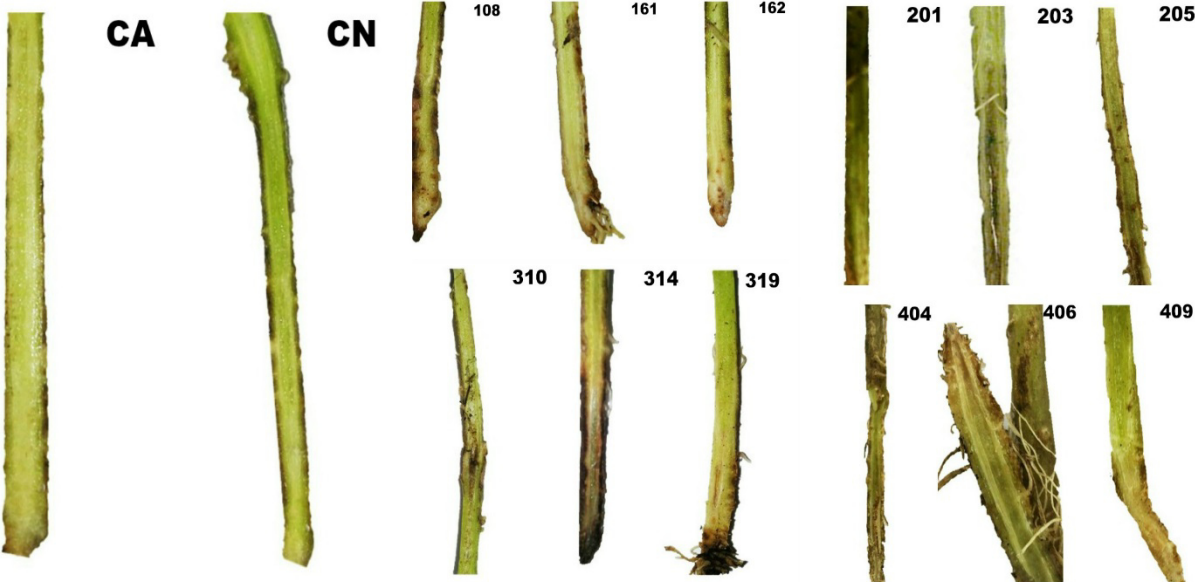


10.2. Registro fotográfico Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).

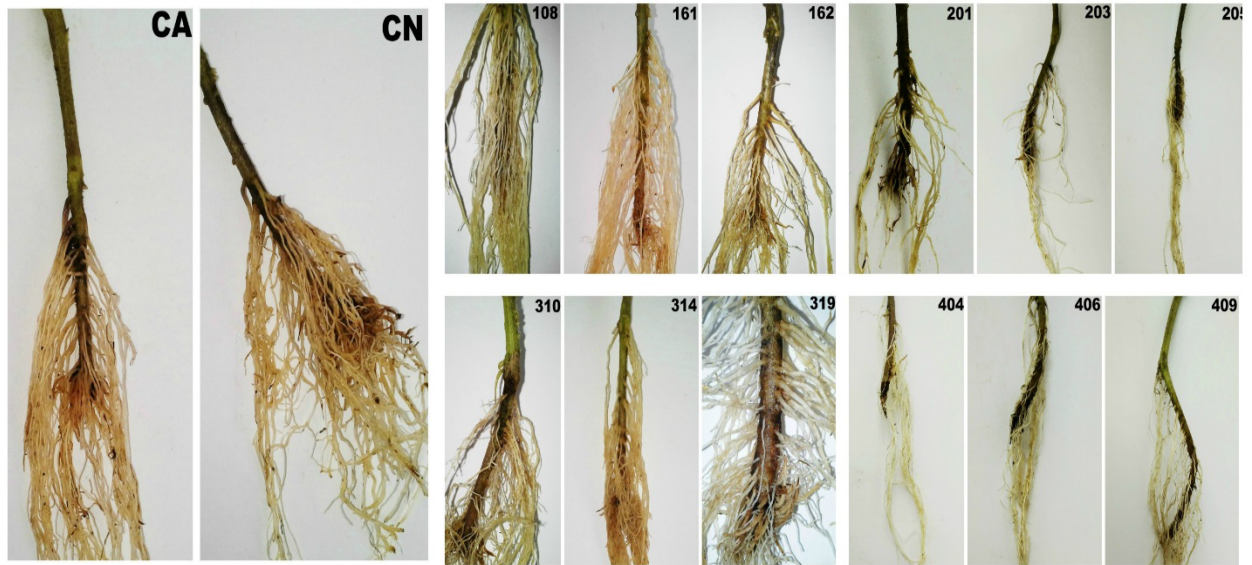
Plantas



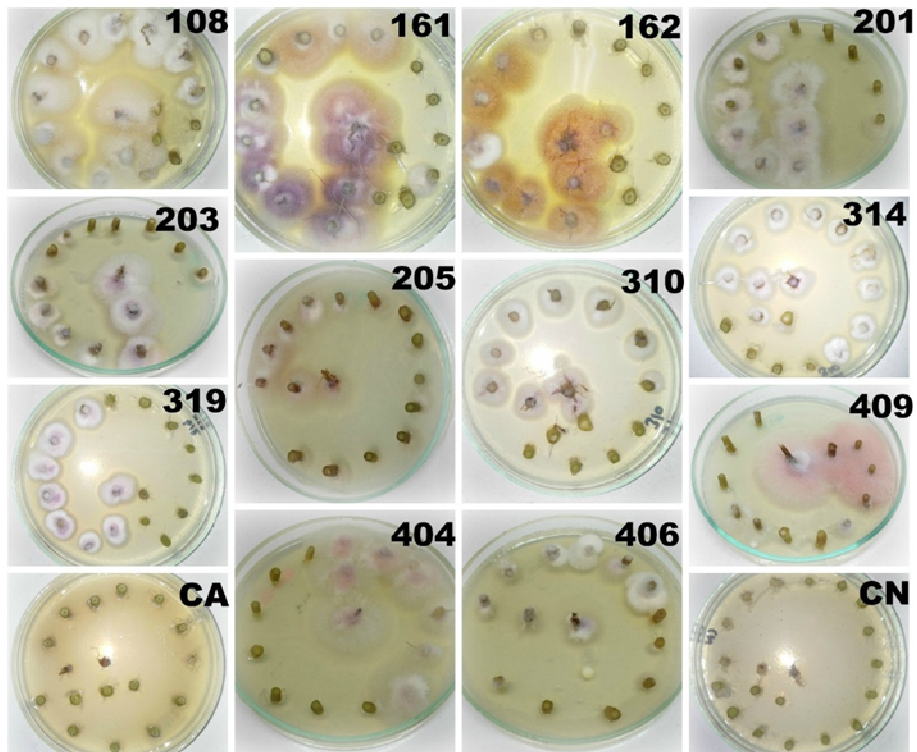
Necrosis



Raíz y tallo

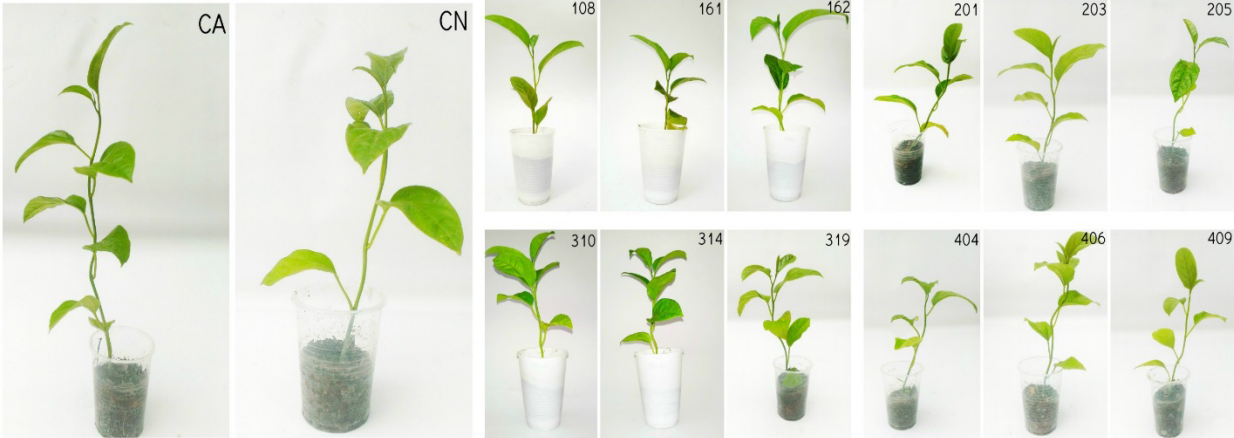


Avance Patógeno

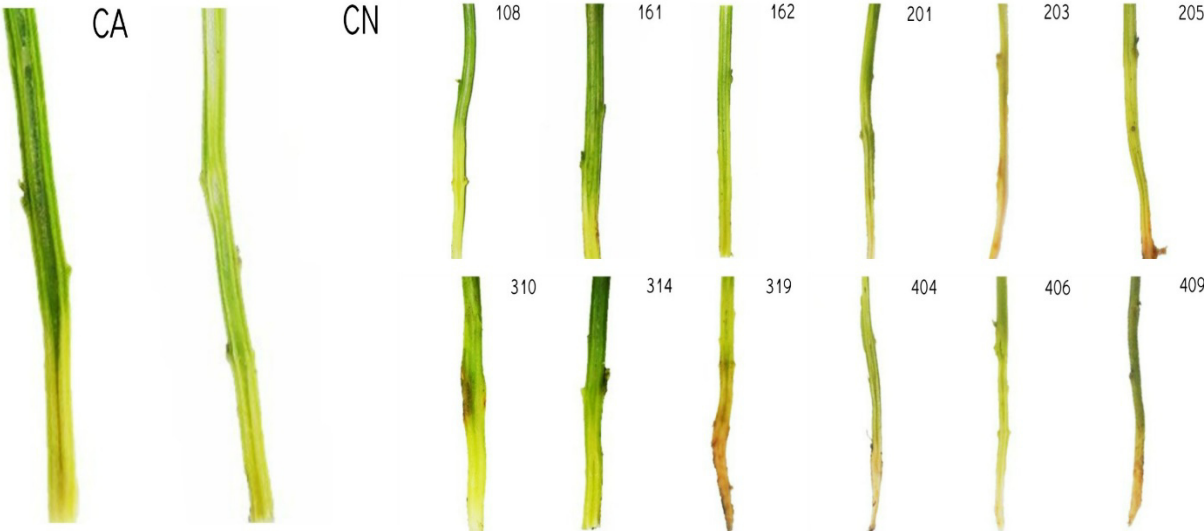


10.3. Registro fotográfico Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.)

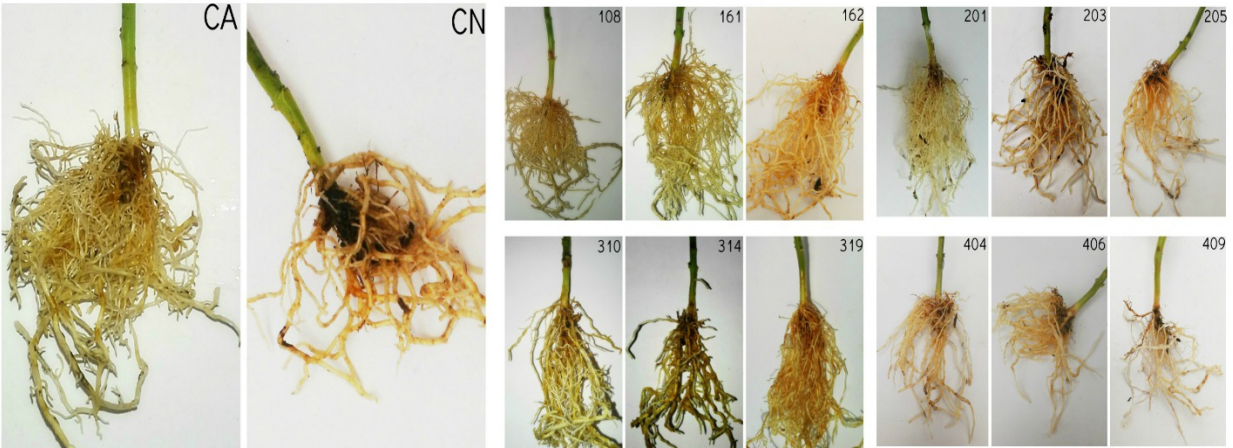
Plantas



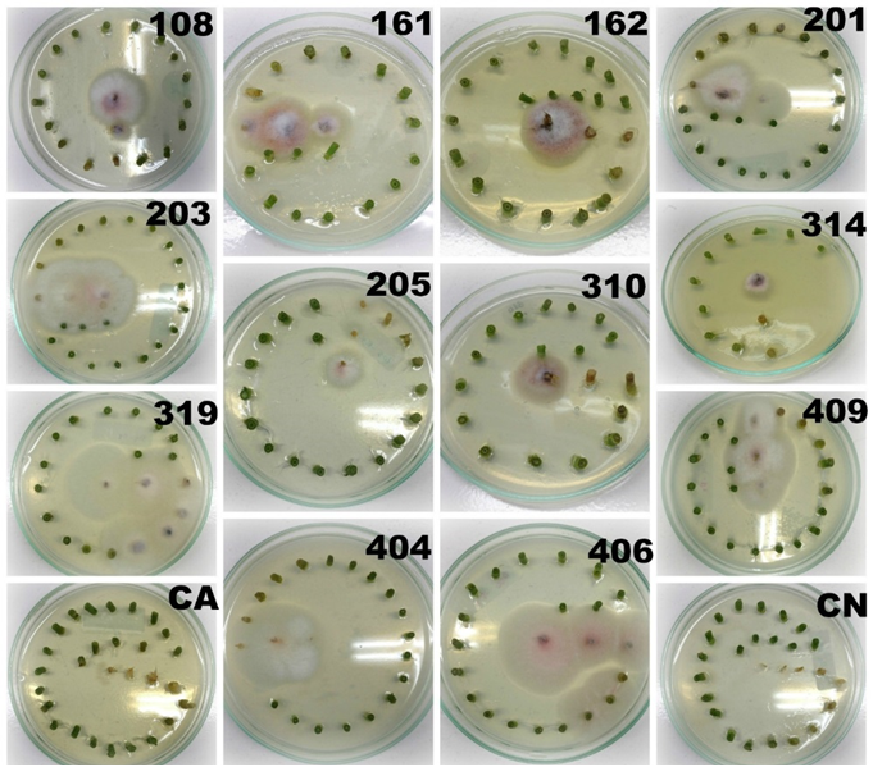
Necrosis



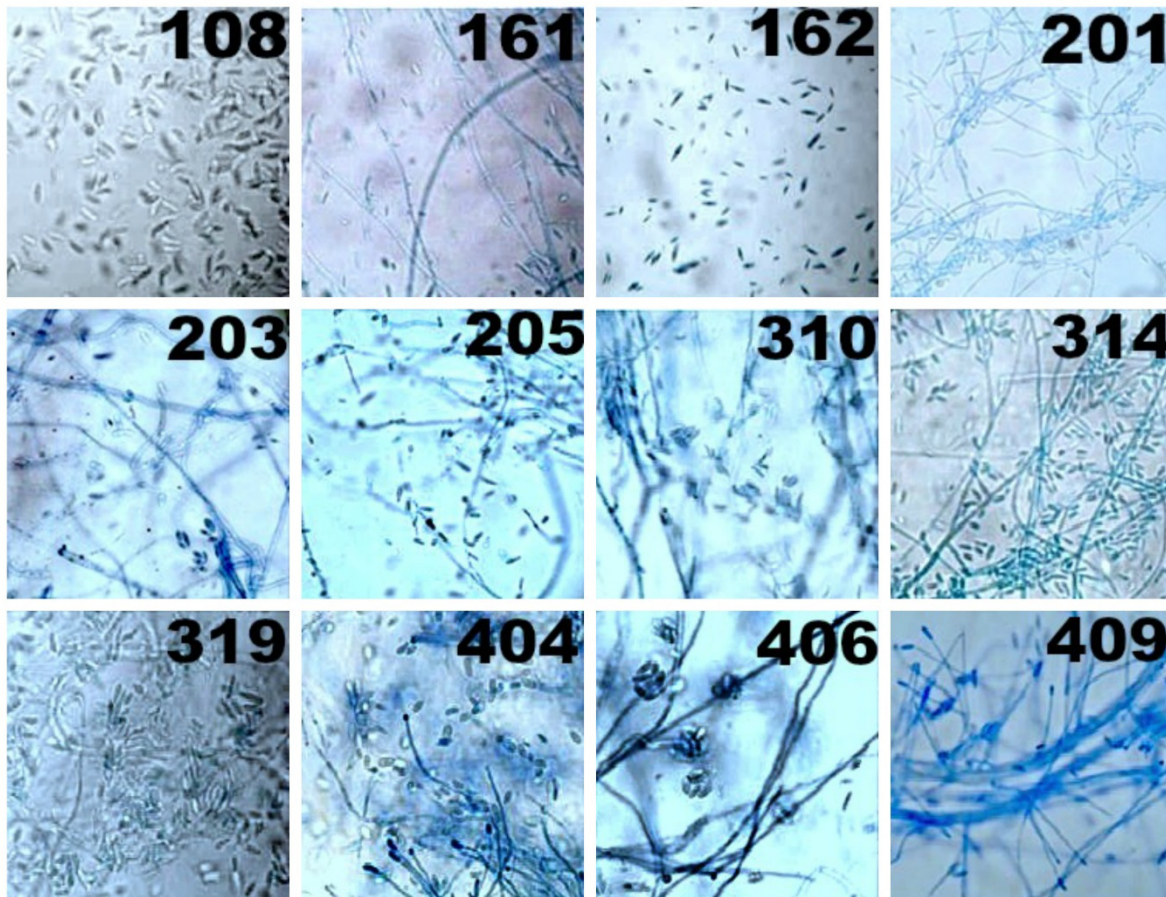
Raíz y tallo



Avance Patógeno



10.4. Registro fotográfico Microscopia



10.5. Análisis estadístico para los resultados obtenidos en clavel

Para el análisis estadístico realizado los aislamientos correspondientes a los tratamientos son: 1(CA), 2(CN), 3(108), 4(161), 5(162), 6(310), 7(314), 8(319), 9(201), 10(203), 11(205), 12(404), 13(406), 14(409).

- Longitud Tallo

**Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric
AOV for Longtallo by Tratamien**

Tratamien	Mean Rank	Sample Size			
1	284, 7	30	2	291, 5	30
			3	266, 1	30
			4	324, 5	30
			5	287, 1	30
			6	260, 6	30
			7	33, 4	30

8	278, 1	30
9	181, 4	30
10	154, 6	30
11	154, 9	30
12	202, 6	30
13	97, 2	30
14	130, 4	30
Total	210, 5	420

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0, 0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of Longtallo by Tratamiento

Tratamiento	Mean Rank	Homogeneous Groups
4	324, 47	A
2	291, 50	AB
5	287, 07	ABC
1	284, 70	ABC
8	278, 15	ABC
3	266, 10	ABC
6	260, 60	ABCD
12	202,63	BCDE
9	181,42	CDE
11	154,85	DE
10	154,58	DE
14	130,40	EF
13	97,183	EF
7	33,350	F

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 108, 29
There are 6 groups (A, B, etc.)

- *Longitud necrosis*

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for LongNecrosis by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Sample Size
1	92	15
2	92	15
3	92	15
4	92	15
5	92	15
6	92	15
7	199, 0	15
8201, 39	92, 0	15
9	92, 0	15
10	142, 9	15
11	92, 0	14
12	92, 0	14
13	92, 0	14
14	92, 0	14
Total	103, 5	206

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0, 0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of LongNecrosis by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Homogeneous Groups
7	199	A
10	142, 93	B
1	92,000	C
2	92,000	C
3	92,000	C
4	92,000	C
5	92,000	C
6	92,000	C
8	92,000	C
9	92,000	C
11	92,000	C
12	92,000	C
13	92,000	C
14	92,000	C

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455

Critical Value for Comparison 41,123
 TO 42,567
 There are 3 groups (A, B, etc.)

- *Manchas necróticas tallo*

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for Manchas necróticas tallo (MNT) by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Sample Size
1	57	30
2	57	30
3	169	30
4	190	30
5	197	30
6	225	30
7	267	30
8	183	30
9	267	30
10	267	30
11	267	30
12	267	30
13	267	30
14	267	30
Total	210, 5	420

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
 425, 59
 P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
 P-Value, Using Chi-Squared Approximation
 0, 0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of MNT by Tratamien

Tratamien Groups	Mean Rank	Homogeneous
7	267	A
9	267	A
10	267	A
11	267	A
12	267	A
13	267	A
14	267	A

6	225	AB
5	197	AB
4	190	AB
8	183	B
3	169, 00	B
1	57,000	C
2	57,000	C

Alpha 0, 05
 Critical Z Value 3,455
 Critical Value for Comparison 83,186
 There are 3 groups (A, B, etc.)

- *Avance Patógeno*

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for AvancePatógeno by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Sample Size
1	29, 5	15
2	29, 5	15
3	112, 1	14
4	102, 4	14
5	112, 2	15
6	140, 6	14
7	199, 3	15
8	120, 3	15
9	116, 2	15
10	118, 7	15
11	121, 5	15
12	39, 9	15
13	157, 8	15
14	58, 8	15
Total	104, 0	207

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of AvancePatógeno by Tratamien

Tratamien Groups	Mean Rank	Homogeneous
7	199, 27	A
13	157, 80	AB
6	140, 61	AB
11	121, 50	BC
8	120, 30	BC

10	18, 73	BC	2	29,500	E	
9	116, 23	BC				
5	112, 20	BCD	Alpha		0, 05	
3	112, 11	BCD	Critical Z Value		3,455	
4	102,43	BCDE	Critical Value for Comparison		73,483	
14	58,800	CDE	TO		76,062	
12	39,900	DE	There are 5 groups (A, B, etc)			
1	29,500	E				

10.6. Análisis estadístico para los resultados obtenidos en tomate

Para el análisis estadístico realizado los aislamientos correspondientes a los tratamientos son: 1(CA), 2(CN), 3(108), 4(161), 5(162), 6(310), 7(314), 8(319), 9(201), 10(203), 11(205), 12(404), 13(406), 14(409).

- Longitud de tallo

14	135, 0	30
Total	210, 5	420

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	7, 41	0, 0000
O'Brien's Test	7, 15	0, 0000
Brown and Forsythe Test	5, 32	0, 0000

P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of LTallo by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Homogeneous Groups
7	346, 83	A
8	335, 07	A
2	290, 32	A
4	286, 82	A
1	286, 67	A
5	281, 85	A
3	265, 32	A
10	147, 50	B
9	141, 30	B
14	134, 97	B
11	125, 40	B
13	107, 87	B
12	99, 167	B
6	97, 933	B

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for LTallo by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Sample Size
1	286, 7	30
2	290, 3	30
3	265, 3	30
4	286, 8	30
5	281, 9	30
6	97, 9	30
7	346, 8	30
8	335, 1	30
9	141, 3	30
10	147, 5	30
11	125, 4	30
12	99, 2	30
13	107, 9	30

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455
There are 2 groups (A and B)

- *Longitud necrosis*

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	6,29	0,0000
O'Brien's Test	5,83	0,0000
Brown and Forsythe Test	9,40	0,0000

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for LN by trat

Trat	Mean Rank	Sample Size
1	35, 0	15
2	35, 0	15
3	100, 1	15
4	89, 9	15
5	99, 4	15
6	152, 1	15
7	108, 9	15
8	143, 6	15
9	176, 4	15
10	176, 4	15
11	70, 5	15
12	129, 5	15
13	125, 2	15
14	35, 0	15
Total	105, 5	210

P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0, 0000

Dunn's all-Pairwise Comparisons Test of LN by trat

Trat	Mean Rank	Homogeneous Groups
9	176, 43	A
10	176, 43	A
6	152, 07	AB
8	143, 57	ABC
12	129, 53	ABC

13	125, 20	ABC
7	108, 87	ABCD
3	100, 07	BCD
5	99,400	BCD
4	89,933	BCD
11	70,500	CD
1	35,000	D
2	35,000	D
14	35,000	D

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 75,214
There are 4 groups (A, B, etc.)

- *Manchas Necróticas Raíz*

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	31, 21	0, 0000
O'Brien's Test	30, 12	0, 0000
Brown and Forsythe Test	16, 39	0, 0000

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for MNRaiz by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Sample Size
1	55	30
2	55	30
3	265	30
4	160	30
5	188	30
6	188	30
7	230	30
8	216	30
9	265	30
10	265	30
11	265	30
12	265	30
13	265	30
14	265	30
Total	210, 5	420

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
447, 94

P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
P-Value, Using Chi-Squared approximation
0, 0000

**Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of
MNRaiz by Tratamien**

Tratamien Groups	Mean Rank	Homogeneous
3	265	A
9	265	A
10	265	A
11	265	A
12	265	A
13	265	A
14	265	A
7	230	AB
8	216	AB
5	188	AB
6	188	AB
4	160	B
1	55,000	C
2	55,000	C

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 82,231
There are 3 groups (A, B, etc.)

- *Manchas necróticas tallo*

Homogeneity of Variances	F	P
Levene's Test	19, 63	0, 0000
O'Brien's Test	18, 95	0, 0000
Brown and Forsythe Test	10, 48	0, 0000

**Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric
AOV for MNTallo by Tratamien**

Tratamien	Mean Rank	Sample Size
1	203, 5	30
2	203, 5	30
3	203, 5	30

4	203, 5	30
5	203, 5	30
6	273, 5	30
7	203, 5	30
8	231, 5	30
9	203, 5	30
10	203, 5	30
11	203, 5	30
12	203, 5	30
13	203, 5	30
14	203, 5	30
Total	210, 5	420

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
1088, 95

P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
P-Value, Using Chi-Squared Approximation
0, 0000

**Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of
MNTallo by Tratamien**

Tratamien Groups	Mean Rank	Homogeneous
6	273, 50	A
8	231, 50	B
1	203, 50	B
2	203, 50	B
3	203, 50	B
4	203, 50	B
5	203, 50	B
7	203, 50	B
9	203, 50	B
10	203, 50	B
11	203, 50	B
12	203, 50	B
13	203, 50	B
14	203, 50	B

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 33,672
There are 2 groups (A and B)

- *Avance Patógeno*

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	5,05	0,0000
O'Brien's Test	4,68	0,0000
Brown and Forsythe Test	5,70	0,0000

P-Value, Using Beta Approximation 0,0000
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0,0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of APatogeno by Tratamien

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for APatogeno by Tratamien

Tratamien	Mean Rank	Sample Size
1	16,0	15
2	16,0	15
3	161,3	15
4	144,1	15
5	146,4	15
6	128,2	15
7	161,7	15
8	101,3	15
9	128,6	15
10	128,6	15
11	72,2	15
12	92,6	15
13	99,1	15
14	81,0	15
Total	105,5	210

Tratamien	Mean Rank	Homogeneous Groups
7	161,70	A
3	161,30	A
5	146,37	AB
4	144,07	AB
9	128,60	AB
10	128,60	AB
6	128,23	AB
8	101,30	AB
13	99,067	AB
12	92,600	AB
14	81,000	BC
11	72,167	BC
1	16,000	C
2	16,000	C

Alpha 0,05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 76,300
There are 3 groups (A, B, etc.)

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
119,99

10.7. Análisis estadístico para los resultados obtenidos en gulupa

Para el análisis estadístico realizado los aislamientos correspondientes a los tratamientos son: 1(CA), 2(CN), 3(108), 4(161), 5(162), 6(310), 7(314), 8(319), 9(201), 10(203), 11(205), 12(404), 13(406), 14(409).

- Longitud tallo

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	1,06	0,3884
O'Brien's Test		

1,03 0,4232
Brown and Forsythe Test
0,89 0,5692

One-Way AOV for LTallo by Tratam

Source	DF	SS	MS	F	P
--------	----	----	----	---	---

Tratam 13 1972, 4 151, 72 3, 47 0, 00

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of LTallo by Tratam

Tratam	Mean	Homogeneous Groups
1	21,947	A
8	20,883	AB
13	19,630	ABC
14	19,473	ABC
2	19,450	ABC
6	19,160	ABC
12	18,897	ABC
11	18,870	ABC
9	18,655	ABC
10	18,213	ABC
5	17,037	ABC
3	16,097	BC
4	14,260	C
7	14,177	C

4	99, 7	15
5	114, 0	15
6	107, 9	15
7	70, 7	15
8	119, 2	15
9	131, 1	15
10	128, 3	15
11	132, 3	15
12	158, 8	15
13	139, 5	15
14	140, 8	15
Total	105, 5	210

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
95, 18
P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0, 0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of LNecrosis by Tratam

Alpha 0, 05
Standard Error for Comparison 1, 7074
Critical Q Value 4,736
Critical Value for Comparison 5, 7178
There are 3 groups (A, B, etc.)

Tratam	Mean Rank	Homogeneous Groups
12	158, 80	A
14	140, 83	AB
13	139, 53	AB
11	132, 30	AB
9	131, 13	AB
10	128, 30	AB
8	119, 17	AB
5	114, 03	AB
6	107, 90	AB
4	99,700	ABC
3	76,567	BC
7	70,733	BC
1	29,000	C
2	29,000	C

- *Longitud Necrosis*

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	2, 51	0, 0034
O'Brien's Test	2, 32	0, 0068
Brown and Forsythe Test	3, 45	0, 0001

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 74,771
There are 3 groups (A, B, etc.)

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for LNecrosis by Tratam

Tratam	Mean Rank	Sample Size
1	29, 0	15
2	29, 0	15
3	76, 6	15

- *Manchas necróticas raíz*

Homogeneity of Variances

	F	P			
Levene's Test			12	233, 50	AB
			14	226, 50	AB
O'Brien's Test	10, 89	0, 0000	13	219, 50	AB
			10	170, 50	BC
Brown and Forsythe Test	10, 51	0, 0000	9	107, 50	CD
			1	65,500	D
	9, 52	0, 0000	2	65,500	D

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for MNRaiz by Tratam

Tratam	Mean Rank	Sample Size
1	65, 5	30
2	65, 5	30
3	275, 5	30
4	275, 5	30
5	275, 5	30
6	275, 5	30
7	240, 5	30
8	275, 5	30
9	107, 5	30
10	170, 5	30
11	240, 5	30
12	233, 5	30
13	219, 5	30
14	226, 5	30
Total	210, 5	420

Kruskal-Wallis Statistic, corrected for ties
386, 55
P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000
P-Value, Using Chi-Squared Approximation
0, 0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of MNRaiz by Tratam

Tratam	Mean Rank	Homogeneous Groups
3	275, 50	A
4	275, 50	A
5	275, 50	A
6	275, 50	A
8	275, 50	A
7	240, 50	AB
11	240, 50	AB

Alpha 0, 05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 86,719
There are 4 groups (A, B, etc.)

- *Avance patógeno*

Homogeneity of Variances

	F	P
Levene's Test	5, 07	0, 0000

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for APatogeno by Tratam

Tratam	Mean Rank	Sample Size
1	51, 5	15
2	51, 5	15
3	90, 0	15
4	85, 3	15
5	79, 3	15
6	91, 2	15
7	104, 9	15
8	164, 2	15
9	164, 8	15
10	168, 6	15
11	106, 8	15
12	95, 6	15
13	108, 0	15
14	115, 4	15
Total	105, 5	210

P-Value, Using Beta Approximation 0, 0000

Dunn's All-Pairwise Comparisons Test of APatogeno by Tratam

Tratam	Mean Rank	Homogeneous Groups
--------	-----------	--------------------

10	168,60	A
9	164,83	AB
8	164,17	AB
14	115,37	ABC
13	107,97	ABC
11	106,77	ABC
7	104,90	ABC
12	95,600	BC
6	91,233	C
3	90,000	C

4	85,300	C
5	79,267	C
1	51,500	C
2	51,500	C

Alpha 0,05
Critical Z Value 3,455
Critical Value for Comparison 71,797
There are 3 groups (A, B, etc.)