

Aplicación de nosodes para el control de *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate (*solanum lycopersicum*)

Application of nosodes for the control of *fusarium oxysporum* in tomato plants (*solanum lycopersicum*)

Fernando Abasolo-Pacheco

(ORCID: 0000-0003-2268-7432), 1Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus “La María”, km 7 vía Quevedo-El Empalme. EC.120501. Quevedo, Ecuador.; fabasolo@uteq.edu.ec

Agner Josué Moya Macías

(ORCID: 0000-0003-0246-8232), 1Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus “La María”, km 7 vía Quevedo-El Empalme. EC.120501. Quevedo, Ecuador.; agner.moya2016@uteq.edu.ec

Mayra Vélez-Ruiz

(ORCID: 0000-0003-4407-2965), 1Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus “La María”, km 7 vía Quevedo-El Empalme. EC.120501. Quevedo, Ecuador.; victor.garcia2016@uteq.edu.ec

Ángel Cedeño Moreira

(ORCID: 0000-0002-6564-5569), 1Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus “La María”, km 7 vía Quevedo-El Empalme. EC.120501. Quevedo, Ecuador. ; mvelez@uteq.edu.ec

Resumen

Los nosodes son preparados homeopáticos a partir de compuestos biológicos que han demostrado efectos benéficos para el control de fitopatógenos. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de nosodes en plantas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporum* bajo condiciones controladas. Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3A×3B, siendo el factor A, el método de aplicación y el factor B las dinamizaciones. Se incluyeron nueve tratamientos y un grupo control, por triplicado. El nosode fue preparado a partir de una cepa del patógeno *F. oxysporum*. La aplicación del nosode se realizó de manera foliar, edáfica y por inyección, previo a la inoculación del patógeno en el estado vegetativo de plantas de tomate. El nosode se aplicó en dinamizaciones de 6C, 12C y 30C. Se determinaron variables morfométricas (peso y longitud), contenido de clorofila y porcentaje de severidad. El tratamiento con aplicación edáfica y dilución 6C redujo considerablemente los síntomas de la enfermedad a un 50%. También se incrementó la respuesta en todas las variables morfométricas como longitud y peso de la planta (130cm; 180gr), longitud y peso de raíz (30cm; 30gr) contenido de clorofila total (12.7 mg/g), en comparación con tratamiento control (longitud planta/raíz: 109 cm; 13 cm; peso planta/raíz: 140 gr; 15 gr; clorofila total: 4.7 mg/g). El nosode elaborado a partir de *F. oxysporum* optimizó las variables evaluadas en plantas de tomate, particularmente el porcentaje de severidad. La investigación contribuye a evidenciar el potencial benéfico de aplicación de la homeopatía en la agricultura.

Palabras clave: Homeopatía, agricultura, fitopatógenos, sustentable, reducción agroquímicos.

Abstract

Nosodes are homeopathic preparations from biological compounds that have shown beneficial effects for the control of phytopathogens. The objective of the work was to evaluate the effect of the application of nosodes in tomato plants infected with *Fusarium oxysporum* under controlled conditions. A completely randomized design with a 3A×3B factorial arrangement was applied, with factor A being the application method and factor B being the dynamizations. Nine treatments and a control group were included, in triplicate. The nosode was prepared from a strain of the pathogen *F. oxysporum*. The application of the nosode was carried out foliarly, edaphically and by injection, prior to the inoculation of the pathogen in the vegetative state of tomato plants. The nosode was applied in dynamizations of 6C, 12C and 30C. Morphometric variables (weight and length), chlorophyll content and percentage of severity were determined. The treatment with edaphic application and 6C dilution considerably reduced the symptoms of the disease by 50%. The response was also increased in all morphometric variables such as plant length and weight (130cm; 180gr), root length and weight (30cm; 30gr), total chlorophyll content (12.7 mg/g), compared to control treatment (plant/root length: 109 cm; 13 cm; plant/root weight: 140 gr; 15 gr; total chlorophyll 4.6 mg/g). The nosode made from *F. oxysporum* optimized the variables evaluated in tomato plants, particularly the percentage of severity. The research contributes to show the beneficial potential of applying homeopathy in agriculture.

Key words: Homeopathy, agriculture, phytopathogens, sustainable, agrochemical reduction.

Introducción

El tomate es una planta nativa de la planicie costera occidental de América del Sur. Fue introducido por primera vez en Europa a mediados del siglo XVI; a principios del siglo XIX se comenzó a cultivar comercialmente, se inició su industrialización y la diferenciación de la variedad para mesa y para industria (Pérez et al., 2015). Es una fruta de la familia de las Solanaceae; originario de América del Sur, es de porte arbustivo y se cultiva de forma anual. En Ecuador hay 3,333 hectáreas de tomate obteniendo una producción de 61, 426 toneladas al año.

Aunque ya se tiene establecida la metodología para el cultivo de tomate, la especie presenta alta susceptibilidad a la incidencia de factores estresantes bióticos y abióticos, los cuales limitan su producción. El cultivo de tomate es atacado por numerosas enfermedades, entre las cuales, está la marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (Vásquez y Castaño, 2017). Según Srinivas et al., (2019) penetra en la planta, colonizando y

dejando el tejido vascular de color marrón oscuro, y esta decoloración se extiende hasta el ápice, lo que hace que las plantas se marchiten, colapsen y mueran.

Aunque actualmente se dispone de una amplia gama de plaguicidas químicos para controlar las enfermedades de las plantas, la aplicación continua de plaguicidas no solo afecta el contenido nutricional del tomate sino también la textura o la productividad del suelo (Vásquez y Castaño, 2017; Kumar et al., 2017), su uso repetido ha dado lugar a problemas como contaminación ambiental, desarrollo de resistencia por fitopatógenos y toxicidad residual (Yoon et al., 2013).

Los nosodes son compuestos biológicos altamente diluidos (CBADs) preparados a partir de productos enfermos de origen biológico, bajo el principio de la homeopatía. La medicina homeopática, en la cual se pueden incluir los CBADs, es un sistema clínico-farmacéutico basado en el principio de los similares y las dosis mínimas (Bellavite y Signorini, 2002) que implica una amplificación endógena del principio activo que involucra el efecto de hormesis (Bell et al., 2013). Para la formulación de los medicamentos homeopáticos se utilizan preferentemente sustancias altamente diluidas y dinamizadas (mediante agitación energética o “sucusión”), derivadas de plantas, minerales o animales que pueden suministrarse de manera profiláctica y/o terapéutica, cuyo propósito es estimular una respuesta natural del individuo tratado. Las sustancias homeopáticas no generan residuos en el agua tratada (son eco-amigables) y no incrementan la resistencia de los patógenos, debido a que no se enfocan a matar al patógeno sino a fortalecer al hospedero (Bellavite y Signorini, 2002). Estos medicamentos son relativamente económicos y fáciles de elaborar en relación a los tratamientos quimioterápicos tradicionales.

La aplicación de nosodes en el sector agropecuario está considerado como un gran potencial para mejorar la productividad y el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo, activando el sistema inmunológico de las especies; tal como lo menciona Mazón et al., (2019a). Así mismo, Giesel et al., (2012) indica que el uso de nosodes elaborados a base de hormigas demostraron un efecto positivo en la reducción significativa de la actividad y daños causados por *Acromyrmex* spp, provocando severos daños en el cultivo de la yuca, principalmente en la etapa de establecimiento de la plantación.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de un nosode elaborado a partir de *F. oxysporum* sobre variables morfológicas, contenido de clorofila total y porcentaje de severidad de plantas de tomate, bajo condiciones controladas.

Materiales y Métodos

El experimento se realizó en el laboratorio de microbiología de la Finca Experimental “La María” y los bioensayos de aplicación in situ se realizaron, con todas las medidas de bioseguridad, en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo localizada en el Km 7 de la vía Quevedo - Mocache con coordenadas: 79° 29' longitud este y 01° 06' de latitud sur, altitud 75 msnm., con una zona

climática tropical húmeda, con temperatura media anual de 25.3°C, precipitación media anual de 2256.4 mm; humedad relativa 82% y 840.9 horas luz por año.

Elaboración del nosode

Se aplicó la metodología descrita por Mazón et al., (2019c), con modificaciones. Brevemente, se colocó 1g de biomasa de *F.oxysporum* en un tubo eppendorf con 1ml de etanol. Enseguida, la biomasa húmeda fue macerada y homogeneizada utilizando un disruptor celular. Posteriormente la muestra fue sometida a cuatro ciclos de choque térmico (80°C; -20°C) a fin de romper la pared celular y liberar los principios activos de la cepa. El producto inactivado resultante fue llevado a un volumen de un litro utilizando etanol 87% y se agitó durante dos minutos a 3200 rpm en equipo vortex. El resultado final de este proceso fue la obtención de un concentrado inicial o tintura madre (TM), a partir del cual se aplicó la técnica homeopática de dilución serial y agitación o sucusión (Dinamización homeopática). A partir del concentrado (TM) se realizaron las dinamizaciones centesimales, (1:100) correspondientes, de acuerdo a lo establecido por los principios homeopáticos (Bellavite y Signorini 2002). A partir de esto se obtienen las diluciones centesimales de trabajo 6C (1x10⁻¹²), 12C(1x10⁻²⁴) y 30C (1x10⁻⁶⁰), utilizando agua destilada para minimizar potenciales efectos nocivos del etanol (López-Carvallo et al., 2019, 2020).

Manejo del experimento

Se utilizaron semillas certificadas de tomate variedad Floradade provenientes de la empresa Agripac para la elaboración de semilleros para los diferentes tratamientos. Se utilizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial de 3A x 3B. En donde el factor A son los métodos de inoculación del nosode (foliar, edáfico e inyección intravascular) y el factor B, las diluciones centesimales (6C, 12C y 30C), teniendo en total nueve tratamientos y un tratamiento control, por triplicado (30 plantas por tratamiento, 10 por replica). En donde T1: Aplicación foliar-6C, T2: Aplicación foliar-12C, T3: Aplicación foliar-30C, T4: Aplicación edáfica-6C, T5: Aplicación edáfica-12C, T6: Aplicación edáfica-30C, T7: Aplicación por inyección-6C, T8: Aplicación por inyección-12C, T9: Aplicación por inyección-30C y CTRL: Sin tratamiento/Sin patógeno. En todos los tratamientos se inoculó previamente el patógeno (excepto en el grupo control). Adicionalmente fue incluido un tratamiento control sin tratamiento y con patógeno, con la finalidad de verificar la patogenicidad del hongo y el avance de la enfermedad Turpo, Aguaded, Barros (2022).

Se implementaron semilleros en bandejas germinadoras para el adecuado crecimiento del cultivo de tomate, posteriormente se procedió al trasplante de plantas a macetas plásticas de aproximadamente 1kg, mismas que contenían la mezcla del sustrato a base de turba rubia con la tierra compost. En cada maceta se colocó una planta con el fin de asegurar el éxito del trasplante y evitar las interacciones que influyan en los resultados. Una vez trasplantadas, se inició con la aplicación del riego por regadera manteniendo la humedad del suelo; posteriormente se procedió con las pruebas de susceptibilidad al patógeno y la estandarización de las técnicas para cumplir con los objetivos planteados. Adicionalmente se empleó el tutoreo de las plantas de tomate con la finalidad de evaluar las características agronómicas del tomate.

La fertilización se hizo con NPK 8-20-20. Las pruebas del desarrollo vegetativo se realizaron durante 4 semanas.

Inoculación del patógeno y aplicación de tratamientos

La plantas de tomate (cuatro semanas después de la siembra) fueron inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (cultivo de seis días en medio PDA a 28 °C), usando el método de herida y goteo descrito por Than et al., (2008). Brevemente, se hizo un corte longitudinal en la hipocótilo a dos cm del suelo. Después se aplicó el patógeno en el segmento cortado y se cubrió con algodón húmedo. La colonización del hongo se verificó semanalmente para evidenciar el avance de la enfermedad (Van der Does et al., 2019).

Para la aplicación semanal de los tratamientos, se evaluaron tres métodos: (1) Edáfica: se aplicó 20 mL de cada concentración del nosode en el sustrato, cerca de la raíz de cada planta; (2) Foliar: se asperjaron 20 mL del nosode, por medio de un atomizador, en toda la parte aérea de cada planta; (3) Inyección: mediante una jeringa de insulina se aplicaron vía intravascular 10 mL de cada tratamiento en cada una de las plantas.

Para evidenciar el efecto de los tratamientos, a los 30 días posteriores a la aplicación del patógeno se evaluaron las variables morfológicas. La altura de la planta y longitud de raíz, se midieron con una cinta métrica, los datos fueron expresados en centímetros (cm), el peso fresco parte aérea y peso fresco raíz (se pesaron usando una balanza electrónica digital, y el peso se expresó en gramos (gr). Para obtener la biomasa seca, se colocó el material fresco por separado, la parte aérea (hojas y tallo) y la raíz, en bolsas de papel y se introdujo en una estufa de secado a 60°C durante 72 horas para su deshidratación. El peso seco raíz y peso seco parte aérea se expresaron en gramos. También se determinó el número total de flores por planta y el diámetro del tallo, expresado en cm. Asimismo, se determinó la clorofila total y el porcentaje de severidad. La determinación de clorofila se realizó siguiendo la metodología descrita por Mazón-Suástegui et al, 2020, tomando muestras en hojas frescas y totalmente expandidas, previamente limpiadas con agua desionizada para remover cualquier contaminación ambiental en su superficie. Para la extracción de pigmentos fotosintéticos, se tomó 1 g de material fresco por muestra, el cual se trituró en mortero con acetona al 90%, dejando reposar posteriormente en la oscuridad por 72 h, antes de medir la absorbancia a 663 y 645 nm de longitud de onda, con un espectrofotómetro con UV/Vis spectrophotometer (UNICO SKU: S-1205, USA).

Finalmente, el porcentaje de severidad se estimó de acuerdo a lo propuesto por Sánchez et al., (2019), con modificaciones. Brevemente, se utilizó una escala descriptiva arbitraria sobre cada uno de los tratamientos, donde se visualizaron los síntomas externos de la planta como amarillamiento y puntas quemadas (las hojas bajas presentan un color poco inusual (Amarillas) a las hojas medias y altas, con puntas quemadas de color Marrón), flores secas y necrosas (las flores usualmente proceden a presentar una lana blanca cuando están secas y sobre todo se tornan de un color necroso, se caen fácilmente, presentando la presencia del *Fusarium oxysporum* en ella), tallo seco (el tallo prácticamente se suele secar. Comienza desde la base del tallo hasta llegar al meristema apical) y marchitamiento total de la planta (la planta comienza a marchitarse desde las hojas bajas hasta el meristema apical. Causando la muerte

total de la planta). Dando valor a cada una de estos síntomas como: Sana (0% a 25%), Leve (25% a 50%), Moderado (50% a 75%) y Severo (75% a 100%).

Análisis estadísticos

Todas las variables morfométricas evaluadas y contenido de clorofila se sometieron a un ADEVA, previamente se realizaron pruebas de homocedasticidad y normalidad. Para identificar las diferencias entre tratamientos los datos fueron sometidos a una prueba de comparaciones múltiples de Tukey al 95% de confianza. Se utilizó el software estadístico SPSS Ver.22 (IBM, Armonk, NY 2013).

Resultados

Altura de planta

Se evidencia que los tratamientos presentaron diferencias estadísticas en la altura de planta a los 30 días después de la aplicación, la mayor altura fue obtenida por aplicación edáfica a 6C (T4) con 130 cm de altura, sin diferir de los demás tratamientos que presentaron medias de entre 127 y 114 cm. Todos los tratamientos superaron significativamente al testigo que mostró el menor promedio de la longitud de la planta, obteniendo una media de 109 cm (Figura 1).

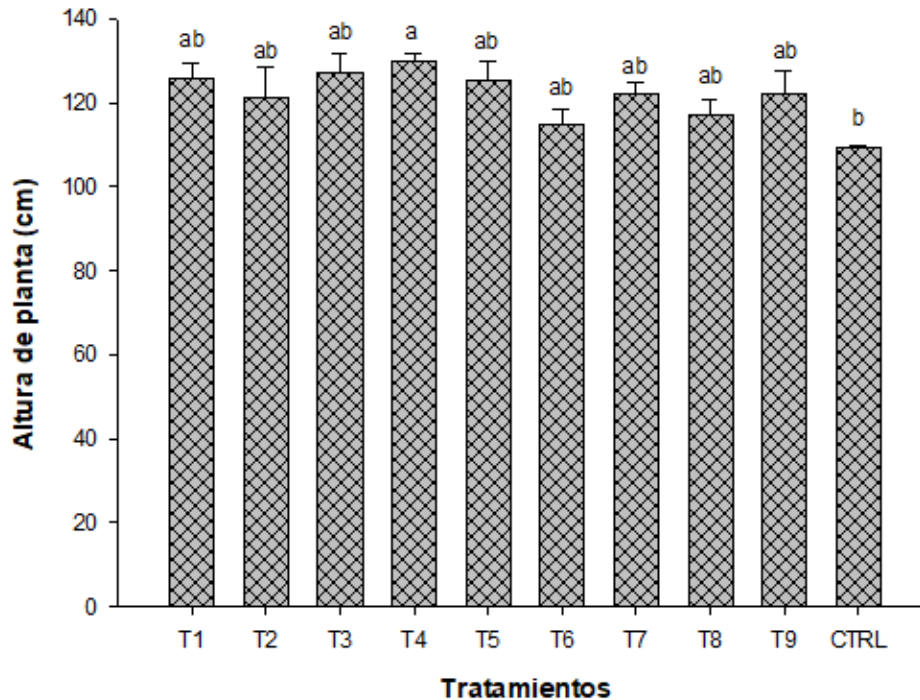


Figura 1. Efecto de los tratamientos T1 (foliar 6C), T2 (foliar 12C), T3 (foliar 30C), T4 (edáfico 6C), T5 (edáfico 12C), T6 (edáfico 30C), T7 (inyección 6C), T8 (inyección 12C), T9 (inyección 30C) y CTRL (sin tratamiento), en la altura de planta (cm). Las barras expresan la media y las líneas verticales sobre la media la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Diámetro del tallo

En la figura 2, se muestra significancia estadística en la variable del diámetro del tallo, evidenciando que el T1 presentó un diámetro superior a los demás con 0.36 cm, seguido del T6 que demostró un promedio de 0.32 cm., sobrepasando al testigo que presentó un valor de grosor de tallo de 0.20 cm.

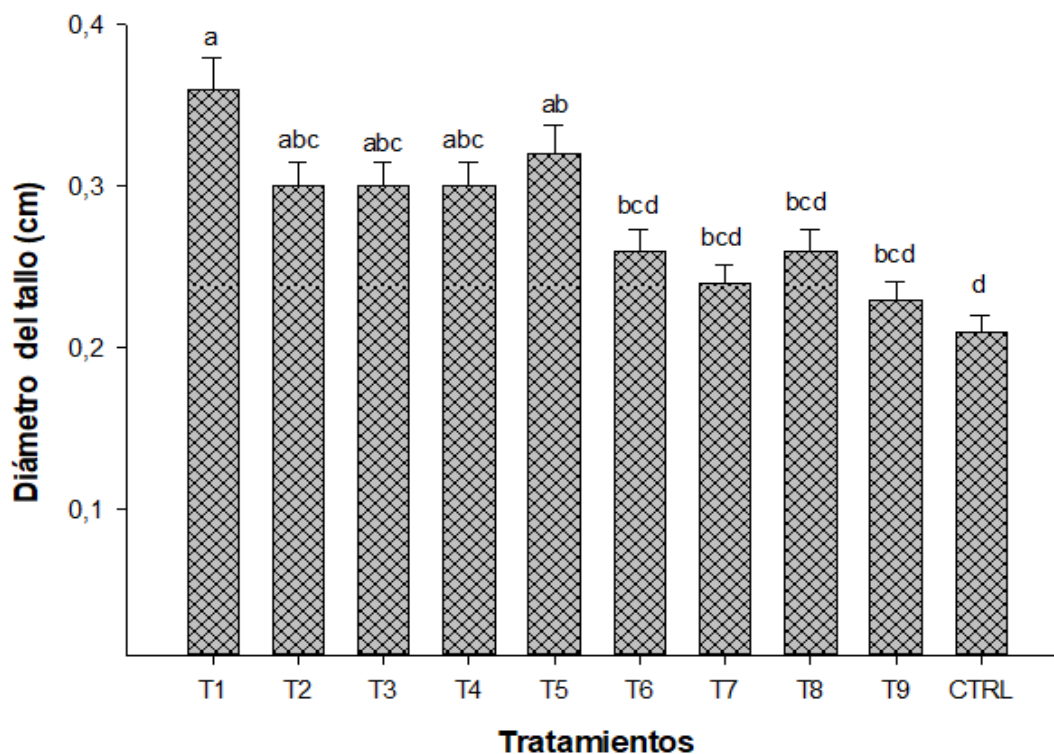


Figura 2. Efecto de los tratamientos T1 (foliar 6C), T2 (foliar 12C), T3 (foliar 30C), T4 (edáfico 6C), T5 (edáfico 12C), T6 (edáfico 30C), T7 (inyección 6C), T8 (inyección 12C), T9 (inyección 30C) y CTRL (sin tratamiento), en el grosor del tallo (cm). Las barras expresan la media y las líneas verticales sobre la media la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Numero de flores

Para la variable número de flores estas no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados en la investigación. Sin embargo, el T1 demostró obtener mayor número de flores en relación con el control (Figura 3).

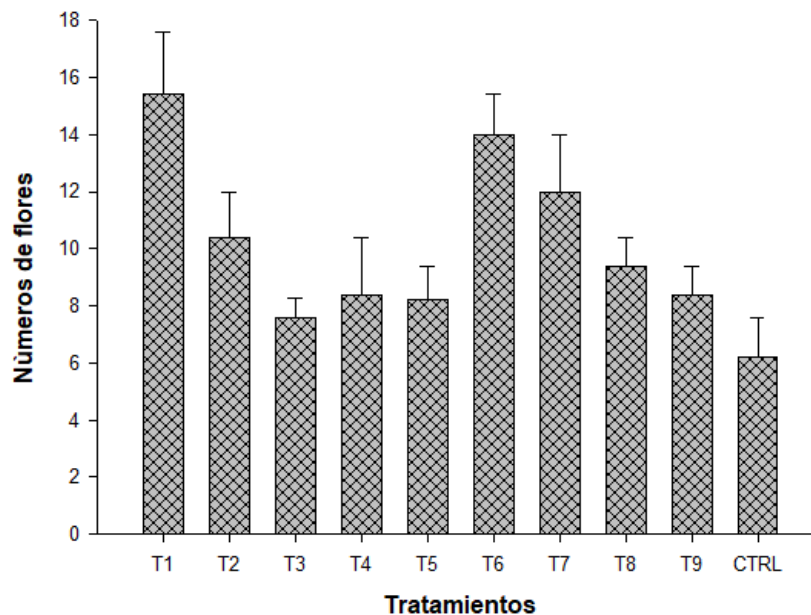


Figura 3. Efecto de los tratamientos T1 (foliar 6C), T2 (foliar 12C), T3 (foliar 30C), T4 (edáfico 6C), T5 (edáfico 12C), T6 (edáfico 30C), T7 (inyección 6C), T8 (inyección 12C), T9 (inyección 30C) y CTRL (sin tratamiento), en números de flores (unidad). Las barras expresan la media y las líneas verticales sobre la media la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Longitud de raíz

Respecto a la longitud radicular se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos planteados (Figura 4). Los tratamientos T4 y T5 presentaron una media de 30-34 cm, superior al promedio de longitud del control que mostro un valor de 13.60 cm.

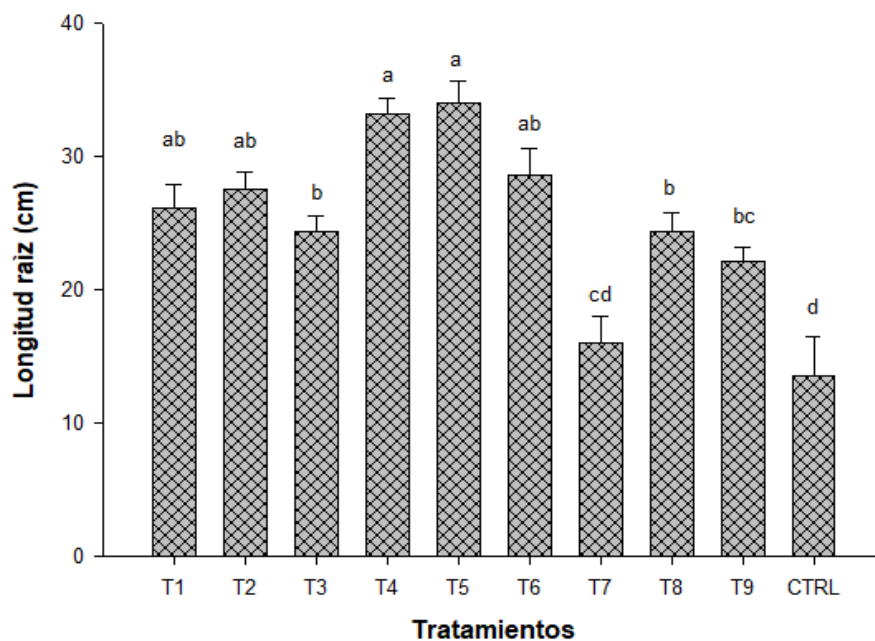


Figura 4. Efecto de los tratamientos T1 (foliar 6C), T2 (foliar 12C), T3 (foliar 30C), T4 (edáfico 6C), T5 (edáfico 12C), T6 (edáfico 30C), T7 (inyección 6C), T8 (inyección 12C), T9 (inyección 30C) y CTRL (sin tratamiento), en longitud de raíz (cm). Las barras expresan la media y las líneas verticales sobre la media la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Peso fresco y seco de la parte aérea

Se muestra significancia estadística en la aplicación de los tratamientos. El T4 alcanzó un mayor contenido de biomasa fresca alcanzando con 180 gramos, los tratamientos adicionales mostraron de entre 160 y 145 gramos. Superando al testigo que demostró obtener la media más baja en peso con 140 gramos. Asimismo, se encontraron diferencia significativa entre los tratamientos estudiados, el T4 logró obtener el mayor promedio de biomasa de hojas y tallos secos con 27 gramos, así también los demás tratamientos superaron a control el cual obtuvo el peso más bajo de biomasa con 14 gramos (Tabla 1).

Peso fresco y seco de la raíz

Se registró diferencia estadística entre los tratamientos. El T4 presentó el mayor promedio de peso fresco radicular con 30 gramos, en comparación con los demás tratamientos cuyos valores estuvieron entre 17 gr y 27 gramos, incluyendo al grupo control. De la misma forma, se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El T4 demostró ser estadísticamente superior a los demás tratamientos, presentando el mayor contenido del peso seco radicular de 8.20 gramos, siendo superior al T1 y al grupo control que presentó una media de 6.5 gramos (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de los tratamientos en peso fresco y seco de la parte aérea y raíz (gramos). Los datos representan la media \pm la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

TRATAMIENTOS	PESO FRESCO PARTE AÉREA	PESO SECO PARTE AÉREA	PESO FRESCO RAÍZ	PESO SECO RAÍZ
T1	151 \pm 12ab	20.6 \pm 1a	20.7 \pm 3.2ab	6.8 \pm 0.7ab
T2	176 \pm 9ab	21.2 \pm 1.4a	28 \pm 2.8ab	5.5 \pm 0.5ab
T3	165 \pm 14ab	21.6 \pm 1.3a	19 \pm 2.1ab	5.5 \pm 0.5ab
T4	185 \pm 4a	26 \pm 2.6a	30 \pm 3.9a	8.3 \pm 0.8a
T5	170 \pm 8.2ab	22.4 \pm 0.8a	23 \pm 5.7ab	6.2 \pm 0.8ab
T6	144 \pm 9.5ab	21.2 \pm 1a	22 \pm 4.2ab	6 \pm 0.7ab
T7	155 \pm 5.5ab	23 \pm 2.3a	20 \pm 1.7ab	4.3 \pm 0.4ab
T8	141 \pm 9.7ab	20.6 \pm 1.7a	16 \pm 1.4b	3.6 \pm 0.5b
T9	140 \pm 3.7b	21.2 \pm 3a	18 \pm 3.2ab	5.4 \pm 0.6ab
Ctrl	132 \pm 5b	13 \pm 0.9b	15 \pm 2.4b	3.6 \pm 0.5b

Clorofila total

Se encontró diferencia significativa en cuanto al contenido de clorofila total entre de los tratamientos. La aplicación edáfica 12c (T5) presentó el mayor contenido de clorofila con 12.7 mg/g, siendo superiores al testigo que presentó el menor promedio obteniendo un valor de contenido de clorofila de 4.6 mg/g (Figura 5).

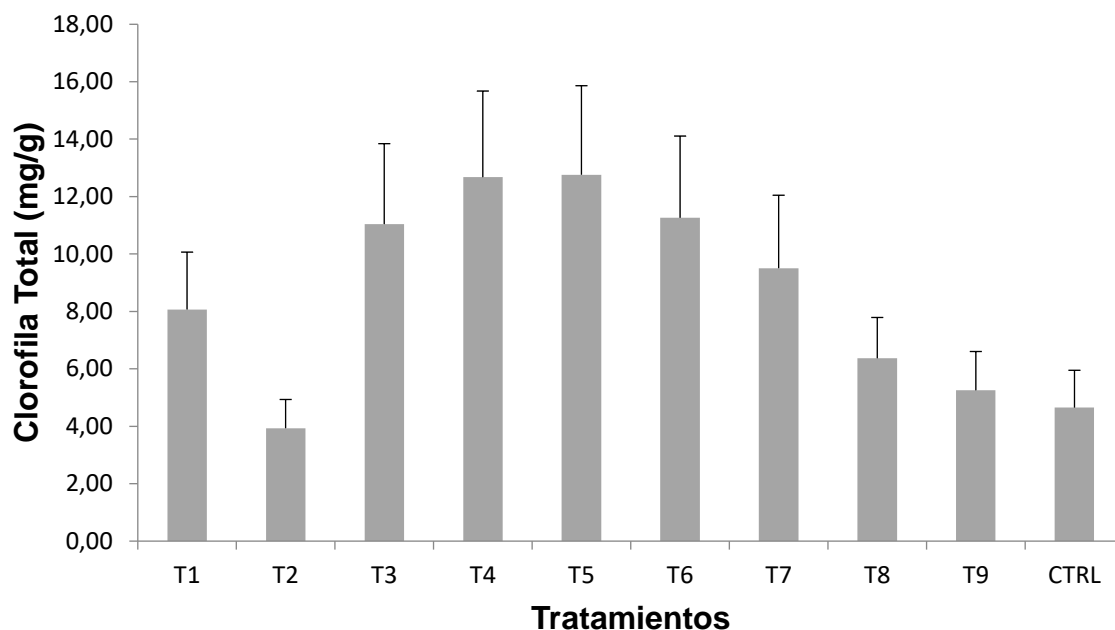


Figura 5. Efecto de los tratamientos, Barras negras es clorofila A y barras gris clorofila b. T1 (foliar 6c), T2 (foliar 12c), T3 (foliar 30c), T4 (edáfico 6c), T5 (edáfico 12c), T6 (edáfico 30c), T7 (inyección 6c), T8 (inyección 12c), T9 (inyección 30c) y CTRL (sin nosode), en clorofila total (mg/g). Las barras expresan la media y las líneas verticales sobre la media la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Porcentaje de severidad

Se vio afectada la disminución de la severidad del patógeno *F. oxysporum* mediante la inoculación el T4 (edáfico 6C) proporcionó mayor eficacia con rangos que van de 48 a 22% respectivamente en la evaluación de amarillamiento y puntas quemadas de las hojas, flores secas y necróticas, tallo seco y marchitamiento, seguido del T5 (edáfico 12C) que mostró rangos de disminución del 26 a 50% en comparación al control que mostro valores del 28% a 40% (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de los tratamientos en el porcentaje de severidad de *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate, bajo condiciones controladas.



**TRATAMIENTO 1
FOLIAR 6C**
38%



**TRATAMIENTO
1
FOLIAR 6C**
52%



**TRATAMIENTO 1
FOLIAR 6C**
52%



**TRATAMIENTO 1
FOLIAR 6C**
25%



**TRATAMIENTO 2
FOLIAR 12C**
42%



**TRATAMIENTO
2
FOLIAR 12C**
55%



**TRATAMIENTO 2
FOLIAR 12C**
55%



**TRATAMIENTO 2
FOLIAR 12C**
28%



**TRATAMIENTO 3
FOLIAR 30C**
44%



**TRATAMIENTO
3
FOLIAR 30C**
57%



**TRATAMIENTO 3
FOLIAR 30C**
57%



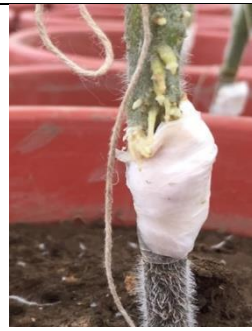
**TRATAMIENTO 3
FOLIAR 30C**
34%



**TRATAMIENTO 4
EDÁFICO 6C**
38%



**TRATAMIENTO
4
EDÁFICO 6C**
48%



**TRATAMIENTO 4
EDÁFICO 6C**
48%



**TRATAMIENTO 4
EDÁFICO 6C**
22%



**TRATAMIENTO 5
EDÁFICO 12C**
39%



**TRATAMIENTO
5
EDÁFICO 12C**
50%



**TRATAMIENTO 5
EDÁFICO 12C**
50%



**TRATAMIENTO 5
EDÁFICO 12C**
26%



**TRATAMIENTO 6
EDÁFICO 30C**
38%



**TRATAMIENTO
6
EDÁFICO 30C**
55%



**TRATAMIENTO 6
EDÁFICO 30C**
55%



**TRATAMIENTO 6
EDÁFICO 30C**
30%



**TRATAMIENTO 7
INYECCIÓN 6C**
39%



**TRATAMIENTO
7
INYECCIÓN 6C**
50%



**TRATAMIENTO 7
INYECCIÓN 6C**
50%



**TRATAMIENTO 7
INYECCIÓN 6C**
25%



**TRATAMIENTO 8
INYECCIÓN 12C**
42%



**TRATAMIENTO
8
INYECCIÓN 12C**
54%



**TRATAMIENTO 8
INYECCIÓN 12C**
54%



**TRATAMIENTO 8
INYECCIÓN 12C**
27%



**TRATAMIENTO 9
INYECCIÓN 30C**
44%



**TRATAMIENTO
9
INYECCIÓN 30C**
59%



**TRATAMIENTO 9
INYECCIÓN 30C**
57%



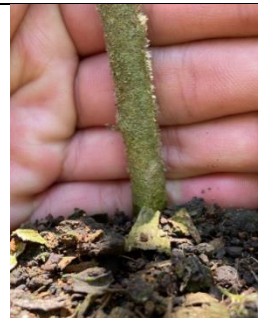
**TRATAMIENTO 9
INYECCIÓN 30C**
32%



**CONTROL
PLANTA SANA**
32%



**CONTROL
PLANTA SANA**
20%



**CONTROL
PLANTA SANA**
0%



**CONTROL
PLANTA SANA**
24%



**CONTROL
PLANTA +
*F. oxysporum***
100%



**CONTROL
PLANTA +
*F. oxysporum***
100%



**CONTROL
PLANTA +
*F. oxysporum***
100%



**CONTROL
PLANTA +
*F. oxysporum***
100%

Discusión

En el presente trabajo se identificó que el efecto de los tratamientos está determinado por los métodos de aplicación y las concentraciones del nosode, elaborado a partir de *F. oxysporum*. El efecto del nosode fue diferente para cada una de las variables evaluadas y de manera particular presentó un efecto de protección en plantas de tomate infectadas con una cepa patógena de *F. oxysporum*. En relación a esto, algunos autores mencionan que el efecto del nosode se da por un efecto de antagonismo, por ejemplo Larios et al., (2020) detalla haber realizado ensayos antagonistas in vitro de nosode con el patógeno *Botrytis cinérea* a una concentración de 7 C proporcionando una disminución del crecimiento micelial a 50% después de los 8 días, así mismo Rissato et al., (2016) realizó un nosode a partir de *Sclerotinia sclerotiorum* en concentraciones 0, 6, 12, 24, 36 y 48 centesimales, dando como resultado la inhibición completa de producción de esclerocios por inoculación de la dilución 24 C. Sin embargo, en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en las pruebas de antagonismo (in vitro) en el crecimiento del avance del micelio en los enfrentamientos de nosodes contra patógenos, entonces el efecto positivo no está relacionado con un antagonismo directo con el patógeno sino con la modulación de la resistencia de las plantas de tomate. Se cree que los nosodes obtenidos de tejidos o sustancias asociadas con la enfermedad del cultivo del agente patógeno modulan la resistencia del huésped, aliviando los síntomas o promoviendo la curación interactuando con el sistema de reconocimiento de patógenos de la planta e iniciar o modular la resistencia de la planta (Morales et al., 2021). Por otro lado, el nosode 6C con inoculación edáfica obtuvo la mejor respuesta en variables morfológicas, particularmente en el crecimiento de las plantas, evidenciando el buen estado de la misma. Resultados similares reportan Abasolo et al., (2020) utilizando sustancias minerales altamente diluidas, bajo el mismo fundamento de los nosodes. Los autores encontraron que el tratamiento Phosphoricum acidum 7CH mejoró la respuesta en el crecimiento de plantas de tomate. Mientras que en el crecimiento del diámetro del tallo se registró una mejor respuesta con la aplicación del nosode 6C con aplicación foliar. Respecto al peso fresco y seco de las plantas de tomate, la aplicación del nosode aplicado de manera edáfica 6C mostró mejor respuesta, al respecto, Felito et al., (2019 a,b) demostraron que en pepino las variables de porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación, peso fresco, peso seco, longitud de brote, longitud de raíz y grosor de tallo se vieron mejoradas con el uso de cinco dinámicas de *Nux vomica* (6C, 12C, 18C, 24C y 30C). Así mismo, se han reportado en diferentes trabajos los efectos positivos de diferentes sustancias minerales ultradiluidas sobre las variables morfológicas de distintas especies de plantas. Adicionalmente los mismos autores reportan un efecto interesante en cuanto a la neutralización parcial de residuos del herbicida 2,4-D + picloram en semillas de pepino. En cuanto a la cantidad de clorofila total en el tratamiento 6C con aplicación edáfica se presentó el mayor contenido de esta molécula. En relación a lo anterior, Mazón et al., (2020) reportan que en plantas de frijol tratadas con Manganum metallicum 31C (MnM-31CH) y Magnesium-manganum phosphoricum 31C (MaMnP-3CH) hubo un incremento superior al 40% en la clorofila total y en la fotosíntesis debido a las propiedades químicas que incluyen

el manganeso y también magnesio, que juega un papel importante en la formación de moléculas de clorofila y favorece la concentración del pigmento verde. Para el caso de nuestros tratamientos se puede inferir que el nosode mejora no solo variables morfométricas, también las fisiológicas, una mayor cantidad de clorofila, según Manrique (2003) la función primordial de la clorofila es la de absorber energía lumínica. La absorción, por tanto, depende en gran medida de la concentración de clorofila y de otros pigmentos accesorios llegar a contener hasta 1 g de clorofila por metro cuadrado, evidenciando un mejor proceso fotosintético y con esto un óptimo desarrollo de las plantas de tomate. Según Ileana et al., (2017) menciona que la aplicación de nosode en las plantas ejecuta un mecanismo de acción primordial que puede implicar cambios metabólicos que conducen a la formación de productos metabólicos secundarios relacionados con el mecanismo de defensa de las plantas. En este sentido, el nosode 6C inoculado de manera edáfica presentó el menor porcentaje de severidad del patógeno, esto se podría relacionar con lo reportado por Toledo et al., (2010) en donde reportaron la reducción de severidad de plantas de tomate infectadas con el patógeno *Alternaria solani* por aplicación foliar dos veces/día y 40 ml en el suelo dos veces/días de la preparación de nosode del mismo patógeno destacándose la dilución 28 C que redujo a un 16.20%. Esto indica que la disminución de la gravedad de la enfermedad se debió a una acción directa a la inducción de resistencia en el hospedador. Así mismo, Rodríguez et al., (2020) reporta una disminución de la infestación de la roya anaranjada en el cultivo mediante la mezcla de homeopáticos utilizando 0.03ml diluidas en un litro de nosode de roya *Hemileia vastatrix* disminuye a un 26.65% y además reduce 45.06% la defoliación a los 60 días con ocho aplicaciones semanales vía foliar con la ayuda de una mochila aspersora con 4 litros de agua. Nayak y Varanasi (2020) afirma que la acción de sustancias homeopáticas aplicadas al follaje de plantas para control de enfermedades fúngicas, sea por sustancias derivadas del organismo patógeno o de cualquier otro origen, disparan mecanismos de respuesta de la planta para su protección, evidenciado que con el proceso de dinamización y sucesión de sustancias se generan nanopartículas con mayor actividad biológica que con macromoléculas.

En una planta enferma los factores bióticos (plagas, enfermedades, lesiones físicas) se expresan como desequilibrios fisiológicos en su autorregulación, que conducen a reducir su productividad; sin embargo, cuando se aplica un nosode para producir los mismos síntomas en la planta, el resultado será la restauración o reducción al mínimo de los efectos adversos causados por tales factores y la respuesta de la planta se producirá a niveles bioquímicos o de energía (Bonato, 2007). Ha habido una explosión de interés en la señalización de plantas en los últimos años, con un fuerte énfasis en los volátiles emitido por las plantas en respuesta a ataque de herbívoros o infección con patógenos. Tales señales pueden inducir una respuesta de defensa en las plantas vecinas, no atacadas, lo que las hace desprovistas de algún atractivo para los herbívoros (Bruin, 2001). La acción de los nosodes se da de manera similar, funcionando como elicitores y favoreciendo la respuesta fisiológica de la planta ante el ataque de un patógeno.

Por todo lo anterior es importante y necesario, seguir realizando investigaciones con la finalidad de dilucidar los modos de acción de los nosodes y la respuesta en la planta a nivel fisiológico y molecular. Las evidencias presentadas en esta investigación confirman que los

nosodes tienen un efecto real y medible, más allá del simple efecto placebo atribuido por sus detractores a la medicina homeopática, porque la sugestión y el efecto placebo no existen en organismos vegetales (Mazón-Suástegui et al. 2018, 2019a,b,c).

Conclusiones

Se encontraron diferencias significativas entre los métodos de aplicación y las diluciones evaluadas. La aplicación edáfica mediante el nosode preparado a partir *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* en diluciones de 6C presentaron la mayor cantidad en variables morfométricas biomasa vegetal en altura, longitud de raíz, de peso fresco y seco de hoja-tallo y raíz, contenido de clorofila total en comparación al control. El método de aplicación edáfica del nosode en diluciones de 6C proporciono un efecto significativo en la resistencia de las plantas de tomate ejecutando una disminución considerable de la tasa de la severidad del patógeno a un 50% respectivamente en el amarillamiento y puntas quemadas, flores secas y necrosas, tallo seco y marchitamiento. La aplicación foliar mediante el nosode preparado a partir de *F. oxysporum* sp. *Lycopersici* en dilución 6C presento mayor grosor de tallo y numero de flores, tomando en cuenta que la aplicación edáfica también surgió efecto en altura y longitud de raíz.

References

- Abasolo, F., Bonilla, B., Mesa, E., y Mazón, J. (2020). Efecto de los medicamentos homeopáticos en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Terra Latinoamericana*, 38(1): 103-117.
- Bell, I. R., B. Sarter, M. Koithan, L. J. Standish, P. Banerji, P. Banerji. 2013. Nonlinear Response Amplification Mechanisms for Low Doses of Natural Product Nanomedicines: Dynamical Interactions with the Recipient Complex Adaptive System. *J. Nanomed. Nanotechol.* 4:179.
- Bellavite, P., A. Signorini. 2002. *Emerging Science Homeopathy: Complexity, Biodynamics and Nanopharmacology*. North Atlantic Books, USA. 365 pp.
- Bonato, C. (2007). Homeopatia em modelos vegetais. *Cultura homeopática*, 21:25-28.
- Bruin, J. (2001). Chemical information transfer between wounded and unwounded plants:

backing up the future. *Biochem Syst Ecol*, 29:1103-1113.

Felito, R., Gervazio, W., Carvalho, M., y Silva, I. (2019a). Homeopathy for Treating Contaminated Cucumber Seedlings With the Herbicide Residues. *Journal of Agricultural Science*, 11(11): 295-302.

Felito, R., Yamashita, O., Teixeira, A., y Roboredo, D. (2019b). Homeopathic Treatments and their Effect on the Initial Development of Cucumber Plants Grown in Cow Manure Contaminated by Auxinic Herbicide. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 13(3): 31-40.

Giesel, A., Carissimi, M., y Boff, P. (2012). El efecto de las preparaciones homeopáticas sobre el nivel de actividad de las hormigas cortadoras de hojas *Acromyrmex*. *Scientiarum. Agronomía*, 445-451.

IBM Corp. Released 2013. *IBM SPSS Statistics for Macintosh, Version 22.0*. Armonk, NY: IBM Corp.

Ileana, R., Roxana, C., y Florin, S. (2017). The homeopathic products used in plant protection: an alternative choice. *International Scientific Symposium horticulture, food and environment*.

Kumar, V., Kishore, A., y Kumar, A. (2017). Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. *Biotech*, 3: 1-10.

Larios, O., López, É., Rodríguez, A., y Serrato, M. (2020). In vitro evaluation of methods against *Botrytis cinerea*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*.

López-Carvallo, J. A., G. F. Arcos-Ortega, D. Tovar-Ramírez, M. A. Hernández-Oñate, F. Abasolo-Pacheco, J. L. García-Corona, J. M. Mazón-Suástegui. 2019. Effect of immunomodulatory medication over the general response of juvenile Catarina scallop (*Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842), *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 47(1):65-77.

López-Carvallo, J. A., J. M. Mazón-Suástegui, M. A. Hernández-Oñate, D. Tovar Ramírez, F. Abasolo-Pacheco, R. M. Morelos-Castro, G. F. Arcos-Ortega. 2020. Transcriptome analysis of Catarina scallop (*Argopecten ventricosus*) juveniles treated with highly-diluted immunomodulatory compounds reveals activation of non-self-recognition system, *PlosOne*. 15(5):e0233064.

Manrique, E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, 12(1):1-11.

Mazón, J., Leiva, J., Teles, A., y Tovar, D. (2019a). Respuesta enzimática inmunitaria y antioxidante de larga duración. (Cola amarilla *Seriola rivoliana*) Juveniles a sustancias

ultradiluidas derivadas de fósforo, sílice y patógenas Vibrio. *THIEME*, 43-53.

Mazón, J., Ojeada, C., Nieto, A., y Díaz, M. (2019b). *Agricultural Homoeopathy: A New Insight into Organics*. IntechOpen.

Mazón, J., Salas, J., Teles, A., y Tovar, D. (2019c). *Immune and Antioxidant Enzyme Response of Longfin Yellowtail (Seriola rivoliana) Juveniles to Ultra-diluted Substances Derived from Phosphorus, Silica and Pathogenic Vibrio*. Homeopathy.

Mazon Suastegui, Jose., Tovar Ramírez, D., Salas Leiva, J. S., Arcos Ortega, G. F., García Bernal, M. R., Avilés Quevedo, M. A., Robles Mungaray, Miguel (2018). *Aquacultural homoeopathy: A focus on marine species*. IntechOpen.

Mazón-Suastegui, J. M., C. M. Ojeda-Silvera, M. García-Bernal, D. Batista-Sánchez, A. D. Gurrola-Mesa y E. Mesa-Zavala. 2020. Efectos de medicamentos homeopáticos en indicadores fisiológicos y del desarrollo inicial del frijol Yorimón (*Vigna unguiculata* L., Walp.). *Terra Latinoamericana Número Especial 38-1: 13-23*. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.581>.

Moraes, T., Zandomênicó , M., Macedo, A., y Moreira, R. (2021). *Effect of Nosodes on Lettuce, Parasitized or Not by Meloidogyne enterolobii*. Homeopathy.

Nayak, D., y Varanasi, R. (2020). *Homoeopathic nosodes, a neglected approach for epidemics: A critical review*. *Indian Journal of Research in Homoeopathy*, 14: 129-135.

Pérez, J., Hurtado, G., Aparicio, V., Argueta, Q., & Larín, M. (2015). *Cultivo de Tomate*. El Salvador.

Rissato, B., Stangarlin, J., Coltro, S., y Lorenzetti, E. (2016). *In vitro activity of homeopathic drugs against Sclerotinia sclerotiorum*. *Scientia Agraria Paranaensis*, 15(3):320-323.

Rodríguez, C., Ramos, S., Escamilla, E., y Ruiz, F. (2020). *Reducción del desarrollo de la roya anaranjada del café con mezcla de homeopáticos*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*.

Sánchez, M., Alfaro, F., Carr, C., Castillo, A., Delgado, J. y Guzmán, M. 2019. *Escalas de severidad de marchitamiento por Fusarium (Fusarium oxysporum f. sp. cubense raza 1) en plantas jóvenes de banano Gros Michel (Musa AAA)*. Eje de Fitoprotección, CORBANA. Hoja divulgativa No.15.

Schreinemachers, P., Simmons, E., y Wopereis, M. (2018). *Tapping the economic and nutritional power of vegetables*. *Global Food Security*, 16: 36-45.

Srinivas, C., Nirmala, D., Tabassum, B., & Chandra, S. (2019). *Fusarium oxysporum f. sp.*

lycopersici causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7):1315-1324.

Than, P., Jeewon, R., y Taylor, P. (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology*, 57: 562-572.

Turpo Gebera, O., Aguaded Gómez, I., & Barros Bastidas, C. (2022). Alfabetización mediática e informacional y formación docente en países en desarrollo: el caso de Perú. *Universidad Y Sociedad*, 14(2), 321-327. Recuperado a partir de <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/2710>

Toledo, S., Bueno, E., Teixeira, M., y Gomes, J. (2010). Effect of biotherapeutic of *Alternaria solani* on the early blight of tomato-plant and the in vitro development of the fungus. *International Journal of High Dilution Research*, 9 (33): 147-155.

Van der Does, H., Constantin, M., Houterman, P., & Rep, M. (2019). *Fusarium oxysporum* colonizes the stem of resistant tomato plants, the extent varying with the R-gene present. *Journal Plant Pathology*, 154: 55-65.

Vásquez, L., y Castaño, J. (2017). Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) w.c. snyder & h.n. hansen]: una revisión. *U.D.C.A Act. & Div. Cient.* , 1-12.

Yoon, M. Y., Cha, B., y Kim, J. C. (2013). Recent Trends in Studies on Botanical Fungicides in Agriculture. *Plant Pathology Journal*, 29: 1-9.