

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**USO DE ESPUMAS HIDROFÍLICAS COMO INMOVILIZADORAS  
DE LA BACTERIA *BACILLUS SP.* BAJO CONDICIONES DE  
ESTRÉS SALINO EN PLÁNTULAS DE TOMATE (*Lycopersicon  
esculentum Mill*).**

Por:

**AIMIR HIDALGO DE LEÓN**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

**BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO  
SEPTIEMBRE DE 2003**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA**

**Uso de Espumas Hidrofílicas como Inmovilizadoras de la Bacteria  
*Bacillus sp.* Bajo Condiciones de Estrés Salino en Plántulas de Tomate  
(*Lycopersicon esculentum Mill*).**

**TESIS**

Por:

**AIMIR HIDALGO DE LEÓN**

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito  
parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

APROBADA POR:

\_\_\_\_\_  
**Dr. Adalberto Benavides Mendoza**  
Asesor Principal

\_\_\_\_\_  
**Dr. Fco. Daniel Hernández Castillo**  
Sinodal

\_\_\_\_\_  
**Ing. Elyn Bacópulos Téllez**  
Sinodal

\_\_\_\_\_  
**L.C.Q. Gabriela Padrón Gamboa**  
Asesor Externo

\_\_\_\_\_  
**M.C. Arnoldo Oyervides García**  
Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Septiembre de 2003

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES**

Sr. Grisdeli Hidalgo Calderón

Sra. Marlene de León de León

Con todo mi amor, respeto y admiración a esos seres que me dieron la vida. Hombres incansables, que con amor cariño han luchado por sacarme adelante, con sus nobles consejos, me han guiado por el buen camino, han carecido de algunas cosas por tratar de darme lo mejor... Por haber depositado en mí su cariño, comprensión, dedicación y confianza para ver realizada una meta más en mi vida y además por servirme de ejemplo para ser cada día mejor, a los cuales dedico como un tributo a lo que me han brindado.

**A MIS HERMANOS:** Leticia, Alberdi Raferi, Belly Edileine, los mejores hermanos del mundo, para que esto les sirva a ustedes de ejemplo de superación y sean cada día mejores en todos los aspectos de su vida.

**A MIS PADRINOS:** Iván Verdi Rodríguez López y Leticia Hidalgo Calderón, por sus sabios consejos, que siempre me impulsaron a seguir adelante, por su cariño, comprensión, aprecio y apoyo a lo largo de mi vida.

**A MI ESPOSA:** Ma. Elena Canizales Hernández, por el cariño, amor y el apoyo incondicional que me brindo, lo cual me permitió seguir adelante.

**A MI HIJO:** Grisdeli Aimir, que es lo mejor que Dios me ha dado, y espero que servirle de ejemplo para que en el futuro él sea mejor que yo.

**A TODA MI FAMILIA.** Gracias por todo su apoyo.

**A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS:** Les agradezco su amistad ya que durante mi estancia en esta institución, siempre me apoyaron y me consideraron su amigo. En especial a Deiby Andrey y a Luis Velásquez, por su apoyo, GRACIAS...

## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS:** Por prestarme la vida y permitirme llegar hasta esta etapa de mi vida profesional, por todas sus bondades, por depositar en el deseo de superación, por ser mi amigo incondicional que nunca me desampara, porque sin ti nada tiene sentido y espero poder enseñar lo que aprendí sin recelo. Por esto y por todo lo demás... Gracias.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: Mi **Alma Mater** con un eterno agradecimiento por los conocimientos que de ella recibí para formarme como profesionista y como hombre.

**Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza:** Por su ayuda en la realización, escritura y presentación de este trabajo de tesis.

**Al Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo:** Por su apoyo en la realización y revisión de este trabajo.

**A la L.C.Q. Gabriela Padrón Gamboa:** Por su gran ayuda en la revisión y realización de este trabajo.

**AL Ing. Elyn Bacópulos Téllez:** Por su colaboración para la realización y revisión de este trabajo.

**Al Departamento de Parasitología,** por el apoyo en infraestructura otorgado para la realización de esta investigación.

**A todos mis maestros,** que de alguna u otra forma intervinieron en mi formación profesional. En especial a los del Departamento de Horticultura.

## INDICE GENERAL

|                                                                                                                                  | Pág. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>DEDICATORIA</b>                                                                                                               |      |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>                                                                                                           |      |
| <b>INDICE DE CUADROS</b>                                                                                                         |      |
| <b>INDICE DE FIGURAS</b>                                                                                                         |      |
| <b>RESUMEN</b>                                                                                                                   |      |
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>                                                                                                           | 1    |
| 1.1 Objetivos                                                                                                                    | 2    |
| 1.2 Hipótesis                                                                                                                    | 3    |
| <b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>                                                                                                | 4    |
| 2.1 Estrés Ambiental                                                                                                             | 4    |
| 2.1.1 Concepto de Estrés                                                                                                         | 5    |
| 2.1.2 Estrés Salino                                                                                                              | 6    |
| 2.1.2.1 Efectos del Estrés Salino en las Plantas                                                                                 | 8    |
| 2.2 Resistencia Sistémica                                                                                                        | 10   |
| 2.3 <i>Bacillus subtilis</i>                                                                                                     | 12   |
| 2.4 Espumas Hidrofílicas Biodegradables                                                                                          | 12   |
| 2.5 <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i>                                                                   | 14   |
| 2.5.1 Marchitamiento del Tomate Causado por <i>Fusarium</i> .                                                                    | 15   |
| 2.6 <i>Rhizoctonia solani</i>                                                                                                    | 15   |
| 2.7 Métodos de Control                                                                                                           | 16   |
| 2.7.1 Control Biológico                                                                                                          | 17   |
| 2.7.1.1 Efecto Antagónico de <i>Serratia marcescens</i> Bizio Sobre<br><i>Fusarium oxysporum</i> SCHET. f.sp. <i>lycopersici</i> | 17   |
| 2.7.1.2 Control Biológico de la Marchitez por <i>Fusarium</i> con una Cepa<br>no Patogénica                                      | 18   |

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.8 Generalidades del cultivo del tomate                                               | 18 |
| 2.8.1 Origen e historia                                                                | 18 |
| 2.8.2 Importancia                                                                      | 19 |
| 2.8.3 Características Botánicas y Taxonómicas                                          | 19 |
| 2.9 Estomas                                                                            | 20 |
| 2.9.1 Densidad Estomática                                                              | 21 |
| 2.9.2 Factores que Impactan Sobre la Actividad de los Estomas y<br>Densidad Estomática | 21 |
| 2.9.2.1 Luz                                                                            | 21 |
| 2.9.2.2 Dióxido de Carbono (CO <sub>2</sub> )                                          | 21 |
| <b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>                                                       | 23 |
| 3.1 Ubicación del Área Experimental                                                    | 23 |
| 3.1.1 Descripción del Área Experimental                                                | 23 |
| 3.1.1.1 Clima                                                                          | 23 |
| 3.2 Material Utilizado                                                                 | 23 |
| 3.2.1 Cepa de <i>Bacillus sp.</i>                                                      | 24 |
| 3.2.2 Cepa de <i>Fusarium oxysporum</i>                                                | 24 |
| 3.2.3 Cepa de <i>Rhizoctonia solani</i>                                                | 24 |
| 3.2.4 Material Vegetal                                                                 | 24 |
| 3.2.5 Espumas Hidrofílicas                                                             | 24 |
| 3.3 Descripción de los Tratamientos                                                    | 25 |
| 3.3.2 Diseño Experimental                                                              | 27 |
| 3.4 Establecimiento del Experimento                                                    | 27 |
| 3.4.1 Pruebas antagónicas <i>In Vitro</i>                                              | 27 |
| 3.4.2 Tomate Plántula                                                                  | 28 |
| 3.5 Variables Evaluadas                                                                | 30 |
| 3.5.1 Crecimiento del Hongo <i>In Vitro</i>                                            | 30 |
| 3.5.2 Biomasa                                                                          | 30 |
| 3.5.3 Crecimiento Radicular                                                            | 30 |
| 3.5.4 Numero de Hojas                                                                  | 30 |

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.5.5 Altura de Planta                                             | 30        |
| 3.5.6 Número de foliolos                                           | 31        |
| 3.5.7 Densidad Estomática y de Células Tabloides Adaxial y Abaxial | 31        |
| 3.5.8 Índice Estomático Adaxial y Abaxial                          | 32        |
| <b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                                  | <b>33</b> |
| 4.1 Crecimiento del Hongo <i>In Vitro</i>                          | 33        |
| 4.2 Biomasa de las Plántulas de Tomate                             | 33        |
| 4.3 Altura de Planta                                               | 36        |
| 4.4 Longitud Radicular                                             | 37        |
| 4.5 Numero de Hojas                                                | 38        |
| 4.6 Número de Foliolos                                             | 38        |
| 4.7 Densidad Estomática Adaxial y Abaxial                          | 40        |
| 4.8 Índice Estomático Adaxial y Abaxial                            | 41        |
| <b>V. CONCLUSIONES</b>                                             | <b>45</b> |
| <b>VI. LITERATURA CITADA</b>                                       | <b>46</b> |

## INDICE DE CUADROS

|                                                                                                                                                                                                              | <b>Pág.</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Cuadro 3.3.1</b> Tratamientos evaluados en el laboratorio para las pruebas de antagonismo <i>In Vitro</i>                                                                                                 | 25          |
| <b>Cuadro 3.3.2</b> Tratamientos evaluados en el cultivo del tomate en invernadero en la etapa de plántula.                                                                                                  | 26          |
| <b>Cuadro 3.3.3</b> Esquema de tiempos de muestreo, periodos de estrés y periodos de recuperación.                                                                                                           | 26          |
| <b>Cuadro 4.1.1</b> Valores Promedio del crecimiento del hongo sobre las diferentes Cepas de <i>Bacillus sp.</i>                                                                                             | 34          |
| <b>Cuadro 4.2.1</b> Resultados obtenidos para Peso Fresco y Seco Aéreo y Radicular y la relación Peso Seco Radicular_Peso Seco Aéreo en plántulas de tomate, durante los cuatro muestreos, con y sin estrés. | 35          |
| <b>Cuadro 4.3.1</b> Valores Promedio para la Altura de Planta, Longitud Radicular, Número de Hojas y Número de Foliolos de las plántulas de tomate, durante los cuatro muestreos, con y sin estrés.          | 39          |
| <b>Cuadro 4.7.1</b> Resultados que arrojaron los muestreos de la Densidad Estomática, y Densidad de Células Tabloides, Adaxial y Abaxial.                                                                    | 42          |
| <b>Cuadro 4.8.1</b> Resultados que arrojaron los muestreos de Índice Estomático Adaxial y Abaxial.                                                                                                           | 43          |

## INDICE DE FIGURAS

|                                                                         | <b>Pág.</b> |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Figura 3.4.2.1</b> Distribución de los tratamientos en cada charola. | 28          |
| <b>Figura 3.4.2.2</b> Esquema de aplicación de los tratamientos.        | 29          |

## RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicado al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México; iniciando el 2 de Abril y finalizando el 29 de Junio de 2003. Con el objeto de evaluar el efecto de varias cepas de *Bacillus sp.* inmovilizadas en espumas hidrofílicas sobre el crecimiento de plantas de tomate sometidas a estrés con NaCl y con la presencia de *Fusarium oxysporum*. Primero se realizó una prueba antagónica *In Vitro*, utilizando siete Cepas de *Bacillus sp.*, las cuales denominaremos de ahora en adelante como: \*3, T-1-2, T-10-2, BCC, B15, T-9-1 y T-13-2, dichas bacterias son nativas de la región, contra una cepa de *Fusarium oxysporum* y otra de *Rhizoctonia solani*.

Las bacterias *Bacillus sp.* en pruebas *In Vitro* mostraron tener un efecto antagónico sobre el *Fusarium oxysporum* y la *Rhizoctonia solani*, a excepción de las cepas T-1-2 y T-10-2 que mostraron efecto negativo.

Después de este ensayo se seleccionaron las tres mejores cepas de *Bacillus sp.* y se evaluaron sobre plántulas de tomate bajo invernadero, sometidas a un estrés biótico y un estrés abiótico. Para las plántulas de tomate los tratamientos fueron 7 identificados como:

- 1) Cepa \*3 más *Fusarium oxysporum*,
- 2) Cepa BCC más *Fusarium oxysporum*,
- 3) Cepa B15 más *Fusarium oxysporum*,
- 4) Mezcla de las tres Cepas más *Fusarium oxysporum*,
- 5) Mezcla de las tres Cepas,
- 6) Testigo más *Fusarium oxysporum*,
- 7) Testigo.

En 16 Charolas de 200 cavidades, se sembró tomate de la variedad Río Grande, en Mayo del 2003, cabe mencionar que los siete tratamientos se colocaron en cada charola (Fig. 3.4.2.1). En la mitad de ellas se utilizó peat moss más espuma hidrofílica al 5% v/v como sustrato y a 4 de las mismas se sometieron al estrés salino inducido por NaCl a una concentración de 250mM. Las otras ocho charolas restantes siguieron este mismo esquema, en las cuales, el sustrato empleado fue el peat moss (Fig. 3.4.2.2). Dicho esquema mantiene un estrés intermitente, en donde, por 7 días las plantas se sometieron a estrés salino y 3 días sin estrés (Cuadro 3.3.3).

La mezcla de las cepas tuvo un efecto positivo en presencia y en ausencia del estrés salino, por lo que se concluye que las cepas antagónicas del genero *Bacillus sp.* en conjunto, son capaces de inducir resistencia sistémica. Pero, las cepas por si solas no son capaces de inducir resistencia sistémica.

Aunque, a nivel fisiológico se encontró que las cepas antagónicas de *Bacillus sp.* presentan un efecto negativo en cuanto al índice estomático, la densidad estomática y la densidad de células tabloides de las plántulas de tomate.

## I INTRODUCCIÓN

Se estima que únicamente un 10% de la superficie de tierra arable se encuentra libre de estrés. Cerca del 20% de la tierra presenta algún tipo de deficiencia o toxicidad mineral, 26% es afectada por estrés de sequía y 15% por congelación.

La salinidad del suelo se ve incrementada fuertemente en regiones áridas en donde la tasa anual de evaporación del suelo supera la cantidad de agua proveniente de las precipitaciones. Otro caso en donde se acumulan las sales en el suelo ocurre cuando se utiliza riego intensivo en suelos con drenaje deficiente.

Estas restricciones de ambiente son solo algunas a las cuales una plántula se va a enfrentar en etapa de post-transplante, por lo que es clave contar con sustratos que impartan valor agregado al cepellón y a la plántula producida, esto es, alta capacidad de retención de agua, habilidad para inducir tolerancia al estrés abiótico o a las enfermedades. Entre estos sustratos podemos mencionar a los biopolímeros a base de almidón o celulosa combinados con poliuretano. Trabajos anteriores llevados a cabo en la UAAAN concluyeron que un biopolímero hidrofílico con poliacrilamida, distribuyó mejor las sales y el agua, al trabajar con melón en un suelo calcáreo salino. Asimismo, y dadas las características de porosidad podemos emplear dichos biopolímeros como vehículo de transporte o inoculación de microorganismos que ayuden a la plántula a enfrentarse a las condiciones estresantes del medio ambiente. Cabe mencionar que la utilización de microorganismos como fuentes de defensa para las plantas es algo que apenas comienza a estudiarse, sobre todo contra factores de estrés abiótico. Uno de estos microorganismos benéficos es la bacteria *Bacillus subtilis*, esta bacteria es un habitante común

del suelo, la cual se ha demostrado es antagonista de hongos patógenos como *Rhizoctonia solani*.

En la actualidad el control biológico ha ido en aumento, desafortunadamente no se aplica en todos los casos; pues se ha encontrado que los agentes del control biológico pueden ser plantas, hongos, bacterias, micorrizas, etc. Hemos de mencionar que el control biológico es un arma fundamental para la agricultura, ya que, con esto se logra cosechar frutos en los cuales la cantidad de residuos de productos químicos es menor y además, los costos de producción disminuyen, y lo más importante de todo, es que la contaminación del ecosistema presenta una considerable disminución.

En la actualidad, se han realizado evaluaciones acerca del efecto del *Bacillus subtilis* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo del haba y se obtuvieron resultados positivos para el empleo de la bacteria anteriormente mencionada.

Sin embargo se han realizado pocos estudios acerca del efecto del *Bacillus sp.* o de otro microorganismo contra factores de estrés abióticos. Por lo que el siguiente trabajo tiene la finalidad de estudiarlo. Para ellos se plantearon los siguientes:

### **Objetivos.**

- Evaluar el efecto de varias cepas de *Bacillus sp.* sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* en cultivo In Vitro.
- Evaluar el efecto que tiene la bacteria *Bacillus sp.*, inmovilizada en espumas hidrofílicas, en el cultivo de tomate en presencia de un factor de estrés abiótico y un factor de estrés biótico.

- Demostrar si las espumas hidrofílicas pueden ser vehículo de inmovilización de microorganismos.
- Determinar la respuesta de densidad e índice estomático en el cultivo del tomate sometido a un estrés.

### **Hipótesis.**

No todas las bacterias antagónicas del genero *Bacillus sp.* son capaces de modificar las respuestas de crecimiento y desarrollo de las plantas sometidas a estrés salino.

## II REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Estrés Ambiental.

El estrés ambiental es una fuerte restricción para el aumento de la productividad y de la extensión de los cultivos. Se estima que únicamente un 10% de la superficie de tierra arable se encuentra libre de estrés. Cerca del 20% de la tierra presenta algún tipo de deficiencia o toxicidad mineral, 26% es afectada por estrés de sequía y 15% por congelación (Blum, 1988). Incluso bajo condiciones de producción protegida como invernaderos y túneles se presentan eventos de estrés biótico o abiótico que disminuyen la productividad, rentabilidad y calidad de los cultivos.

Aunque los factores causantes de estrés en las plantas pueden ser muy diversos, los mas frecuentes se pueden agrupar en tres grupos principales que son; estreses edáficos, físicos o climáticos y biológicos. Dentro del estrés edáfico es posible considerar la falta o exceso de agua, deficiencias o excesos minerales y pH del suelo. Los principales causantes del estrés climático, son las bajas o altas temperaturas, altas o bajas concentraciones de gases en el aire y altas o bajas intensidades de luz. (Robledo *et al*, 2002). Por su parte Bowler *et al.*,(1992) indican que en las plantas las condiciones ambientales tales como temperaturas extremas y/o estrés por agua, especialmente, en combinación con altas intensidades lumínicas, ozono ambiental o dióxido de azufre, además de algunos patógenos pueden causar daños por estrés oxidativo por sobreproducción de algunos tipos de oxígeno tóxico. Este último factor patogénico, que llega a causar estrés también ocasiona alteraciones importantes en las plantas.

### **2.1.1 Concepto de Estrés.**

Conforme a lo descrito por Benavides (2002), se ha definido al estrés como una desviación significativa de las condiciones óptimas para la vida. Como respuesta a dicha desviación se inducen cambios en todos los niveles funcionales del organismo, pudiendo ser dichos cambios reversibles o permanentes. Aún si la condición de estrés es temporal, es normal que la vitalidad de la planta se vea disminuida entretanto se realizan los ajustes requeridos para la nueva situación. Si el estrés es demasiado intenso o si el período de acción es demasiado largo entonces los daños latentes se transforman en daño irreversible que puede afectar a la planta entera o partes de la misma.

El significado literal de la palabra “estrés” es restricción (lt. *stringere*) o fuerza que empuja deformando un cuerpo. Para los físicos el estrés es la tensión Interna de un material o estructura frente a una fuerza externa que potencialmente puede causar extensión o compresión. En el área biológica el término estrés ha adquirido una connotación más amplia, refiriéndose tanto a los estímulos ambientales que se apartan de los rangos óptimos como al estado fisiológico que se observa en el organismo como consecuencia de los estímulos ambientales negativos (Larcher, 1995). Sin embargo, el uso correcto del término debe circunscribirse a la descripción del estado del organismo.

Partiendo de lo anterior, la definición de estrés es: “conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo un rango de condiciones óptimas”. Asimismo, se aplicará el término resistencia al estrés para definir “la capacidad de un organismo para evitar los estímulos ambientales negativos o para permanecer bajo un estado particular de estrés sin que su fenotipo se vea modificado de manera significativa”. En la definición anterior se considera que existe un estado fenotípico ideal, observado bajo condición óptima, al cual se le llama “norma”. (Benavides, 2002)

De la definición anterior surge de manera lógica el criterio para reconocer el estrés. La norma para una característica específica, como el contenido de hierro en los tejidos foliares, debe marcar un rango de valores fuera de los cuales el funcionamiento de ciertos procesos vitales se verá disminuido.

Con base en la experiencia somos capaces de distinguir rápidamente diversos estados de estrés considerando manifestaciones fenotípicas visuales como deformaciones, amarillamientos, manchados, necrosis, etc.

Otras manifestaciones fenotípicas son menos obvias y requieren de equipo especializado para detectarlas, ejemplo de ello es la disminución en la actividad de asimilación de CO<sub>2</sub>, la inducción de la transcripción de ciertos genes, cambios en la composición química de ciertas estructuras, etc. (Benavides, 2002).

### **2.1.2 Estrés Salino.**

Las plantas para su desarrollo requieren de sales minerales, sin embargo, concentraciones elevadas pueden resultar tóxicas y causantes de estrés, que desencadena múltiples repuestas fisiológicas. (Gossett *et. al.*, 1994).

Los hábitat salinos se definen por la presencia de un contenido anormalmente alto de sales solubles. Los lagos y estanques salinos así como los océanos son ambientes acuáticos salinos; en tierra se presentan suelos salinos en regiones áridas y húmedas. En las regiones húmedas el suelo puede volverse salino al exponerse a los aerosoles marinos (que pueden llegar hasta 100 Km. tierra adentro), al encontrarse en áreas de inundación por aguas marinas, o al estar en contacto directo o indirecto con depósitos salinos. (Maiti *et. al.*, 2002).

Solamente en el océano abierto la concentración de sal permanece constante (en promedio 480 mM Na<sup>+</sup> y 560 mM Cl<sup>-</sup>). En la zona intermareas la salinidad muestra un rango amplio ubicado entre 290 y 810 mM Na<sup>+</sup> y en los pantanos salados la concentración de Na<sup>+</sup> puede incrementarse tanto como 600 – 1000 mM (Flowers, 1985).

Durante la temporada de crecimiento las sales se acumulan en el dosel de las plantas; después de que las hojas mueren y caen al suelo para descomponerse, las sales que contenían son lavadas por la lluvia o los riegos y retornadas al suelo.

La salinidad del suelo se ve incrementada fuertemente en regiones áridas en donde la tasa anual de evaporación del suelo supera la cantidad de agua proveniente de las precipitaciones. (Maiti *et. al.*, 2002).

Otro caso en donde se acumulan las sales en el suelo ocurre cuando se utiliza riego intensivo en suelos con drenaje deficiente. Los suelos de regiones húmedas contienen predominantemente NaCl. En suelos de regiones áridas también llega a presentarse esta problemática, aunque lo más común en zonas áridas es la presencia de sales básicas como cloruros, sulfatos y bicarbonatos de sodio, magnesio y calcio. Dichos suelos tienen pH alto, alto contenido de yeso, cuando se humedecen son pegajosos y una vez secos se endurecen formando costras. (Flowers, 1985).

Desde el punto de vista agronómico la salinidad se expresa en términos de la conductividad eléctrica (EC) en unidades de dS m<sup>-1</sup>(deciSiemens por metro equivalente a 1000 :S cm<sup>-1</sup>) o mmhos cm<sup>-1</sup> (equivalente a 1mS cm<sup>-1</sup>) (Grattan y Grieve, 1999). Como referencia, la EC del agua de mar es de 44 mS cm<sup>-1</sup>, (Epstein, 1983), y se recomienda que el agua de riego no rebase 2 mS cm<sup>-1</sup>.

Desde el punto de vista fisiológico se expresa como concentración de sales en unidades milimolares (mM) y se utiliza entonces como referencia el efecto de una concentración particular sobre un proceso fisiológico.

#### **2.1.2.1 Efectos del Estrés Salino en las Plantas.**

El problema central enfrentado por las plantas sometidas a alta concentración de sal es la retención osmótica de agua y efectos iónicos de toxicidad específicos sobre las proteínas del citoplasma y las membranas. El agua es retenida. El agua es “retenida” osmóticamente en las soluciones salinas de tal forma que conforme aumenta la concentración de sal el agua se encuentra cada vez menos disponible para la planta. (Maiti *et. al.*, 2002). La explicación en términos físicos es la siguiente: la energía libre del agua se conoce como potencial químico ( $\Psi$ ); el agua fluye espontáneamente desde un sitio de alta energía libre hacia uno de baja energía libre hasta que llega a un equilibrio termodinámico.

Considerando que el valor máximo de energía libre es el del agua pura ( $\Psi_0$ ) y que cualquier adición de solutos disminuye la energía libre hasta un valor  $\Psi_{-1}$  (en donde  $\Psi_{-1} < \Psi_0$ ), entonces el flujo espontáneo de agua se dará desde los sitios con menor cantidad de sales hacia los que presentan mayor concentración. La única forma en que el agua sea movilizadada desde un sitio con  $\Psi_{-2}$  hacia uno con  $\Psi_{-1}$ , en donde  $\Psi_{-2} < \Psi_{-1}$ , es a través de transporte activo invirtiendo energía. Esto quiere decir que en un suelo salino el valor  $\Psi$  es muy bajo y la planta debería entonces invertir gran cantidad de recursos para extraer el agua del suelo. Es por ello que rebasado cierto umbral de concentración de sal la planta es entonces incapaz de extraer agua del suelo. La base de la respuesta celular conocida como ajuste osmótico, es precisamente la concentración de solutos no tóxicos en la célula, de tal forma que el valor  $\Psi$  de la célula disminuya y sea competitivo contra el presentado por la solución salina. (Maiti *et. al.*, 2002).

Normalmente la estructura proteica adecuada para ciertos fines se mantiene dentro de rangos apropiados de contenido de solutos en el agua de riego. Cuando el contenido de sales rebasa cierto umbral entonces la estructura del polipéptido se ve modificada disminuyendo o inhabilitando su función. Los sistemas enzimáticos de la glicólisis, el ciclo de Krebs y la fotofosforilación son especialmente sensibles a estos cambios conformacionales inducidos por el agua salina, resultando en una menor disponibilidad de energía, menor adquisición de nutrientes minerales y en general en un retardo en el crecimiento de la plántula o la germinación de las semillas, (Larcher, 1995).

Como se mencionó, el efecto general de la salinidad es el reducir la tasa de crecimiento resultando ello en hojas más pequeñas, altura y en ocasiones en menor cantidad de hojas.

Las raíces también disminuyen su longitud y biomasa aunque pueden ser más delgadas o mas gruesas. Igualmente la tasa de maduración puede ser mayor o menor dependiendo de la especie. (Maiti *et. al.*, 2002).

La severidad de la respuesta a la salinidad depende de la interacción con otras variables ambientales como la humedad, temperatura y radiación. (Maiti *et. al.*, 2002).

El efecto osmótico de la salinidad contribuye principalmente a obtener una baja tasa de crecimiento, mientras que los efectos de la toxicidad iónica modifican el color de las hojas, la tasa de madurez y el cociente entre la biomasa aérea y la biomasa de raíz. Estos últimos efectos iónicos se manifiestan más como daño en hojas y meristemo o bien por los síntomas típicos de desordenes nutricionales. De ese modo las altas concentraciones de Na ó Cl en hojas y tallos resultan en necrosis foliares y quemado de los bordes, mientras que los síntomas de deficiencia nutricional son similares a los presentados en ausencia de salinidad. (Maiti *et. al.*, 2002).

## **2.2 Resistencia Sistémica.**

Al presentarse una infección por patógenos las plantas inducen un tipo de resistencia a largo plazo, de amplio espectro y de tipo sistémico que permite resistir posteriores infecciones. Esta respuesta de resistencia sistémica (RS) ha sido conocida por muchos años bajo diferentes nombres como inmunidad fisiológica inducida o resistencia sistémica adquirida (SAR). El acrónimo RSI indica el tipo de resistencia sistémica inducida por un microorganismo no patógeno (como los encontrados en la rizosfera), mientras que la SAR indica el tipo de resistencia sistémica adquirida originada en todos los tejidos de la planta como resultado de la infección por un patógeno. La SAR es parte del repertorio de defensa de las plantas contra los patógenos y es un mecanismo diferente a otros como barreras físicas, entrelazamiento de las proteínas de la pared celular, biosíntesis de aleloquímicos, respuesta hipersensible y cambios fisiológicos inducidos por el etileno, (Benavides, 2002).

El primer paso en el desarrollo de la SAR es el reconocimiento de la infección de patógenos por una planta. Una vez que la planta reacciona al patógeno, se liberan señales que disparan la resistencia en los tejidos adyacentes y en los más lejanos, (Kuc, 1982).

Las plantas, como todo ser vivo, activan sus sistemas naturales de defensa al reconocer un organismo infeccioso o una parte de éste (fragmentos de sus membranas, diversos metabolitos microbianos, etc.). Por ejemplo: un hongo patógeno estimula ciertos receptores de las membranas celulares del vegetal y gracias a la acción de mensajeros químicos, envían la correspondiente señal al genoma vegetal donde se sintetizarán las diversas sustancias implicadas en la protección del vegetal. Una vez que han sido activados sus sistemas naturales de defensa, la planta actúa por varias vías:

- a) Produciendo compuestos volátiles antimicrobianos, por ejemplo ácido hidrociánico, diferentes alquenos, fenoles, polifenoles, etc.

- b) Sintetizando proteínas inhibidoras del crecimiento de hongos (enzimas hidrolíticos, quitinasas, gluconasas...).
- c) Sintetizando fitoalexinas: sustancias producidas por los tejidos vegetales que inhiben el desarrollo de hongos parásitos y se sintetizan cuando las células de la planta entran en contacto con éste o bien después de haber sufrido algún daño causado por agentes químicos o mecánicos. Las fitoalexinas aparecen en la planta 24 horas después de haber sido activadas. (<http://www.tavan.es/botry-stop.htm>,2002).

Algunos compuestos, designados genéricamente inductores, promueven la síntesis de fitoalexinas y son capaces de actuar directamente sobre el patógeno e inducir una respuesta del hospedero.

Es bien sabido que ciertos microorganismos, actúan a modo de inductores, estimulando la producción de fitoalexinas, fenoles, polifenoles, etc., en definitiva, provocando los mecanismos de defensa de la planta. Se ha visto que ciertas bacterias estimulan la producción de fitoalexinas (scoporona, scopoletina...) en cantidades suficientes para inhibir el crecimiento fúngico dos días después de su inoculación. La scoporona inhibe la elongación del tubo germinal del hongo e impide la germinación de la espora.

Recientemente se ha descubierto que otro tipo de fitoalexina (resveratrol), impide el crecimiento de *Botrytis cinerea*. Algunos inductores microbianos juegan un papel esencial en la actividad de ciertos genes de defensa de los vegetales. Contribuye a la resistencia sistémica adquirida de la planta: regulan la síntesis de toda una serie de proteínas, de tal manera que el vegetal se comporta mejor frente a un patógeno tras la estimulación por estos inductores. La activación de los mecanismos de resistencia de las plantas mediante la aplicación de inductores, es una herramienta alternativa para el control de ciertas enfermedades, (<http://www.tavan.es/botry-stop.htm>,2002).

### **2.3 *Bacillus subtilis*.**

El *Bacillus subtilis* es una bacteria no fitopatógena, tipo Gram-positiva habitante común del suelo. Cuando las condiciones en las que vive no son favorables forma esporas, lo que le permite sobrevivir hasta que las condiciones vuelven a ser buenas. Su genoma contiene 4104 genes codificados por 4.200.000 pares de bases. Es una bacteria muy utilizada en estudios de laboratorio. Esta bacteria compite por el espacio en la rizosfera con hongos patogénicos; por lo que se le ha empleado en el control biológico de hongos del suelo. <http://www.cnb.uam.es>, 2002.

Existen preparados, a base de *Bacillus subtilis*, utilizados para desinfección de patatas, específicamente contra *Rhizoctonia*, *Streptomyces*, *Fusarium* y *Pythium*. *Bacillus cereus* también ha sido utilizada para el control de *Sclerotinia*. Debido a una interacción directa entre el hongo y el microorganismo antagonista, éste último puede reducir la infección causada por el patógeno. <http://www.tavan.es/botry-stop.htm>, 2002

Soto, 1998; demostró la actividad antagónica de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* y de *Serratia marcescens*, frente al patógeno *Rhizoctonia solani* Kuhn en haba (*Vicia faba*).

Por su parte Falconí, et al. 2002 ,demostraron que el *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia*s redujeron la enfermedad de moniliasis del cacao hasta en un 62% y 55%, respectivamente, en relación con la no aplicación.

### **2.4 Espumas Hidrofílicas Biodegradables.**

En la actualidad el mercado de sustratos hortícolas se encuentra dominado por materiales de importación provenientes de Canadá y Estados

Unidos, por lo que dicha actividad es muy sensible al tipo de cambio. Por otra parte, además del aspecto económico debe resaltarse que a excepción del peat moss ninguno de los materiales es biodegradable, por lo que el desarrollo de tecnologías hortícolas con materiales biodegradables puede constituir un gran avance en la disminución de desechos plásticos. (Emiliano, 2002).

Uno de estos materiales es la espuma de poliuretano (PU), cuyo costo de producción es bajo, sin embargo uno de los inconvenientes de este material y de gran preocupación para la sociedad es la alta resistencia que presenta a la degradación, lo que lo convierte en un material altamente contaminante. Para resolver este problema, diversos autores han remplazado los polioles sintéticos por otros compuestos portadores de grupos hidroxilos de origen natural como los almidones, la celulosa, las ligninas, entre otros, obteniéndose espumas de PU susceptibles a la degradación microbiológica, (Padrón *et. al.*, 2002).

La eficiencia de estos polímeros biodegradables se ve incrementada con la incorporación de polímeros hidrofílicos en sus moléculas, estos polímeros hidrofílicos incluyen acrilamidas, acrilatos o acrilonitrilos cada tipo presenta cierta capacidad de retención de agua (Emiliano, 2002).

La síntesis de Poliuretanos Biodegradables (PUB) utilizando en su composición química materiales adsorbentes como son: alcohol polivinílico (PVA), poliacrilamida (PAA) o almidón comercial los convierte en candidatos ideales para la generación de tecnología con el fin aumentar la eficiencia en el uso y retención de agua del suelo.

Así mismo, la disponibilidad y aplicación de PUB Hidrofílicos constituye un área de oportunidad tecnológica y científica que puede contribuir sensiblemente a la resolución de una problemática en el uso eficiente de agua de riego en la producción hortícola, es decir, aumentar en un 15% (675 m<sup>3</sup> por hectárea por temporada) la eficiencia de uso del agua en la producción

hortícola, mediante el desarrollo y aplicación de PUB hidrofílicos. (Emiliano, 2002).

Nava (2002); no encontró diferencia significativa en el empleo de tratamientos de espumas hidrofílicas de PU antes del trasplante, al plantar plántulas de melón en un suelo calcáreo, en cuanto a la biomasa de las mismas; pero al muestrear el suelo, el mejor tratamiento fue el de espuma de PU con poliacrilamida, ya que este mostró tener mejor estabilidad y distribución de agua y sales.

### **2.5 *Fusarium oxysporum f.sp. radicis lycopersici***

De acuerdo a Mendoza, Z. (1996). el patógeno *Fusarium oxysporum f.sp. radicis lycopersici* Jarvis and Shoemaker (FORL) es morfológica y culturalmente indistinguible de otros aislamientos de *F. oxysporum* pero es distinguible en cuanto a su asociación con *Lycopersicon sp.* y en los síntomas que causa en estas especies. El hongo afecta cultivares de *L. esculentum* resistentes a las razas uno y dos de *F. oxysporum f.sp. lycopersici* (FOL).

Este microorganismo causa la enfermedad comúnmente conocida como “Pudrición de la corona y raíz del tomate”, es una de las enfermedades radicales mas destructivas que ataca a casi todos los cultivares de tomate resistentes a la marchites causada por *F. oxysporum f.sp. lycopersici* (FOL).

Los primeros síntomas generales que presentan los cultivos de tomate a campo abierto consisten en un ligero amarillamiento de los bordes de las hojas más viejas que paulatinamente avanza hacia las hojas superiores. El amarillamiento de las hojas progresa hacia la vena principal y el tejido afectado finalmente muere. Algunas plantas se marchitan rápidamente y se secan al tiempo de la maduración de los primeros frutos, pero en la mayoría de los casos

las plantas se van marchitando lentamente y logran sobrevivir hasta finales de temporada.

Por otra parte, en cultivos de invernadero las plantas afectadas mueren en estado de plántulas y la enfermedad podría confundirse con ahogamiento o damping-off. En las plantas muy afectadas se presenta una necrosis vascular de color café chocolate en el tallo, que se extiende hasta 25 cm sobre la línea del suelo. En la raíz principal hay una pudrición seca y numerosas lesiones de color café gris en el punto de emergencia de las raíces laterales (Mendoza, 1996).

#### **2.5.1 Marchitamiento del Tomate Causado por *Fusarium***

El marchitamiento causado por *Fusarium* es una de las enfermedades más prevalentes y dañinas del tomate, siempre que estas plantas, se cultiven intensivamente. La enfermedad es más destructiva en climas cálidos con suelos cálidos y arenosos de las regiones templadas.

La enfermedad puede causar pérdidas considerables, especialmente en variedades susceptibles y bajo condiciones climáticas favorables. El marchitamiento causado por *Fusarium* se caracteriza por el acaparamiento de las plantas, las cuales en poco tiempo se marchitan y finalmente mueren (Agrios, 1998).

#### ***2.6 Rhizoctonia solani.***

El hongo *Rhizoctonia*, es un organismo del suelo que produce enfermedades graves en muchos hospedantes, ya que afecta las raíces, tallos, tubérculos, cormos, y otros órganos de la planta que se desarrollan en el suelo.

Las enfermedades provocadas por *Rhizoctonia* ocurren en todo el mundo y causan pérdidas en la mayoría de las plantas anuales, incluyendo a las malezas, casi a todas las hortalizas y plantas florales, varios cultivos mayores y también en las plantas perennes tales como los pastos para césped, plantas de ornato perennes, arbustos y árboles. Los síntomas de las enfermedades por *Rhizoctonia* pueden variar un poco en los diferentes cultivos e incluso en una misma planta hospedante, dependiendo de la etapa de crecimiento por la que pase la planta en el momento en que es infectada y de las condiciones ambientales predominantes. En la mayoría de las plantas los síntomas más comunes de las enfermedades provocados por la *Rhizoctonia* principalmente por *Rhizoctonia solani*, son el ahogamiento de las plántulas y la pudrición de la raíz, así como la pudrición y la canchrosis del tallo de las plantas adultas y en proceso de crecimiento. Sin embargo, en algunos hospedantes, la *Rhizoctonia* causa también la pudrición de los órganos vegetales almacenados, así como los tizones o manchas del follaje, especialmente del follaje que se encuentra cerca del suelo (Agrios, 1998).

## **2.7 Métodos de Control de Enfermedades**

Los distintos métodos de control pueden clasificarse como reguladores, culturales, biológicos, físicos y químicos, dependiendo de la naturaleza de los agentes que se utilicen para controlar las enfermedades. Las medidas reguladoras de control ayudan a eliminar los patógenos de sus hospedantes o de cierta área geográfica. La mayoría de las prácticas culturales y métodos de control evitan que las plantas entren en contacto con el patógeno y permiten erradicar o reducir la abundancia de este último en las plantas, en un campo o área geográfica. Los métodos de control biológico y algunos métodos culturales ayudan a mejorar la resistencia del hospedante o favorecen el crecimiento de microorganismos que son antagonistas del patógeno. Por último los métodos de

control físicos y químicos ayudan a proteger a las plantas contra el inoculo del patógeno y a curar una infección que ya está en desarrollo (Agrios, 1998).

### **2.7.1 Control Biológico**

El control biológico de los patógenos, es decir, la destrucción total o parcial de las poblaciones de patógenos por medio de otros organismos, frecuentemente ocurre en la naturaleza. Por ejemplo, existen varias enfermedades en las que el patógeno no puede desarrollarse en ciertas áreas debido a que el suelo, llamado suelo supresor, contiene microorganismos antagónicos al patógeno, o bien porque las plantas que son atacadas por este, también han sido inoculadas en forma natural con microorganismos antagónicos antes o después de que se haya ocurrido el ataque por el patógeno (Agrios, 1998).

El control biológico ha tenido éxito en algunas ocasiones. Las plantas de lechuga cultivadas en suelos infestados con FORL e incorporados al suelo antes de plantar el tomate reduce la incidencia de la enfermedad: En escala comercial, la intercalación del cultivo de lechuga entre cultivos sucesivos de tomate ofrece un medio barato y aún remunerativo del control de la enfermedad. También se ha encontrado que la aplicación al suelo de los hongos *Gliocladium sp.*, *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma harzianum* y *Aspergillus ochraceus* y la micorriza *Glomus intraradices* son efectivas para controlar esta enfermedad (Mendoza, 1996).

#### **2.7.1.1 Efecto Antagónico de *Serratia marcescens* Bizio sobre *Fusarium oxysporum*. *SCHET .f.sp. lycopersici*.**

Se ha encontrado que la bacteria *Serratia marcescens* Bizio, exhibe actividad antagónica sobre bacterias, protozoarios, hongos, insectos y nematodos. Estudios de los efectos antagónicos de *S. marcescens* sobre hongos fitopatógenos, indican que la bacteria inhibe la esporulación, germinación de esporas y el crecimiento micelial e induce alteraciones en la

morfología de las colonias. Zavaleta, 1996, encontró que los aislamientos de *S. marcescens*, NA1- rj (de color rojo intenso) y NA1- rs (de color rosa), reducen significativamente el diámetro de la colonia de *Fusarium oxysporum*. *SCHET.f.sp. lycopersici* tanto en Agar-papa-dextrosa (PDA) como en Agar nutritivo (AN), fue evidente que el efecto antagonista fue mas marcado en AN que en PDA. La inoculación de *S. marcescens* en suelo infestado por *Fusarium oxysporum*. *SCHET.f.sp. lycopersici* resulto en una reducción de un 41% y 90% en el índice de la enfermedad de las plantas de tomate var. Bony Best y Tropic, respectivamente.

#### **2.7.1.2 Control Biológico de la Marchitez por *Fusarium* con una Cepa no Patogénica.**

Recientemente se ha dado a conocer que la marchitez del camote, debida a *Fusarium oxysporum* f.sp *batatas*, se controla con éxito inoculando esquejes de este tubérculo con una cepa no patógena del mismo hongo. Dicha cepa se aisló del tejido vascular de una planta de camote que había permanecido sana entre otras plantas que habían sido destruidas por las cepas inductoras de marchitez (Agrios, 1998).

### **2.8 Generalidades del Cultivo del Tomate.**

#### **2.8.1 Origen e Historia.**

El tomate es originario del sur de América, en tiempos precolombinos se le cultivaba ya en México y Centroamérica y constituía parte de la dieta básica de los antiguos pobladores del continente; la llegada de los españoles permitió la expansión de este producto al viejo continente, y de ahí a todo el mundo. ( Claridades Agropecuarias, 1995).

### **2.8.2 Importancia.**

La producción mundial para el año de 1994 fue de 72910 miles de toneladas métricas, (Claridades Agropecuarias, 1995).

En México se siembran 5.7 millones de has, de las cuales el 1.5% esta ocupado por este cultivo. (Claridades Agropecuarias, 1998).

El tomate esta considerado dentro de las principales hortalizas que produce nuestro país; su producción se extiende a un gran número de estados. Durante el periodo de 1989-1994, las entidades de Sinaloa, Baja California, San Luis Potosí, Jalisco y Nayarit (en orden de importancia) contribuyeron en promedio con el 62% en lo que se refiere a la superficie sembrada y cosechada; y con el 74.2% en lo que se respecta a producción.

Los porcentajes de superficie sembrada en cada estado son: Sinaloa 47.8%, Baja California 10.7%, San Luis Potosí 7.8%, Jalisco 4.2%, Nayarit 4.0%, otros 25.8%, en el periodo 1989-1993.

Los rendimientos nacionales durante el periodo 1989-1994 fueron de 24.7, 23.1, 23.6, 18.2, 22.5, 21.9 ton/ha, siendo Sinaloa y Baja California los estados que obtuvieron los rendimientos más altos durante este periodo (Claridades Agropecuarias, 1998).

### **2.8.3 Características Botánicas y Taxonómicas.**

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas. El ovario, súpero, bicarpelar, contiene numerosos primordios seminales, produciendo bayas polispermas. (Nuez, 1995).

Siguiendo a Valadez, 1997, la taxonomía aceptada es :

Clase : *Dicotiledóneas*  
Orden : *Solanales*  
Familia : *Solanaceae*  
Genero : *Lycopersicon*  
Especie : *esculentum*

El genero *Lycopersicon* se caracteriza por sus estambres únicos, con conectivos alargados. En el tomate y especies silvestres relacionadas los extremos de las anteras se mantienen unidos formando un cuello, constituyendo el conjunto de las anteras un cono estaminal característico en forma de botella. De manera asociada, las anteras se abren lateralmente, a diferencia de la dehiscencia terminal o poral característica de *Solanum*. El polen se libera dentro del cono estaminal y emerge a través del cuello del cono (Nuez, 1995).

## 2.9 Estomas

Los estomas son aperturas en la epidermis rodeadas por dos células oclusivas; mediante cambios de forma las células oclusivas controlan el tamaño de la apertura. Esta apertura conduce al interior de un amplio espacio intercelular llamado cámara subestomática, que continua con los espacios intercelulares del mesófilo (Esau, 1972).

En muchas plantas dos o mas células adyacentes a las oclusivas parecen estar asociadas funcionalmente a ellas y se distinguen por su morfología de otras células epidérmicas, se les llama Células Anexas o adjuntas. Las células oclusivas son generalmente de forma arriñonada vistas de frente y engrosamiento de la membrana en los brotes superior e inferior (Esau, 1972).

Los estomas son muy frecuentes en las partes verdes aéreas de las plantas , particularmente en las hojas (Esau, 1972).

### **2.9.1 Densidad Estomática.**

La frecuencia o densidad estomática, que es el número de estomas por unidad de área ( $\text{mm}^2$ ), presenta una gran componente de variación ambiental, por lo que puede diferir entre plantas de la misma especie, entre hojas de la misma planta y entre sectores de una misma hoja (Esau, 1972).

### **2.9.2. Factores que Impactan Sobre la Actividad de los Estomas y Densidad Estomática.**

#### **2.9.2.1 Luz.**

La irradiancia y la calidad espectral son determinantes en las características de la epidermis foliar. Allard et al. (1991a) encontraron que la densidad estomática total fue menor en un 17-24 % en plantas sometidas a baja irradiancia ( $600 \mu\text{mol m}^2.\text{s}^{-1}$  de PPFD), encontrando además una reducción mayor en la superficie abaxial que en la adaxial. Lo mismo fue observado por Woledge (1977), quien además reportó la ausencia de diferencias en la forma de las células Guarda entre hojas desarrolladas en condiciones de alta y baja irradiancia.

La anatomía foliar es importante en la determinación de los trayectos de los rayos luminosos y de la reflexión interna de los tejidos. Allard et al. (1991a) encontraron un incremento de 25 % en la cantidad de espacios aéreos en el mesófilo de plantas (*Festuca arundinacea* Schreb) desarrollados en condiciones de baja irradiancia en comparación con plantas desarrolladas en alta irradiancia.

#### **2.9.2.2 Dióxido de Carbono ( $\text{CO}_2$ )**

Son interesantes los resultados de Ramonell et al. (1997) quienes encontraron que factores que favorecen la actividad fotosintética (alto  $\text{CO}_2$  o

Bajo O<sub>2</sub>) dan lugar a los cambios fenotípicos similares en las hojas, encontrándose entre dichos cambios la modificación de la frecuencia estomatica. Es decir los autores no encontraron un fenotipo especializado para alta concentración de CO<sub>2</sub> o para déficit de O<sub>2</sub>, la respuesta fenotípica parece ser la misma.

### III MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Ubicación del Área Experimental.

El experimento se realizó a nivel de prueba *In Vitro* en el laboratorio de Parasitología Agrícola y en el invernadero de Parasitología Agrícola a nivel de plántula; ambos pertenecientes a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), localizado en Buenavista, Saltillo, Coahuila, cuyas coordenadas geográficas son: 25° 02' 00" de latitud Norte y 101° 01' 00" de longitud Oeste, con una altitud de 1743 msnm.

##### 3.1.1 Descripción del Área Experimental.

###### 3.1.1.1 Clima.

De acuerdo con la clasificación de Köppen modificada por García (1973), el tipo de clima es BWhw (x') (e'); esto significa: seco y templado con lluvias en verano con temperaturas extremosas.

#### 3.2 Material Utilizado.

- El material biológico con el cual se experimentó fueron cepas de *Bacillus sp.* nativas de la región e Identificadas como: \*3, T-1-2, T-10-2, BCC, B15, T-9-1 y T-13-2, además de una cepa de *Fusarium oxysporum* y otra de *Rhizoctonia solani*.
- Espumas hidrofílicas que cuentan con una parte sintética que es el poliuretano (PU) y una parte natural (almidón), estas espumas se utilizaron para inmovilizar a los microorganismos (bacterias, hongo), así como sustrato al ser mezclada con el peat moss XB (s. convencional). y,

- Peat moss XB que se emplea como sustrato convencional para la producción de plántulas de tomate.

### **3.2.1 Cepas de *Bacillus sp.***

Estas cepas fueron desarrolladas, purificadas y cultivadas por el Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN. Siguiendo la metodología típica para su propagación, que consiste en sembrar los microorganismos anteriormente mencionados el medio de cultivo que es. Posteriormente las cajas se incubaron a 27 °C por 48 horas. Finalmente se realizó una serie de diluciones para cada cepa y de acuerdo a estas diluciones se obtuvo por medio de conteo de colonias la concentración real del inóculo de *Bacillus sp.*, la cual fue de  $1 \times 10^8$  ufc ml<sup>-1</sup>.

### **3.2.2 Cepa de *Fusarium oxysporum***

Fue proporcionada por el departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN. Para su siembra y propagación se empleo como medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA), incubándose por 72 horas a 27 °C. Por último, se realizaron una serie de diluciones para obtener la concentración deseada de ufc.

### **3.2.3 Cepa de *Rhizoctonia solani*.**

Fue proporcionada por el departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN. Se cultivo de la misma modo que la cepa de *Fusarium oxysporum*.

### **3.2.4 Material Vegetal.**

Se utilizó el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*) de la variedad “Río Grande”.

### **3.2.5 Espumas Hidrofílicas.**

En la formulación de las espumas de poliuretano-almidón se emplearon los siguientes productos químicos que fueron suministrados por Viar

Corporación, S.A. de C.V., México, D.F. y fueron utilizados sin posterior purificación: poliol Arcol 3022 con un Mw de 3000, el proveedor especifica que el contenido de hidroxilos se encuentra en el intervalo de 54.5 a 57.5 (mg KOH/g), surfactante DC-5460, catalizador de espumado basado en estaño T-9, catalizador de gelación BL-33, 2,4-toluen-diisocianato TDI (mezcla con el 2,6-toluen-diisocianato en una relación de 80/20), colorante Negro de Humo. El polisacárido fue un almidón comercial marca Maizena adquirido en un centro comercial.

### 3.3 Descripción de los Tratamientos.

Los tratamientos experimentales realizados en el laboratorio para efectuar las pruebas de antagonismo *In Vitro* de las siete cepas de *Bacillus sp.* contra los hongos *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* aparecen descritos en el cuadro 3.3.1, los tratamientos evaluados en el cultivo de tomate en la etapa de plántula aparecen descritos en el cuadro 3.3.2, y los tiempos de aplicación del estrés, periodos de recuperación y muestreos aparecen descritos en el cuadro 3.3.3

**Cuadro 3.3.1.** Tratamientos evaluados en el laboratorio para las pruebas de antagonismo *In Vitro*.

| TRATAMIENTO | DESCRIPCIÓN                     |
|-------------|---------------------------------|
| *3          | <i>Bacillus sp.</i> Cepa *3     |
| T-1-2       | <i>Bacillus sp.</i> Cepa T-1-2  |
| T-10-2      | <i>Bacillus sp.</i> Cepa T-10-2 |
| B15         | <i>Bacillus sp.</i> Cepa B15    |
| T-9-1       | <i>Bacillus sp.</i> Cepa T-9-1  |
| T-13-2      | <i>Bacillus sp.</i> Cepa T-13-2 |
| BCC         | <i>Bacillus sp.</i> Cepa BCC    |
| TESTIGO     | Sin bacteria.                   |

**Cuadro 3.3.2.** Tratamientos evaluados en el cultivo del tomate en invernadero, en la etapa de plántula.

| Tratamiento                                 | Descripción                                                                           |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Testigo (T)                                 | Peat moss                                                                             |
| Testigo + <i>Fusarium oxysporum</i> (TF)    | Peat moss + <i>Fusarium oxysporum</i> .                                               |
| Sustrato + bacteria + Hongo (*3)            | Sustrato + <i>Bacillus</i> sp. cepa *3 + <i>Fusarium oxysporum</i> .                  |
| Sustrato + bacteria + Hongo (BCC)           | Sustrato + <i>Bacillus</i> sp. cepa BCC + <i>Fusarium oxysporum</i> .                 |
| Sustrato + bacteria + Hongo (B15)           | Sustrato + <i>Bacillus</i> sp. cepa B15 + <i>Fusarium oxysporum</i> .                 |
| Sustrato + mezcla de bacterias (M)          | Sustrato + mezcla de <i>Bacillus</i> sp. (*3, BCC, B15).                              |
| Sustrato + mezcla de bacterias + hongo (MF) | Sustrato + mezcla de <i>Bacillus</i> sp. (*3, BCC, B15) + <i>Fusarium oxysporum</i> . |

**Cuadro 3.3.3.** Esquema de tiempos de muestreo, periodo de estrés y periodo de recuperación.

| Fecha            | Actividad realizada             |
|------------------|---------------------------------|
| 16 de Mayo       | Siembra                         |
| 9 – 15 de Junio  | Aplicación del primer estrés    |
| 16 de Junio      | Primer muestreo                 |
| 16 – 18 de Junio | Primer periodo de recuperación  |
| 19 de Junio      | Segundo muestreo                |
| 19 – 25 de Junio | Aplicación del segundo estrés   |
| 22 de Junio      | Tercer muestreo                 |
| 26 – 28 de Junio | Segundo periodo de recuperación |
| 29 de Junio      | Cuarto muestreo                 |

Los siete tratamientos (Cuadro 3.3.2) se pusieron en cada charola. Se sembraron dieciséis charolas de las cuales en ocho se utilizó Peat moss como sustrato y en las otras ocho se utilizó Peat moss más espuma hidrofílica al 5% (V/V).

Las bacterias fueron inoculadas al sustrato en una concentración de  $1 \times 10^8$  ufc ml<sup>-1</sup> al igual que el hongo.

#### **3.3.4 Diseño Experimental.**

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial, para las pruebas antagónicas *In Vitro* ocho tratamientos x dos hongos; para las plántulas de tomate en el invernadero, siete tratamientos x dos sustratos x dos condiciones (total 28 tratamientos diferentes).

### **3.4 Establecimiento del experimento.**

#### **3.4.1 Pruebas Antagónicas In Vitro.**

El material utilizado fue: siete cepas de *Bacillus sp.* (Cepas \*3, T-1-2, T-10-2, BCC, B15, T-9-1 y T-13-2), una cepa de *Fusarium oxysporum* y una cepa de *Rhizoctonia solani*. Se sembraron dos repeticiones por cepa y dos repeticiones para un testigo para cada hongo, en cajas petri en medio de cultivo PDA el 2 de Abril del 2003 (se sembraron en total 16 cajas petri). En cuatro puntos equidistantes de la caja petri se puso una gota de solución bacteriana obtenida de la solución madre, en el centro de la caja petri se puso un disco de agar conteniendo el micelio del hongo. Posteriormente se pusieron en la incubadora a 27 °C y se midió el diámetro de crecimiento del hongo mediante un cuenta colonias y una regla milimétrica a cada 24 hrs durante los siguientes seis días.

### 3.4.2 Tomate Plántula.

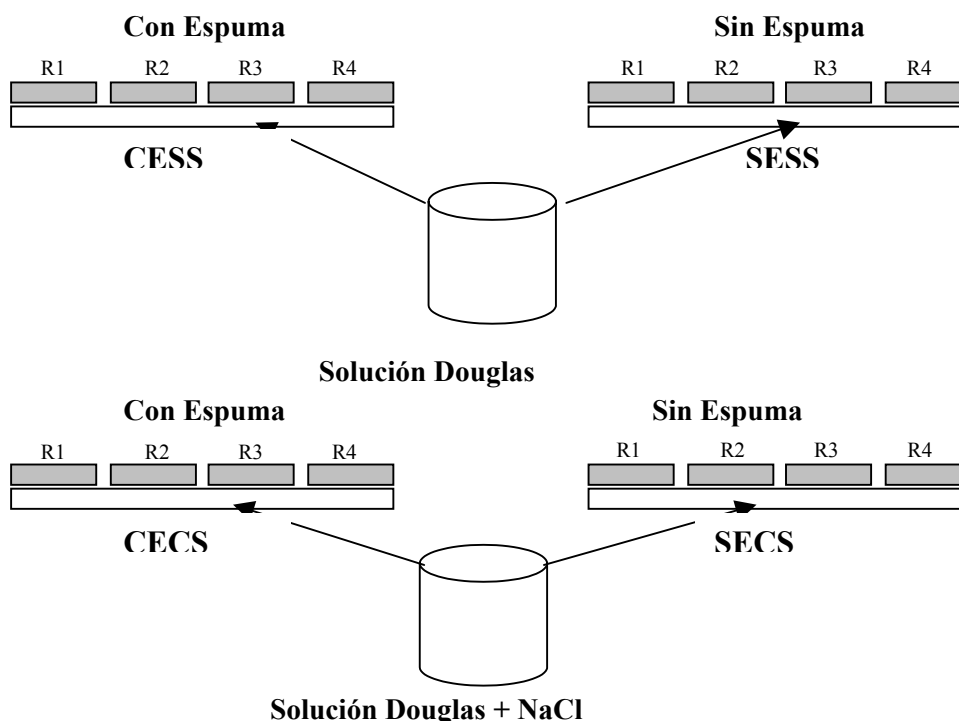
El material vegetativo utilizado fue Tomate variedad Rio grande, éste se sembró en 16 charolas de 200 cavidades cada una, el día 16 de Mayo del 2003. Se establecieron los siete tratamientos en cada charola (Figura 3.4.2.1), ocho charolas con espuma (CE) y ocho sin espuma (SE), de las ocho charolas CE a cuatro se les aplicó el estrés salino (CS) a 250 mM de NaCl y las otras cuatro se regaron con solución Douglas normal (SS); de las ocho charolas SE a cuatro se les aplicó el estrés salino (CS) y las otras cuatro se regaron con solución Douglas normal (SS). De esta manera se tuvieron 28 tratamientos con cuatro repeticiones (Figura 3.4.2.2).

El inóculo ( $5 \times 10^8$  ufc  $\text{ml}^{-1}$ ) de las cepas de *Bacillus sp.* fue incorporado por medio de la espuma hidrofílica al igual que *Fusarium oxysporum* en las charolas en donde se utilizó peat moss mas espuma como sustrato. En las charolas en las que no se adiciona la espuma, tanto las bacterias como el hongo se le incorporaron al peat moss directamente.

| *3 |   | BCC |   | B15 |   | MF |   | M |   | TF |   | T |   |
|----|---|-----|---|-----|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |
| *  | * | *   | * | *   | * | *  | * | * | * | *  | * | * | * |

**Figura 3.4.2.1.** Distribución de los tratamientos en cada charola.

Las charolas se acomodaron en cuatro filas que incluyeron cuatro charolas cada una utilizando solución Douglas completa como agua de riego, el riego se inició el día 4 de Junio del 2003. Contando la planta con dos hojas verdaderas el día 9 de Junio, se aplicó durante siete días una solución salina (250 mM de NaCl por litro de solución de riego), a ocho charolas (Charolas marcadas con CECS y SECS), aplicando en las otras ocho charolas (CESS y SESS) únicamente la solución Douglas, Figura 3.4.2.2.



**Figura 3.4.2.2.** Esquema de la aplicación de los tratamientos.

Trascurrido el tiempo del estrés se permitió un período de recuperación de tres días (sin aplicar el exceso de NaCl), para posteriormente repetir el tratamiento de estrés salino. Se tomaron cuatro muestras de biomasa fresca y seca, tomando tres plantas por tratamiento por repetición para cada muestra, (Cuadro 3.3.3). El 29 de Junio se termino de tomar datos y se tomaron las muestras para hacer el conteo de estomas

### **3.5 Variables Evaluadas.**

#### **3.5.1 Crecimiento del Hongo In Vitro**

Para estimar esta variable con ayuda de una regla graduada en centímetros y milímetros y un cuenta colonias se midió el diámetro de crecimiento del hongo entre dos puntos equidistantes (donde se aplicó la solución bacteriana) en la caja petri. El crecimiento se midió en dirección Norte – Sur y en dirección Este – Oeste. En todas las cajas petri.

#### **3.5.2 Biomasa.**

Para estimar los valores de esta variable se eligieron tres plantas por cada repetición de cada uno de los tratamientos y se procedió a pesar por separado la parte aérea de la parte radicular de las plántulas utilizando una balanza analítica marca OHAUS para obtener los pesos frescos de las mismas. Posteriormente el material vegetativo fresco se introdujo a una estufa de secado por 48 horas a 70°C; transcurrido el tiempo se volvieron a pesar las muestras para determinar su peso seco.

#### **3.5.3 Crecimiento Radicular.**

Para estimar esta variable se hizo lo mismo que en la variable anterior, solo que, las medidas se tomaron de la parte donde iniciaba la raíz hasta la parte más inferior de la raíz.

#### **3.5.4 Número de Hojas.**

Esta variable se determinó realizando un conteo de todas las hojas verdaderas de cada planta. Tomándose las mismas plantas de la variable anterior.

#### **3.5.5 Altura de Planta.**

Para estimar esta variable se tomaron las mismas tres plantas de la variable anterior después de tomar el peso fresco aéreo y radicular, con ayuda

de una regla graduada en centímetros y milímetros se midió de la parte donde iniciaba el tallo hasta la altura de la última hoja.

### **3.5.6 Número de foliolos.**

Esta variable se determinó realizando un conteo de todos los foliolos bien extendidos de cada planta. Tomándose las mismas plantas de la variable anterior.

### **3.5.7 Densidad Estomática y de Células Tabloides adaxial y Abaxial.**

Esta variable se determinó realizando un conteo del número de estomas y el número de células tabloides, se tomaron 2 plantas de cada tratamiento en las charolas de la repetición 1 y 2. En cada planta se tomaron impresiones foliares en el haz (lado adaxial) y en el envés (lado abaxial) de la hoja más juvenil totalmente expandida con orientación hacia el oriente. Utilizando Cemento para PVC; se aplica sobre la superficie foliar y se deja secar. La muestra es extraída con un trozo de cinta adhesiva transparente, la cual se adhiere posteriormente sobre un portaobjetos de vidrio el cual se observa al microscopio con el objetivo de 40X. En cada impresión foliar se realizaron conteos de Estomas y de Células Tabloides en 4 campos de la muestra elegidos al azar. Con la ayuda del microscopio compuesto se hizo el conteo con el objetivo de 40 x.

Para estimar el área del campo microscópico, que posteriormente se utiliza para calcular la densidad estomática, se utilizó la fórmula para estimar el diámetro del campo que es igual :

**Diámetro de campo: Ocular 10x/ Objetivo 40x= 0.25 mm de diámetro en el plano del objetivo = 0.196 mm<sup>2</sup>      A= 0.0491 mm<sup>2</sup>**

Para calcular el total de la densidad estomática se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad estomática} = \left[ (\text{N}^\circ. \text{ de estomas}) / (\text{Unidad de área en mm}^2) \right]$$

### **3.5.8 Índice estomático adaxial y abaxial.**

Para esta variable se toman los datos del conteo de estomas y células tabloides y se calcula el índice estomático mediante la siguiente formula:

$$\text{I. estomático} = (\text{N}^\circ \text{ estomas}) * (100) / \text{N}^\circ \text{ estomas} + \text{N}^\circ \text{ células tabloides})$$

Se tenia estimado evaluar la incidencia y severidad del hongo en las plántulas pero no se anota como variable ya que no se presento ninguna planta infestada por el hongo. Esto se pudo haber dado a que el hongo *Fusarium oxysporum* se presenta con mayor frecuencia cuando la planta empieza a fructificar, o por lo regular ataca plantas débiles.

## IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Crecimiento del Hongo *In Vitro*.

El cuadro 4.1.1 muestra los resultados del crecimiento *In Vitro* promedio del hongo que arrojaron los seis muestreos, sobre las diferentes Cepas de *Bacillus sp.*, las claves de interpretación se muestran en la parte inferior del mismo.

Conforme a lo obtenido podemos decir que si existe diferencia significativa entre las cepas en cuanto al crecimiento del hongo, excepto en las cepas T-1-2 y T-10-2 que fue donde el hongo alcanzo un mayor crecimiento. El resto de las cepas (\*3, B15, BCC, T-13-2 y T-9-1) superaron al Testigo ya que presentaron un alo de inhibición el cual no permitió que el hongo se desarrollara en todo el diámetro de la caja petri; de estas ultimas cepas, B15 es la que permitió que el hongo alcanzara un crecimiento mayor que las demás cepas, pero menor que el testigo. Entre hongos hubo diferencia significativa en cuanto a crecimiento ya que *Rhizoctonia solani* presento un mayor crecimiento comparado con *Fusarium oxysporum*. Esto se puede deber a que *Rhizoctonia solani* tiene un crecimiento mas acelerado, porque tiene la capacidad de desarrollarse mas rápido comparado con *Fusarium oxysporum*. La interacción cepas x hongo no presenta diferencia significativa (Cuadro 4.1.1).

### 4.2 Biomasa de las Plántulas de Tomate.

El cuadro 4.2.1 muestra los resultados que arrojaron los muestreos de biomasa en los cuatro muestreos tanto en plantas sometidas a estrés salino como en plantas que no fueron estresadas; las claves de interpretación se muestran en la parte inferior del mismo.

**Cuadro 4.1.1** Valores Promedios del crecimiento del hongo sobre las diferentes Cepas de *Bacillus sp.*

| Hongo         | Crecimiento cm        |
|---------------|-----------------------|
| FO            | 4.322                 |
| RS            | 5.834                 |
| Bacteria      | Crecimiento (Hongo)cm |
| *3            | 4.538 a               |
| B15           | 4.904 ab              |
| BCC           | 4.504 a               |
| T-1-2         | 5.950 b               |
| T-10-2        | 5.879 b               |
| T-13-2        | 4.383 a               |
| T-9-1         | 4.717 a               |
| TESTIGO       | 5.75 b                |
| Significancia |                       |
| Cepas         | 0.012                 |
| Hongo         | $P < 10^{-3}$         |
| Cepas * Hongo | NS                    |

Los promedios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según una prueba de DMS con  $\alpha = 0.05$ . **FO** = *Fusarium oxysporum*; **RS** = *Rhizoctonia solani*; **\*3, B15, BCC, T-1-2, T-10-2, T-13-2 y T-9-1** = Cepas de la bacteria *Bacillus spp.* **TESTIGO**: Siembra del hongo sin la bacteria; **NS** = No significativo.

**Cuadro 4.2.1.** Resultados obtenidos en plántulas de tomate durante los cuatro muestreos, con y sin estrés.

| Factor               | PSA †         | PSR †         | PFA †         | PFR †         | PSR_A †   |
|----------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| <b>Sal</b>           |               |               |               |               |           |
| 0                    | 0.504 a ‡     | 0.142 a ‡     | 3.807 a ‡     | 0.999 a ‡     | 0.305 a ‡ |
| 250 mM               | 0.242 b       | 0.07149 b     | 2.382 b       | 0.525 b       | 0.308 a   |
| <b>Espuma</b>        |               |               |               |               |           |
| Sin                  | 0.364 b       | 0.104 b       | 2.923 b       | 0.710 b       | 0.302 a   |
| Con                  | 0.382 a       | 0.110 a       | 3.267 a       | 0.814 a       | 0.311 a   |
| <b>Bacterias</b>     |               |               |               |               |           |
| *3                   | 0.362 a       | 0.103 a       | 2.726 c       | 0.684 c       | 0.307 a   |
| B15                  | 0.371 a       | 0.108 a       | 3.134 b       | 0.782 ab      | 0.315 a   |
| BCC                  | 0.371 a       | 0.104 a       | 2.985 b       | 0.762 ab      | 0.299 a   |
| M                    | 0.380 a       | 0.107 a       | 3.414 a       | 0.826 a       | 0.302 a   |
| MF                   | 0.376 a       | 0.111 a       | 3.104 b       | 0.782 ab      | 0.329 a   |
| T                    | 0.374 a       | 0.107 a       | 3.111 b       | 0.756 abc     | 0.302 a   |
| TF                   | 0.375 a       | 0.105 a       | 3.153 b       | 0.742 bc      | 0.291 a   |
| <b>Significancia</b> |               |               |               |               |           |
| Sal                  | $P < 10^{-3}$ | $P < 10^{-3}$ | $P < 10^{-3}$ | $P < 10^{-3}$ | NS        |
| Espuma               | 0.001         | 0.006         | $P < 10^{-3}$ | $P < 10^{-3}$ | NS        |
| Bacterias            | NS            | NS            | $P < 10^{-3}$ | $P < 10^{-3}$ | NS        |
| Sal x Espuma         | NS            | NS            | NS            | NS            | 0.031     |
| Sal x Bacterias      | NS            | NS            | $P < 10^{-3}$ | 0.041         | NS        |
| Espuma x Bacteria    | 0.036         | NS            | $P < 10^{-3}$ | $P < 10^{-3}$ | NS        |

† Es el promedio de los cuatro muestreos, ‡Medias dentro de columnas con la misma letra, son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ). **PFA** = Peso Fresco Aéreo, **PFR** = Peso Fresco Raíz, **PSA** = Peso Seco Aéreo, **PSR** = Peso Seco Raíz. **PSR\_A** =Relación del Peso Seco Radicular sobre el Peso Seco Aéreo.

Se puede observar la diferencia que existe entre plantas sometidas a estrés salino y plantas sin estrés ya que los valores en cuanto a Peso fresco y Peso seco de la parte aérea y radicular son significativamente diferentes. Esto es similar a lo dicho por Larcher, 1995, quien cita que un retardo de crecimiento en plantas, es debido a que el contenido de sales afecta los procesos como la glicólisis, el ciclo de Krebs, entre otros. En cuanto a la espuma si se encontró diferencia comparada con las plantas a las que no se les adiciono la espuma, esto fue contrario a lo que encontraron Emiliano, 2002 y González, 2003, quienes concluyen que los biopolímeros a base de almidón no tienen efecto sobre la biomasa de plántulas de brócoli y de lechuga respectivamente. En cuanto a las bacterias en lo que se refiere a PSA y PSR no mostraron diferencia significativa, excepto en el PFA y PFR que fue donde mostraron diferencia significativa, destacando entre tratamientos la Mezcla de las cepas (M), no así en la cepa \*3 ya que muestra resultados desfavorables. Esto pudo ser debido a la habilidad que tuvieron las bacterias de aumentar la síntesis de especies activas de oxígeno, las cuales son señalizadoras de las respuestas de defensa, según lo citado por Ryals et al. (1994). En cuanto a la relación de peso seco radicular sobre el peso seco aéreo (PSR\_A) las cepas no presentan diferencia significativa ya que todos los tratamientos se comportaron de la misma manera. También se puede observar que en todos los tratamientos el peso seco aéreo fue mayor que el peso seco radicular. En la interacción sal x espuma no se presentó diferencia significativa; no así para las interacciones sal x bacteria y bacteria x espuma que presentan diferencia significativa excepto en el PSR, en PSA la interacción sal x bacteria tampoco muestra diferencia significativa (Cuadro 4.2.1).

### **4.3 Altura de Planta**

En el Cuadro 4.3.1 se plasman los resultados de la altura de planta promedio de los cuatro muestreos. En esta variable la presencia del estrés

salino ocasiono una menor altura de plantas esto es similar a lo dicho por Larcher, 1995, , quien cita que un retardo de crecimiento en plantas, es debido a que el contenido de sales afecta los procesos como la glicólisis, el ciclo de Krebs, entre otros; y lo reportado por González, 2003, quien reporta que las plantas de tomate sometidas a estrés salino presentaron una menor altura; Maiti, 2002, también coincide en esto ya que dice que el efecto general de la salinidad es reducir la tasa de crecimiento, debido a su efecto osmótico en la planta. En cuanto a el uso de la Espuma Hidríflica se encontró diferencia significativa ya que las plantas que se sembraron en Peat moss mas Espuma Hidríflica tuvieron una mayor altura que las que se sembraron en puro Peat moss, contrario a lo que reporta Emiliano, 2002, quien encontró que las espumas hidrofílicas no tuvieron efecto en la altura de plántulas de brócoli sometidas a estrés hídrico.

En cuanto a los tratamientos se encontró diferencia significativa de el tratamiento de la Mezcla de las Cepas (M), ya que en este tratamiento se obtuvieron plantas de mayor tamaño, no así en el tratamiento \*3 que se reporto las plantas de menor tamaño.

#### **4.4 Longitud Radicular**

En el Cuadro 4.3.1 se plasman los resultados de la longitud radicular de la planta, promedio de los cuatro muestreos. Para esta variable también existe diferencia en cuanto al estrés salino, ya que las plantas que no se sometieron al esteres presentaron diferencia en cuanto a la longitud radicular comparada con la de las plantas estresadas. No sucedió lo mismo con la espuma ya que en esta no hubo diferencia y las plantas se comportaron igual con y sin espuma, no coincidiendo con lo que concluye Emiliano Terrazas, 2002, los biopolímeros hidrofílicos en base de almidón tienen efecto sobre la longitud de raíz en la plántula de brócoli bajo condiciones de estrés. Lo mismo sucedió con los

tratamientos ya que estos se comportaron casi de la misma manera, presentando una pequeña diferencia el tratamiento M comparado con los demás tratamientos.

#### **4.5 Numero de Hojas**

En el Cuadro 4.3.1 se plasman los resultados del numero de hojas, en promedio de los cuatro muestreos. Para esta variable se encuentra diferencia significativa entre las plantas con estrés salino y las plantas sin el estrés, ya que podemos observar que las plantas regadas con Solución Douglas Normal presentan un mayor numero de hojas, esto puede ser debido a que el numero de hojas esta íntimamente relacionado con la altura de la misma y como la sal tuvo efecto negativo en el crecimiento de la planta, mencionado por Maiti, *et al* 2002, que dice que el efecto general de la salinidad es reducir la tasa de crecimiento, debido a su efecto osmótico en la planta, es por ello que se podría pensar que la sal disminuyera el numero de hojas. En cuanto a la espuma presenta diferencia, ya que a los tratamiento a los que se les adiciono la espuma hidrofílica presentaron un mayor numero de hojas, difiriendo de lo que encontró Emiliano Terrazas, 2002, quien reporta que no hubo significancia entre tratamientos ( con y sin espuma). Los tratamientos no tuvieron diferencia ya que todos se comportaron de la misma manera.

#### **4.6 Numero de Foliolos**

En el Cuadro 4.3.1 se plasman los resultados del numero de foliolos, en promedio de los cuatro muestreos. En esta variable, la sal, la espuma y las bacterias muestran diferencia significativa, ya que la sal y la espuma se comportan de la misma manera que en la variable del numero de hojas, aunque en este caso la espuma tiene mas significancia que en la variable anterior.

**Cuadro 4.3.1** Valores Promedios de las plántulas de tomate durante los cuatro muestreos, con y sin estrés.

| Factor               | ALT <sup>†</sup>      | Longraiz <sup>†</sup> | NumHoja <sup>†</sup> | Numfol <sup>†</sup>   |
|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| <b>Sal</b>           |                       |                       |                      |                       |
| 0                    | 23.895 a <sup>‡</sup> | 7.847 a <sup>‡</sup>  | 4.243 a <sup>‡</sup> | 13.213 a <sup>‡</sup> |
| 250 mM               | 16.886 b              | 7.586 b               | 3.138 b              | 8.942 b               |
| Espuma               |                       |                       |                      |                       |
| Sin                  | 19.964 b              | 7.707 a               | 3.641 b              | 10.682 b              |
| Con                  | 20.818 a              | 7.726 a               | 3.740 a              | 11.473 a              |
| <b>Bacterias</b>     |                       |                       |                      |                       |
| T                    | 20.498 ab             | 7.743 ab              | 3.688 a              | 11.214 ab             |
| TF                   | 21.004 ab             | 7.574 ab              | 3.693 a              | 11.479 a              |
| *3                   | 18.904 c              | 7.440 b               | 3.693 a              | 10.667 b              |
| BCC                  | 19.945 bc             | 7.743 ab              | 3.609 a              | 10.693 b              |
| B15                  | 20.842 ab             | 8.102 a               | 3.656 a              | 10.974 ab             |
| M                    | 21.302 a              | 7.717 ab              | 3.755 a              | 11.547 a              |
| MF                   | 20.239 ab             | 7.696 ab              | 3.740 a              | 10.969 ab             |
| <b>Significancia</b> |                       |                       |                      |                       |
| Sal                  | $P < 10^{-3}$         | 0.024                 | $P < 10^{-3}$        | $P < 10^{-3}$         |
| Espuma               | $P < 10^{-3}$         | NS                    | 0.006                | $P < 10^{-3}$         |
| Bacterias            | $P < 10^{-3}$         | NS                    | NS                   | $P < 10^{-3}$         |
| Sal x Espuma         | NS                    | NS                    | NS                   | NS                    |
| Sal x Bacterias      | 0.003                 | 0.043                 | NS                   | NS                    |
| Espuma x Bacteria    | NS                    | NS                    | NS                   | NS                    |

<sup>†</sup> Es el promedio de los cuatro muestreos, <sup>‡</sup>Medias dentro de columnas con la misma letra, son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ). **ALT** = Altura de planta, **Longraiz** = Longitud radicular, **NumHoja** = Numero de hojas, **Numfol** = Numero de foliolos. **NS** = No significativo.

El comportamiento que presentan las plántulas se debe a que el número de folíolos está íntimamente relacionado con el número de hojas, es decir, si aumenta el número de hojas, aumenta el número de folíolos. En cuanto a los tratamientos los que presentan diferencia significativa son M y TF, ya que presenta un mayor número de folíolos promedio. Las interacciones sal x espuma, sal x bacteria y bacteria x espuma no mostraron diferencia significativa para ninguna de las variables del cuadro 4.3.1, excepto la interacción sal x bacterias que presentó diferencia significativa en altura de planta y longitud radicular.

#### **4.7 Densidad Estomática Adaxial y Abaxial**

El cuadro 4.7.1, muestra los resultados que arrojaron los muestreos de, densidad estomática y densidad de células tabloides, tanto en el haz como en el envés; las claves de interpretación se muestran en la parte inferior del mismo.

Para la variable de Densidad de Células Tabloides (Cuadro 4.7.1), se observa que en los tratamientos en los que no se aplicó el estrés salino se tiene un mayor número de células tabloides tanto en el lado adaxial como en el lado abaxial, no sucede lo mismo con la espuma ya que en esta no se encuentra diferencia en cuanto al número de células tabloides en el lado adaxial y el lado abaxial, difiriendo con Emiliano, 2002, quien concluye que los biopolímeros hidrofílicos en base de almidón, tienen efecto sobre la densidad de células tabloides en la plántula de brócoli, bajo condiciones de estrés. En cambio si se encuentra diferencia entre las bacterias en las cuales se tiene un mayor número de Células Tabloides en el lado abaxial en el tratamiento \*3, en el lado adaxial también se presenta diferencia, el mejor tratamiento fue T y el peor fue \*3, que en el lado abaxial fue el mejor. En todos los tratamientos, con o sin sal o espuma el número de células tabloides es mayor en el lado abaxial que en el adaxial.

Para la densidad estomatica (Cuadro 4.7.1) la sal presenta diferencia significativa en el lado adaxial y en el lado abaxial, en el lado abaxial presenta mayor numero de estomas los tratamientos que no se les aplico el estrés y en el lado adaxial presentan mayor numero de estomas los tratamientos a los cuales si se les aplico el estrés, en cuanto a la espuma existe diferencia en el los tratamientos con espuma en el lado adaxial, pero en el lado abaxial no existe diferencia, difiriendo de Emiliano, 2002, quien concluye que los biopolímeros hidrofílicos en base de almidón, tienen efecto sobre la densidad estómatica de la plántula de brócoli, bajo condiciones de estrés, en cuanto a las bacterias presenta diferencia significativa, comportándose mejor en tratamiento T, tanto en el lado adaxial como en el abaxial. En todos los tratamientos con o sin sal o espuma el numero de estomas fue mayor en el lado abaxial que en el lado adaxial, coincidiendo con Emiliano, 2002, quien concluye que en el envés hubo mas estomas por unidad de superficie, en cualquier nivel de estrés. En cuanto a las interacciones sal x espuma, sal x bacteria y espuma x bacteria, se encontró diferencia significativa para las tres interacciones para la densidad de células tabloides tanto abaxial como adaxial a excepción de la interacción sal x espuma, para la densidad de células tabloides abaxial, que no presenta diferencia significativa.

#### **4.8 Índice Estomático Adaxial y Abaxial**

El cuadro 4.8.1 muestra los resultados que arrojaron los muestreos de índice estomático; las claves de interpretación se muestran en la parte inferior del mismo.

**Cuadro 4.7.1,** Resultados derivados de los muestreos de la Densidad Estomática y Densidad de Células Tabloides, Adaxial y Abaxial.

| Factor               | DCTE <sup>†</sup>       | DCTH <sup>†</sup>       | DEE <sup>†</sup>       | DEH <sup>†</sup>       |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| <b>Sal</b>           |                         |                         |                        |                        |
| 0                    | 2602.197 a <sup>‡</sup> | 2096.578 a <sup>‡</sup> | 808.481 a <sup>‡</sup> | 147.476 b <sup>‡</sup> |
| 250 mM               | 2401.349 b              | 1679.881 b              | 518.439 b              | 206.303 a              |
| <b>Espuma</b>        |                         |                         |                        |                        |
| Sin                  | 2487.998 a              | 1888.820 a              | 651.640 a              | 165.297 b              |
| Con                  | 2515.548 a              | 1887.638 a              | 675.280 a              | 188.482 a              |
| <b>Bacterias</b>     |                         |                         |                        |                        |
| *3                   | 2682.981 a              | 1806.581b               | 661.278 bc             | 153.068 c              |
| B15                  | 2552.189 ab             | 1881.046 ab             | 619.908 bc             | 154.341 c              |
| BCC                  | 2467.859 ab             | 1875.955 ab             | 672.416 b              | 175.025 bc             |
| M                    | 2403.895 ab             | 1856.225 ab             | 648.867 bc             | 157.523 c              |
| MF                   | 2492.999 ab             | 1956.377 ab             | 695.647 ab             | 197.301 ab             |
| T                    | 2613.607 ab             | 2032.841 a              | 754.201 a              | 206.530 a              |
| TF                   | 2298.88 b               | 1799.580 b              | 591.904 c              | 194.437 ab             |
| <b>Significancia</b> |                         |                         |                        |                        |
| Sal                  | 0.002                   | $P < 10^{-3}$           | $P < 10^{-3}$          | $P < 10^{-3}$          |
| Espuma               | NS                      | NS                      | NS                     | $P < 10^{-3}$          |
| Bacterias            | 0.031                   | 0.003                   | $P < 10^{-3}$          | $P < 10^{-3}$          |
| Sal x Espuma         | NS                      | NS                      | $P < 10^{-3}$          | $P < 10^{-3}$          |
| Sal x Bacterias      | 0.001                   | $P < 10^{-3}$           | $P < 10^{-3}$          | 0.003                  |
| Espuma x Bacteria    | 0.007                   | $P < 10^{-3}$           | 0.014                  | $P < 10^{-3}$          |

<sup>†</sup> Es el promedio de los cuatro muestreos. <sup>‡</sup>Medias dentro de columnas con la misma letra, son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ). **DCTE** = Densidad de Células Tabloides en el Envés, **DCTH** = Densidad de Células Tabloides en el Has, **DEE** = Densidad Estomática en el Envés, **DEH** = Densidad Estomática en el Has, **NS** = No significativo

**Cuadro 4.8.1,** Resultados que arrojaron los muestreos de Índice Estomático Adaxial y Abaxial.

| <b>Factor</b>        | <b>IEE <sup>†</sup></b> | <b>IEH <sup>†</sup></b> |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>Sal</b>           |                         |                         |
| 0                    | 23.641 a <sup>‡</sup>   | 6.868 b <sup>‡</sup>    |
| 250 mM               | 17.773 b                | 11.059 a                |
| <b>Espuma</b>        |                         |                         |
| Sin                  | 20.389 b                | 8.487 b                 |
| Con                  | 21.025 a                | 9.440 a                 |
| <b>Bacterias</b>     |                         |                         |
| *3                   | 20.503 a                | 8.277 b                 |
| B15                  | 18.683 b                | 8.225 b                 |
| BCC                  | 20.948 a                | 8.940 ab                |
| M                    | 20.710 a                | 8.333 b                 |
| MF                   | 21.743 a                | 9.322 ab                |
| T                    | 21.893 a                | 9.785 a                 |
| TF                   | 20.471 a                | 9.862 a                 |
| <b>Significancia</b> |                         |                         |
| Sal                  | $P < 10^{-3}$           | $P < 10^{-3}$           |
| Espuma               | 0.024                   | $P < 10^{-3}$           |
| Bacterias            | $P < 10^{-3}$           | $P < 10^{-3}$           |
| Sal x Espuma         | $P < 10^{-3}$           | $P < 10^{-3}$           |
| Sal x Bacterias      | $P < 10^{-3}$           | $P < 10^{-3}$           |
| Espuma x Bacteria    | $P < 10^{-3}$           | 0.006                   |

<sup>†</sup> Es el promedio de los cuatro muestreos. <sup>‡</sup>Medias dentro de columnas con la misma letra, son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ). **IEE** = Índice Estomático en el Envés, **IEH** = Índice Estomático en el Has, **NS** = No significativo.

Para la variable índice estomático abaxial (Cuadro 4.8.1), se encontró que hay diferencia significativa de los tratamientos que no se les aplicó la sal,

sobre los que se sometieron a estrés salino; para los tratamientos que se les adiciono espuma hidrofílica, presentan un mayor índice estomático comparados con los que no se les adicionó la espuma; para las bacterias se observó que casi todos los tratamientos se comportaron estadísticamente igual a excepción del tratamiento B15, que tuvo un efecto negativo.

En cuanto al Índice estomático adaxial (Cuadro 4.8.1), se encontró que en los tratamientos en donde se aplicó el estrés salino, se incrementó el índice estomático adaxial; lo mismo sucedió con la espuma hidrofílica, ya que en los tratamientos a los que se les adiciono la espuma, el índice estomático adaxial aumento, en cuanto a los tratamientos los tratamientos T y TF, presentan un mayor índice estomático adaxial, por lo que se puede concluir que las bacteria tuvieron un efecto negativo en cuanto al índice estomático adaxial. En cuanto a las interacciones sal x espuma, sal x bacteria y espuma x bacteria, se encontró diferencia significativa para las tres interacciones en el índice estomático adaxial y en el índice estomático abaxial.

## V CONCLUSIONES

Las bacterias *Bacillus sp.* en pruebas In Vitro mostraron tener un efecto antagónico sobre *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, a excepción de las cepas T-1-2 y T-10-2 que mostraron efecto negativo.

Las cepas *Bacillus sp.* solas no modificaron las respuestas de las plántulas de tomate sometidas a estrés salino con NaCl ni de las plántulas que no se sometieron al estrés, pero la mezcla de las cepas tuvo un efecto positivo por lo que se concluye que las cepas antagónicas del género *Bacillus sp.* en conjunto son capaces de inducir resistencia sistémica.

Las espumas hidrofílicas demostraron su capacidad de inmovilización de microorganismos vivos en la matriz del polímero, además de favorecer el aumento en la biomasa de las plántulas de tomate.

La presencia de la sal disminuye la densidad de células tabloides adaxial y abaxial, disminuye la densidad estomática e índice estomático abaxial, aumenta la densidad estomática e índice estomático adaxial.

La presencia de la espuma favorece la densidad de células tabloides y de estomas, también favorece el índice estomático.

Las cepas antagónicas de *Bacillus sp.* presentan un efecto negativo en cuanto al índice estomático, la densidad estomática y la densidad de células tabloides.

## VI LITERATURA CITADA.

Agrios, G.,N. 1998. Fitopatología. 2a Edición. Editorial Limusa. México, D.F.

Allard, G., C. J. Nelson and S. G. Pallardy. 1991a . Shade Effects on Growth of Tall Fescue: I Leaf Anatomy and Dry Matter Partitioning. Crop Sci. 31. 163-167. U.S.A.

Benavides, M., A. 2002. Ecofisiología y Bioquímica del Estrés en Plantas. Primera Edición. Depto. de Horticultura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.

Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 223 p.

Bowler, C., M. Van Montagu, D. Inzé. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43:83-116.

Emiliano, T., C. 2002. Tesis de Licenciatura. Uso de espumas hidrofílicas bajo condiciones de estrés hídrico y su efecto en el cultivo de brócoli (*Brasica oleracea* var. Italica L.). UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.

Epstein, E. 1983. Crops tolerant of salinity and other mineral stresses. In: Ciba Found Symp. 97: Better crops for food. Pitman, London, pp. 61-76.

Esau, K. 1972. Anatomía Vegetal. Segunda Edición, ediciones Omega S.A. Barcelona, España. pp. 179-181.

Falconí, 2002. Investigaciones sobre control biológico de moniliasis con bacterias. <http://www.fondocompetitivopromsa.org/html/proyecto/detalle/025.htm>

Proyecto IQ-CV-025

Flowers, T.J. 1985. Physiology of halophytes. Plant Soil 89:41-56.

García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen para adaptarlo a las condiciones de la Republica Mexicana. Publicaciones UNAM. México, D. F.

González C., M. 2003. Tesis de Licenciatura. El *Bacillus subtilis* inmovilizado en espumas hidrofílicas induce tolerancia al NaCl en tomate y lechuga. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.

Gossett D.R., E. P. Millhollon and M. C. Lucas. 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. Crop Sci. 34:706-714.

Grattan, C. R. and S. M. Grieve. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. Sci. Hort. 78:127-157.

<http://www.cnb.uam.es/~foto/feria2002/page/fichas.html#Anchor-Bacillus-11481>

<http://www.tavan.es/botry-stop.htm,2002>. Microorganismos Antagonistas y Resistencia Inducida.

Kuc, J. 1982. Induced immunity to plant disease. BioScience 32:854-860.

Larcher, W. 1995. Physiological Plant Ecology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 506 p.

Maiti, R. K. y A. Benavides M. 2002. Salinidad. En: A. Benavides M. (Compilador). Ecofisiología y Bioquímica del Estrés en Plantas. UAAAN. Saltillo, México. pp. 54-56

Mendoza, Z., C. 1996. Enfermedades fungosas de Hortalizas. 1ª Edición. Universidad Autonoma Chapingo. Texcoco, México. Pp. 84.

Nava S., I. 2002. Tesis de Licenciatura. Uso de espumas hidrofílicas para aumentar la eficiencia del uso del agua en el cultivo del melón (*Cucumis melo* L.) bajo invernadero. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.

Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Ediciones Mundiprensa. España.

Olvera, G. J. 1995. El Jitomate Mexicano: Complemento del Mercado Estadounidense. En: revista Claridades Agropecuarias, Editor M. Yoldi. ASERCA (Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria). 25:1-40.

Olvera, G. J. 1998. Jitomate, La Hortaliza de Excelencia en Exportación. En: revista Claridades Agropecuarias, Editor M. Yoldi. ASERCA. (Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria). 62: 1-40.

Padrón-Gamboa, G., A. Benavides-Mendoza, A. Flores-Olivas, L. M. Lasso-Mendoza, J. Romero-García, H. Ramírez-Rodríguez, V. Robledo-Torres, J. Hernández-Dávila. 2002. Uso de Espumas Hidrofílicas Biodegradables para Mejorar el Crecimiento e Incrementar la Tolerancia al Estrés en Plantas Hortícolas. Memoria de la XIV Semana Internacional de Agronomía, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango. Septiembre del 2002. pp. 231-240. ISBN 968-6404-34-1.

Ramonell, K.M., M.L. . Crispi and M.E. Musgrave. 1997. Changes in stomatal density in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Growth under low oxygen atmospheres. 8th International Meeting an *Arabidopsis* Research. Madison. Wisconsin. [www.stanford.edu/Arabidopsis/madison97/at97abs/imar\\_6-22.html](http://www.stanford.edu/Arabidopsis/madison97/at97abs/imar_6-22.html)

Robledo T. ,V. 2002. Bases Genéticas de la Resistencia al Estrés Oxidativo. En: A. Benavides M. (Compilador). Ecofisiología y Bioquímica del Estrés en Plantas. UAAAN. Saltillo, México. pp. 145-150

Ryals, J., S. Uknes, E. Ward. 1994. Systemic acquired resistance. Plant Physiol. 104: 1109-1112

Soto L., P. 1998. Efecto de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* y *Serratia marcescens* como bacterias antagónicas controladoras de *Rhizoctonia solani* en haba (*Vicia faba*), Arequipa. En: [www.geocities.com/raaaperu/resuinv.html#soto](http://www.geocities.com/raaaperu/resuinv.html#soto)

Valadez, L. A. 1997. Producción de Hortalizas. 6ª Reimpresión. ED. LIMUSA. México, D. F.

Woledge, J. 1977. The Effects of Shanding and Cutting Treatments on the Photosynthetic Rate of Ryegrass Leaves. Ann. Bot. 41 : 1279-1286. U.K.

Zavaleta, M., 1996. Efecto antagónico de *Serratia marcescens* Bizio sobre *Fusarium oxysporum*. Schet.,. F.sp. *lycopersici*. En Memorias del XV Congreso Nacional de Fitopatología. 1998. Xalapa, Veracruz, México.