

IDENTIFICACION DE FUENTES DE RESISTENCIA A  
*Fusarium oxysporum* l. sp. *radicis-lycopersici*  
EN ESPECIES DE *Lycopersicon*.

MARIA DE LOURDES MATA SAMANIEGO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
EN FITOMEJORAMIENTO

Universidad Autónoma Agraria  
"ANTONIO NARRO"



B I B L I O T E C A



Universidad Autónoma Agraria  
Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coah.

SEPTIEMBRE DE 1997

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité Particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para optar al grado de

## MAESTRO EN CIENCIAS

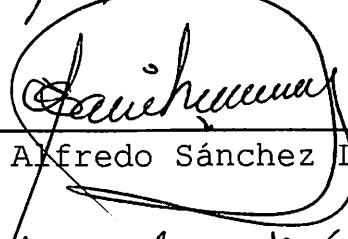
## EN FITOMEJORAMIENTO

### COMITE PARTICULAR

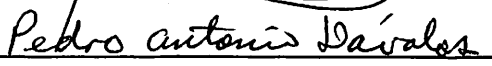
Asesor Principal.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Alfonso López Benítez

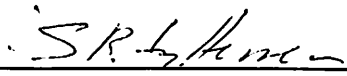
Asesor.

  
\_\_\_\_\_  
M.C. Alfredo Sánchez López

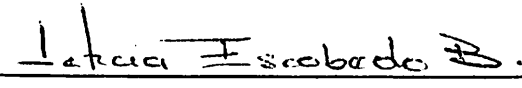
Asesor.


  
\_\_\_\_\_  
Dr. Pedro A. Dávalos Glz.

Asesor.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Sergio A. Rodríguez H.

Asesor.

  
\_\_\_\_\_  
M.C. Leticia Escobedo B.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Jesús M. Fuentes Rodríguez  
Subdirector de Postgrado.

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Septiembre de 1997

A cada uno le es dada  
la manifestación del Espíritu  
para provecho.

Porque a éste es dada por el Espíritu, palabra  
de Sabiduría; a otro palabra de Ciencia según su  
mismo Espíritu.

Y si alguno de vosotros tiene falta de  
Sabiduría pídale a Dios, el cual da a todos  
abundantemente y sin reproche, y le será  
dada.

Pero pida con fe, no dudando  
nada; porque el que duda es  
semejante a la ola del mar, que es  
arrastrada por el viento y echada de  
una parte a otra.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por coadyuvar en mi formación como profesionista.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme dado la oportunidad de continuar mis estudios, ya que sin su apoyo no hubiera podido realizarlos.

Al Dr. Alfonso López Benítez, por todos sus conocimientos y orientación aportada en la realización del trabajo; le agradezco su dedicación y paciencia proporcionada durante todo el tiempo.

Al M.C. Alfredo Sánchez L. por todos sus conocimientos y orientación aportada para la realización del trabajo.

Al Dr. Sergio Rodríguez H. por aportarme sus conocimientos, experiencias y su más sincera amistad.

Al Dr. Pedro A. Dávalos G. por aportarme sus conocimientos y sugerencias, avaladas por su experiencia.

Al M.C. Leticia Escobedo B. por aportarme sus conocimientos y experiencias en la realización de mi trabajo.

Al M.C. José Sánchez Rodríguez por aportarme sus conocimientos, sugerencias y más sincera amistad.

A los señores Bonifacio Ruíz M., Juan Pablo Flores A. y Jesús Cruz C. por su colaboración en la realización de la presente.

A todas aquellas personas que de alguna u otra manera colaboraron en la realización de esta investigación.

## DEDICATORIA

A mis Padres:

Pablo Mata Chávez

Y

Josefa Samaniego Sánchez

Por el amor que siempre me han manifestado y como culminación al esfuerzo y sacrificio que por mí realizaron, les dedico este trabajo. Agradezco todo el apoyo que me brindaron.

Y pondré todo mi esfuerzo para corresponder como hija y como profesionalista, les estoy eternamente agradecida.

A mis Hermanos y Cuñados:

Ma. de la Luz, Rosy, Alicia, Olga, Eva,

Mary, Dolores, Pablo, Mario, José, Martín,

Florencio, Humberto, Alfredo y Catarino.

Por ser como son y por el apoyo y cariño que siempre me han brindado; por todo esto y por el gran amor que les tengo, les reitero que siempre tendrán en mí, apoyo en todos los aspectos.

A todos mis familiares que siempre me han manifestado aprecio.

A la familia Casar Belmares por brindarme su apoyo y amistad incondicional, les estoy eternamente agradecida.

A mis amigos, de los cuales tengo el honor que siempre me han manifestado su amistad sincera, especialmente a Ursula E. Casar B. y Moisés Cortez.

A mis compañeros de Generación, Alejandra, Argentina, Esther, Sergio, Adán Castillo, Adán Aguiluz, Luis, Mario Alberto y Juan Carlos.

# COMPENDIO

Identificación de Fuentes de Resistencia a *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici* en Especies de *Lycopersicon*.

POR

**MARIA DE LOURDES MATA SAMANIEGO**

MAESTRIA

FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. SEPTIEMBRE DE 1997

Dr. Alfonso López Benítez.-Asesor-

Palabras claves: *Lycopersicon spp.*, *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici*, Resistencia, Métodos de inoculación.

En el presente trabajo se evaluaron 20 materiales de *Lycopersicon spp.* para resistencia a *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici* con los siguientes objetivos: encontrar un método de inoculación efectivo,



así como una dosis adecuada de inóculo que permita inducir Y clasificar el germoplasma en susceptible y resistente, identificar fuentes de resistencia a *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*. El trabajo se realizó en el laboratorio de Cultivo de Tejidos e Invernadero de esta Universidad de 1993 a 1995 bajo un diseño completamente al azar. Las variables medidas fueron: germinación, índice de enfermedad, porcentaje de plantas enfermas y promedio de plantas muertas usando dos métodos de inoculación. Los datos fueron analizados con un diseño completamente al azar factorial con dos factores, el factor A correspondió a germoplasma y el factor B se adjudicó a dosis de inóculo, con cinco y dos repeticiones, sometiendo los datos a prueba de mínima significancia (D.M.S), además de hacer un análisis de contrastes ortogonales mediante la diferenciación de materiales resistentes, susceptibles y extremadamente susceptibles. Observaciones del presente estudio indican que el método de inoculación a la semilla con suspensión de esporas al momento de la siembra fue suficiente para causar la enfermedad y hubo mayor daño con las dosis de cinco y ocho millones de esporas por mililitro, sin embargo se obtuvieron mayores incrementos proporcionales con las dosis de tres y cinco millones, de los 20 materiales evaluados ocho resultaron resistentes encontrándose cinco con frutos de color verde los cuales

mostraron mayor resistencia que *L. Pimpinellifolium* que presenta frutos de color rojo.

## ABSTRACT

Identification of Sources of Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in *Lycopersicon* Species.

BY

MARIA DE LOURDES MATA SAMANIEGO

MASTER OF SCIENCE

PLANT BREEDING

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. SEPTIEMBRE DE 1997

Dr. Alfonso López Benítez - Advisor -

Key words: *Lycopersicon* spp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, Resistance, Inoculation Methods.

In this work was evaluated twenty materials of *Lycopersicon* spp. for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* with the following objectives: to

find a method of inoculation effective, as well as a doses appropriate of inoculum that permit to induced and classify the germoplasm in susceptible and resistant, identify resistance sources to *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*. The work was made in the tissue culture laboratory and greenhouse of this university from 1993 to 1995 under a randomized fully design. The traits evaluated were: germination, index of disease, percentage of plants disease and averaged dead plants using two methods of inoculation. The data were analized with a randomized fully design factorial with to factors, the factor A to come up to at varieties and the factor B to award to doses of inoculum, with five and two replications, putting the data the test of minimum significance (S.M.D.), besides of to analysis of orthogonals contrasts by means of the differentiation of materials resistant, susceptible and excesively susceptible. Observations of the present study indicate that the method of inoculation of the seed at moment to the sowing was sufficient for to cause the disease and there was major damage with the doses of five and eight millons of spores for millilitre, however to obtained major increments proportionals with the doses of three and five millons, of the twenty materials evaluated eight resulted resistant meeting five with fruits in

green color which showed major resistance that *L. pimpinellifolium*, showing fruits in red color.

## INDICE DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS.....	xvi
INDICE DE FIGURAS.....	xviii
INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	5
El Patógeno.....	5
Diferencia Entre <i>F. oxysporum f. sp. radicles-lycopersici</i> Y <i>F. oxysporum lycopersici</i> .....	5
Identificación y Clasificación.....	7
Sintomatología.....	9
Ciclo de la Enfermedad.....	14
Epidemiología.....	15
Distribución en el Mundo.....	17
Sustancias que Genera.....	18
El Hospedero.....	20
Clasificación Botánica.....	20
Importancia Económica del Cultivo de tomate..	22
Fuentes de Resistencia.....	23
Tipo de Herencia.....	26
Herencia de la Resistencia.....	26
Mecanismos de Resistencia a <i>Fusarium spp.</i> ....	29
Métodos Para Inducir la Enfermedad.....	33
Inoculación de la Semilla con Suspensión de Esporas al momento de la Siembra.....	34
Inmersión de Plántulas en Suspensión de Esporas al Momento de la Siembra.....	34
Programas de Mejoramiento.....	35
MATERIALES Y METODOS.....	38
Descripción del Área de Estudio.....	38
Incremento del Germoplasma y Selección del Material Utilizado.....	39

	Página
Incremento Masivo del Hongo <i>Fusarium</i> <i>oxysporum f. sp. radicis-lycopersici</i> .....	43
Inoculación del Germoplasma Utilizado.....	44
Método 1.....	45
Método 2.....	45
Evaluación del Germoplasma.....	46
Descripción de Tratamientos y Diseño Experimental.....	47
Variables consideradas.....	48
Análisis Estadístico.....	49
 RESULTADOS.....	 51
Inmersión de Plántulas en Suspensión de Esporas.....	51
Inoculación de la Semilla con Suspensión de Esporas al Momento de la Siembra.....	60
Búsqueda de Fuentes de Resistencia.....	69
 DISCUSION.....	 74
 CONCLUSIONES.....	 78
 RESUMEN.....	 80
 LITERATURA CITADA.....	 82

## INDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Página
2.1. Especies del género <i>Lycopersicon</i> .....	21
3.1. Descripción de los materiales de tomate provenientes de Davis California .....	39
3.2. Descripción de los materiales de tomate utilizados en la evaluación para resistencia.....	42
4.1. Cuadrados medios de las variables correspondientes al método uno.....	52
4.2. Índice promedio de enfermedad en 20 cultivares de <i>Lycopersicon</i> spp. inoculadas con tres dosis de FORL utilizando el método de inmersión de plántulas en suspensión de esporas.....	53
4.3. Análisis de varianza correspondiente al índice de enfermedad y sus contrastes....	55
4.4. Cuadrados medios de dos de las variables del segundo método de inoculación.....	62
4.5. Análisis de varianza correspondiente al índice de enfermedad a las 14 semanas y sus contrastes.....	65
4.6. Cuadrados medios correspondientes al porcentaje de plantas enfermas.....	67



4.7. Respuesta del germoplasma de tomate a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> .....	71
4.8. Índice promedio de enfermedad en 20 cultivares de <i>Lycopersicon</i> spp. inoculadas con tres dosis de <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> en invernadero, método dos.....	73

## INDICE DE FIGURAS

Figura No.	Página
4.1 Relación de dosis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> con el índice promedio de los 20 cultivares inoculados.	56
4.2 Relación de dosis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> con el porcentaje plantas enfermas, promedio de las 20 variedades.....	58
4.3 Relación de dosis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Radicis-lycopersici</i> con el promedio de plantas muertas de los veinte cultivares.....	59
4.4 Relación de dosis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> con el porcentaje de germinación.....	61
4.5 Relación de dosis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> con el índice promedio de las 20 variedades, método dos.....	64
4.6 Relación de dosis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> con el porcentaje de plantas enfermas de las dos evaluaciones (promedio de las veinte variedades).....	68
4.7 Relación de dosis de inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> con el promedio de plantas muertas.....	70

## INTRODUCCION

El cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) es una de las hortalizas más importantes tanto a nivel nacional como internacional. En nuestro país es un cultivo en el que se ha incrementado su producción en los últimos 10 años, se cultiva en 19 estados del país, siendo los más importantes por su superficie sembrada los estados de Sinaloa, Sonora, Morelos, Baja California, San Luis Potosí, Michoacán, Jalisco, Tamaulipas, Guanajuato, Hidalgo y Puebla, siendo los principales estados exportadores Sinaloa (82 por ciento), Baja California (11.6 por ciento) y Jalisco (1.9 por ciento); otros estados aportan el (4.5 por ciento) para los cuales el tomate significa una importante fuente de ingresos.

El tomate es una de las hortalizas más importantes por su producción y consumo. En 1995 se cultivaron a nivel nacional aproximadamente 75,498 ha, lográndose una producción de 1'935,470 ton (INEGI, 1995). El tomate no sólo es importante como generador de divisas, sino también por la elevada derrama económica que genera, proporcionando mano de obra a un importante número de trabajadores estacionales de campo; además crea y fomenta el empleo en otras áreas

de la actividad económica relacionados con la producción y comercialización del tomate.

Actualmente el cultivo se ve afectado por enfermedades que bajan la producción y calidad del producto ocasionando pérdidas considerables y en ocasiones la pérdida total del cultivo. De aquí uno de los problemas más importantes, es encontrar variedades de plantas cultivadas, capaces de resistir los daños causados por dichas enfermedades. La importancia de las variedades resistentes es reconocida universalmente, pues el éxito o el fracaso de un cultivo, depende frecuentemente de la reacción que tenga este frente a un patógeno determinado.

Se ha sabido que el modo más efectivo para evitar el daño por enfermedades en un cultivo es la resistencia en diferente grado que tienen las variedades, sin embargo existen métodos que permiten prevenir o combatir las enfermedades, pero su aplicación eleva los costos de producción y requiere de personal capacitado para su aplicación, así como también los efectos ecológicos que causan los productos químicos, lo que hace impráctica su utilización, por tal motivo el uso de variedades resistentes es el método de control más aceptable.

Dada la variación genética del hongo se requiere buscar continuamente nuevas fuentes de resistencia para

incorporarlas a las nuevas variedades y ante la carencia de variedades resistentes a *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* que causa pudrición de la raíz y corona en tomate y otros cultivos, a la aparición de esta enfermedad en el centro de nuestro país y debido a que en su mayoría es necesario importar semillas de otras áreas que podrían estar contaminadas, es de esperarse que en poco tiempo áreas libres de esta enfermedad puedan contaminarse, por lo tanto, los objetivos e hipótesis de esta investigación son los siguientes:

#### Objetivos

- a).- Encontrar un método de inoculación efectivo, así como una dosis adecuada de inóculo que permita clasificar el germoplasma en susceptible y resistente.
- b).- Identificar fuentes de resistencia a *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*.

#### Hipótesis

- a).- En el germoplasma evaluado existen diferentes grados de resistencia a *Fusarium*.

- b).- Hay un nivel crítico de inóculo de *Fusarium*, con el cual se pueden diferenciar los genotipos resistentes y susceptibles.
- c).- Existe menos resistencia en los cultivares que tienen frutos rojos que aquellos que presentan frutos amarillos y verdes.
- d).- Se presenta menos resistencia en los cultivares que presentan frutos grandes que en aquellos que presentan frutos más pequeños.

## REVISION DE LITERATURA

### El Patógeno

Diferencia Entre. *F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* y *F. oxysporum f. sp. lycopersici*.

*Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (FOL) raza 1 y 2 causa diferentes síntomas que *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* (FORL) y se desarrolla a diferentes temperaturas óptimas.

FORL entra en el tejido cortical de las raíces y del hipocotilo por heridas causadas por la emergencia secundaria de raíces adventicias causando una lesión café chocolate que se extiende entre el sistema vascular. Esta coloración se extiende no más allá de 25 centímetros de la zona de transición (raíz-tallo) y el hongo sólo puede ser aislado de 1 a 2 cm de avance de la coloración (Jarvis y Shoemaker, 1978).

El desarrollo de la enfermedad ocurre esencialmente a temperaturas de suelo frescas (18° a 20°C) a

diferencia de FOL que requiere de temperaturas de suelo más severas (27°C) (Jarvis y Shoemaker, 1978; Rowe, 1980). El hongo es dispersado por medio de microconidias (Rowe et al., 1977).

FORL ataca a todas las especies del género *Lycopersicon* y a todas las variedades del género *Lycopersicon esculentum* probadas por Jarvis y Shoemaker (1978), además causa una pudrición café en el tejido vascular y cortical del hipocotilo y se extiende no más allá de 25 centímetros en el tallo. También mencionan que plantas jóvenes pueden morir, pero usualmente causa marchitamientos como resultado de la deformación de los tallos o en los primeros frutos.

Rowe (1980) menciona que el marchitamiento es causado probablemente por la raíz disfuncional o tallos deformes y no estrictamente a la obstrucción del sistema vascular. Además dice que los síntomas típicos de marchitamiento por *Fusarium* (epinastia, marchitamiento desuniforme de hojas y brotes, y coloración vascular extendiéndose alrededor de la línea del suelo) no se observan en esta enfermedad.

FOL solamente causa enfermedad en especies de *Lycopersicon* mientras que FORL no tiene un hospedero específico ya que se le ha encontrado asociado en bajo



grado en muchas plantas cosechadas. Rowe (1980) considera que esta última es una enfermedad hecha por el hombre ya que es favorecida cuando compite con microorganismos que son removidos por la desinfección del suelo y el cultivo de tomate es producido a temperaturas subóptimas, pero no causa daño al cultivo en suelos recién desinfectados.

Por más de 20 años, la pudrición de la raíz y corona en tomate, causada por *Fusarium o. f. sp. radicis-lycopersici* (FORL) Jarvis y Shoemaker (1978), ha sido una enfermedad seria de plantas desarrolladas en suelo estéril y medio hidropónico.

Rowe (1980) menciona que no se presentan síntomas de amarillamiento en las hojas ocho semanas después de inocular las plantas con FORL, mientras que al inocularlas con FOL raza 1 y 2 estos síntomas se presentan dos semanas después de la inoculación.

#### Identificación y Clasificación.

La pudrición de la raíz y de la corona del tomate causada por FORL se reportó primero en Ohio y Ontario Canadá en 1974 Jarvis et al. (1975), ese mismo año fue reportada una enfermedad similar en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivado en invernadero en Japón

Yamamoto *et al.* (1974) y ha sido reportada en muchas áreas tomateras de todo el mundo (Martyn y Barnes, 1986; Rowe, 1980; Rowe y Farley, 1981; Krikun *et al.*, 1983). El patógeno responsable es una forma de *Fusarium* o. que causa diferentes síntomas que FOL raza 1 y 2, este patógeno ha sido designado como *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Yamamoto *et al.*, 1974).

*Fusarium* o. f. sp. *radicis-lycopersici* está clasificado como un hongo imperfecto localizado en el orden de los moniliales. *Fusarium oxysporum* es la especie más importante económicamente que se encuentra distribuida en todo el mundo debido al número de cultivos que ataca y a la variedad de formas especiales que comprende, sus características principales en Papa Dextrosa Agar (PDA) son; el micelio es hialino, septado e incoloro al principio, conforme va madurando adquiere un color crema o amarillo pálido o algo púrpura (Agrios, 1991).

Oldrich (1952) al trabajar con *F. vasinfectum* y *F. lycopersici* observó que se tiene un alto desarrollo de este último a un pH de 2.2, pero que no hay germinación de esporas a un pH de 1.8. La máxima pigmentación la obtuvo en ambas especies en un rango de 3.2 a 3.7 y una gran cantidad entre un pH de 2.7 a 4.6 la acidez del medio fue más crítica con *F. vasinfectum* que con *F. lycopersici*.

Hay ausencia de reproducción sexual, produce macroconidios y clamidiosporas. Los macroconidios tienen generalmente, de tres a cinco células, aparecen con frecuencia sobre la superficie de plantas que han sido destruidas por el patógeno formando grupos de estructuras en forma de esporodoquios. Los microconidios son esporas unicelulares o bicelulares las cuales son producidas con mayor frecuencia y en mayor abundancia en todas las condiciones y son las únicas que forma el hongo en el interior de los vasos del hospedero. El último tipo de esporas son las clamidiosporas que están constituidas por una o dos células (Agrios, 1991; Booth, 1971).

#### Sintomatología.

Agrios (1991) menciona que el marchitamiento causado por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* se caracteriza por el achaparramiento de las plantas, las cuales en poco tiempo se marchitan y mueren. Los síntomas se manifiestan como un ligero aclareamiento de las nervaduras de las hojas jóvenes más externas, después se manifiestan las hojas senescentes ocasionadas por el debilitamiento de los pecíolos, cuando la infección se presenta en estado de plántula es frecuente que se marchiten y mueran poco después de que hayan aparecido los primeros síntomas. Las plantas adultas en campo pueden

marchitarse y morir repentinamente cuando la enfermedad es severa y el clima es favorable para el desarrollo del patógeno. En plantas adultas, es más frecuente que ocurra epinastía foliar y un previo aclareamiento en las nervaduras, antes de producirse achaparramiento, amarillamiento de hojas inferiores, formación ocasional de raíces adventicias, marchitamiento de sus hojas y tallos jóvenes, defoliación, necrosis marginal de sus hojas persistentes y finalmente su muerte.

Se observa un amarillamiento ascendente del follaje y los tejidos conductores se tornan café oscuro. La planta finalmente se marchita y muere. Es una enfermedad que se encuentra distribuida en todas las áreas productoras de tomate en el mundo.

Rowe (1980) menciona que las plantas inoculadas con aislamientos del hongo de la pudrición de la raíz y corona no presentan síntomas arriba del suelo ocho semanas después de inoculadas, pero que al removerlas y seccionarlas longitudinalmente en el sistema vascular y algunas partes de la corteza se podía observar la infección desde la punta de la raíz principal hasta 3 a 6 cm por arriba de la línea del suelo cuando la infección era severa.

Charest *et al.* (1984) observaron que el hongo *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* al entrar al

hospedero produce marchitamientos, en los que se puede observar las hojas flácidas cuando aun están verdes, además de clorosis, mal desarrollo de las hojas y tallos, así como lesiones en la corona y en la raíz y coloración del tejido vascular (Martyn y Barnes, 1986). Otro síntoma característico de esta enfermedad es la necrosis, que también se puede observar en otros cultivos como son; papa y algunas leguminosas, entre otras (Haskell, 1919; Rowe, 1980).

El marchitamiento común causado por *Fusarium* en tomate y otras enfermedades causantes de marchitamientos MacHardy y Beckman (1981); Beckman y Talboys (1981) el patógeno entra a las raíces extendiéndose en las heridas y propagándose por el desarrollo intercelular hasta alcanzar la estela vascular. Por medio de la producción de microconidias invaden el tejido vascular y se difunden a través del tallo y hojas resultando varios síntomas notables de marchitamiento como: hojas flácidas cuando aun son verdes y/o mal desarrollo y clorosis de las hojas. Invaden el tejido vascular decolorándolo y produciendo colapsos o disturbios.

Cuarenta y dos aislamientos de *F. oxysporum* provenientes de plantas de tomate afectadas por pudrición de la raíz y la corona en 20 localidades en el Norte de

América y Japón fueron inoculadas a cuatro variedades diferenciales para *F. oxysporum f. sp. lycopersici*. Los síntomas y muestras de la infección en estas líneas fueron similares para todos los aislamientos prueba y diferentes para aquellos de *F. oxysporum f. sp. lycopersici* (FOL) raza 1 y 2 (Rowe, 1980).

Rowe (1980) observó que al inocular con FOL raza 1 y 2 las plantas presentaban síntomas de marchitez visibles dos semanas después de inocularlas. Las plantas a menudo fueron severamente dañadas y marchitas, algunas se colapsaron y murieron dentro de tres a cuatro semanas después de la inoculación. Cuando fueron seccionadas longitudinalmente se observó una coloración vascular severa extendiéndose en el tallo y en muchos casos entre los pecíolos de las hojas bajas.

Chamberland et al. (1991) al inocular con FORL plantas de tomate de las variedades susceptibles Bonnie Best y Ontario rosa y la variedad resistente Larma observó que las variedades susceptibles de 96 a 120 hrs siguientes a la infección de la raíz, el área cortical y la estela vascular fueron colonizados por el patógeno. El cultivo resistente fue limitado por la epidermis y algunas veces por los espacios intercelulares de la capa de las células corticales más externas. No se observaron cambios

citológicos o morfológicos significantes en estos tejidos, en contraste con aquellos cultivos susceptibles infectados.

Dimond (sin fecha) menciona que en tomates infectados con *Fusarium* la coloración aparece en el parénquima del xilema adyacente al xilema conductivo. La pigmentación oscura de esas células aparece gradualmente en espacios, la coloración es causada por un pigmento melanoide de café a negro.

Rowe (1980) observó que al inocular con FORL las plantas severamente dañadas a menudo presentaban una proliferación de raíces adventicias iniciales en los primeros 10 cm del tallo por arriba de la línea del suelo, mientras que en plantas sanas y ligeramente dañadas esto no se presentó. Los síntomas característicos de esta enfermedad bajo condiciones comerciales son marchitez y muerte subsecuente ocurriendo solamente en madurez y producción de frutos.

Los síntomas en las leguminosas afectadas por FORL fueron similares a los ocasionados en tomate incluyendo necrosis en la punta y base de la raíz, pudrición severa de raíces laterales y de la corteza de la base de la raíz y en algunas ocasiones coloración del sistema vascular (Rowe, 1980).

Ciclo de la Enfermedad.

*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* no es un patógeno exclusivo de tomate ya que es capaz de atacar a otras especies de *Lycopersicon* Jarvis y Shoemaker, (1978); Thibodeau, (1981), de leguminosas y otras solanáceas (Rowe, 1980).

FORL inverna en el suelo o en restos de plantas en forma de micelio o esporas asexuales (clamidosporas) sobreviviendo por grandes períodos sin la presencia de un hospedero, en forma saprófita en los terrenos de cultivo (Agrios, 1991; Williams y Toussoun, 1965).

En *F. oxysporum* spp. se ha comprobado que las principales fuentes de inóculo es el suelo no importando el tipo de textura que este tenga, sin embargo se ha podido observar en suelo ligero donde se cultiva papa hay más infección, por el contrario cuando se siembra algodón o sandía se ha observado que hay más marchitamientos en los suelos arenosos (Haskell, 1919).

La mayor concentración de inóculo de *Fusarium* se encuentra en los primeros 5 cm de profundidad, aunque se puede localizar hasta los 40 cm (Kodama, 1974; Yoshino y Hashimoto, 1978). En el hospedero el patógeno es más



abundante en las raíces, rizomas y partes bajas del tallo (Haskell, 1919).

El hongo al invernar en forma de micelio o conidios con o sin la presencia de esporas puede iniciar una infección primaria. Después de haber provocado esta infección, forma un micelio, conidióforos y conidios los cuales dan origen a las generaciones sucesivas de infección secundaria (Agrios, 1991). Castro y Dávalos (1984) en investigaciones hechas en Irapuato Gto. en el cultivo de la fresa encontraron que el inóculo primario de *Fusarium oxysporum f. sp. fragariae* está presente durante todo el ciclo del cultivo y por tal motivo la infección puede ocurrir en cualquier época del año, siempre y cuando las condiciones ambientales permitan su desarrollo.

#### Epidemiología.

*F. oxysporum* se desarrolla a altas temperaturas con una óptima de 26 a 32°C y una máxima de 40°C, por tal motivo la infección es más severa en los lugares donde la alta temperatura de verano se mantiene en estos niveles (Haskell, 1919). Sin embargo Jarvis y Shoemaker, (1978); Rowe, (1980) consideran que *F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* es un patógeno de clima fresco, refiriendo temperaturas en el suelo en un rango de 18 a 20°C.

Dávalos (1990) menciona, el factor anteriormente mencionado es la causa de que aunque en el suelo pueda existir inóculo de *Fusarium* y por lo tanto presentarse la infección primaria en cualquier época del año, el desarrollo de *Fusarium* depende de la temperatura, por tal motivo los síntomas de la enfermedad no son claramente observables en invierno (Winks y Williams, 1965).

La humedad del suelo, el tipo y fertilidad del mismo influyen en el desarrollo de la enfermedad pero la temperatura del suelo es el factor más importante, sin embargo, para su diseminación lo esencial es la humedad, así como, el uso de variedades susceptibles, el grado de nutrición del hospedero y la utilización de suelos contaminados.

El marchitamiento causado por *Fusarium* es una de las enfermedades más prevalentes y dañinas del tomate cuando es cultivado intensivamente. Esta enfermedad es más destructiva en climas cálidos y en suelos arenosos de las regiones templadas. La enfermedad puede ocasionar pérdidas considerables, especialmente en variedades susceptibles y bajo condiciones climáticas favorables (Agrios, 1991).

### Distribución en el Mundo.

La pudrición de raíz y corona en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) causada por el hongo FORL, es un serio problema en las principales áreas productoras de hortalizas en el mundo, siendo más destructiva en regiones de clima cálido. Esta enfermedad ha sido reportada en Canadá Jarvis *et al.*, (1975), en el sudeste de Estados Unidos Martyn y Barnes, (1986) y en muchas otras áreas productoras de tomate en el mundo (Rowe, 1980; Rowe y Farley, 1981; Krikum *et al.*, 1983).

La importancia económica de esta enfermedad fue debidamente documentada por primera vez por Jarvis *et al.* (1975) en tomates cultivados en invernadero en Ontario Canadá en 1974, ese mismo año fue reportada una enfermedad similar en Japón (Yamamoto *et al.*, 1974). En el sur de California se le encontró en el año de 1971 (Leary y Endo, 1971). En nuestro país se le encontró en el centro de México en 1979 (Rowe, 1980). Aunque la enfermedad es económicamente importante a nivel invernadero ésta no es económicamente limitante en tomate desarrollado en el campo excepto en pocas áreas localizadas.

Martyn y Barnes (1986) mencionan que la pudrición de la raíz y corona en plantas de tomate causada por FORL fue

confirmada en Texas en la pudrición de frutos maduros de plantas de la variedad Laura desarrolladas en un invernadero comercial, así como también en California, Florida y New Hampshire.

#### Sustancias que Genera.

*Fusarium* produce dos tipos de toxinas, la zearalenona y el tricoteceno. La zearalenona es conocida también como la micotoxina F-2 la cual es producida por *Fusarium oxysporum* (Agris, 1991).

Gaumann (1957) menciona que en el jitomate tanto las variedades resistentes como susceptibles a *Fusarium*, son susceptibles cuando se cultivan in vitro a las toxinas del hongo. La diferencia está en que in vivo las variedades resistentes no proveen las condiciones requeridas para que el patógeno sintetice las toxinas. En el tomate y otros cultivos se ha comprobado el papel que desempeñan las toxinas de *Fusarium* en el desarrollo de la enfermedad.

Caron et al. (1986) menciona que la presencia de gomas entre las raíces siempre en presencia de altos niveles de fósforo, hay menor desarrollo necrótico en la raíz y por lo tanto menor desarrollo de la población de FORL, sin embargo, aclara que una alta concentración de

fósforo en la planta no es responsable de la baja enfermedad desarrollada y la baja población de FORL.

Aunque la nutrición del hospedero no esté bien establecida, puede influenciar significativamente en el desarrollo de marchitamiento por *Fusarium* en el cultivo de tomate Walter y Foster, (1946); Scheffer y Walker, (1953), estos últimos autores, observaron que en el corte que le hicieron a plantas de tomate desarrolladas bajo diferentes condiciones nutricionales fueron igualmente sensibles al péptido licosarima que es el agente responsable del marchitamiento.

Muchas especies de *Fusarium* ocasionan marchitamiento en varias plantas. Los síntomas de la enfermedad que provocan se manifiesta en epinastía, obstrucción y empardecimiento de los vasos xilémicos, necrosis, marchitamiento y finalmente en la muerte de la planta. El compuesto denominado licomarasmina produce el marchitamiento y necrosis de las nervaduras de las hojas desprendidas del tomate, pero es probable que tenga poca o ninguna importancia en el desarrollo de la enfermedad. El hongo *Fusarium* produce otra toxina, denominada ácido fusárico, la cual además de ocasionar marchitamiento, produce las denominadas manchas aguanosas de las hojas y el empardecimiento de los tejidos vasculares. Ambos tipos de

toxinas se unen a metales pesados como el  $Fe^{3+}$  y  $Cu^{2+}$  afectando directamente a la permeabilidad de las membranas celulares y las reacciones enzimáticas de las células mediante la inhibición de sus enzimas (Agrios, 1991).

### El Hospedero

#### Clasificación Botánica.

La especie *Lycopersicon esculentum* Mill. tiende a ser perenne pero universalmente se utiliza como un cultivo anual, presenta un complemento cromosómico de  $2n=12$  encontrándose una serie de poliploides con niveles de diploides, triploides y autotetraploides. El tomate es miembro de la familia *Solanaceae* y del género *Lycopersicon*. Comprende varias especies comúnmente divididas en dos subgéneros *Eulycopersicon* que incluye especies con frutos rojos y *Eriopersicon* con varios tipos de frutos verdes Cuadro 2.1. Todos los miembros del género son anuales o de vida corta, perennes, herbáceos, diploides con un número cromosómico somático de 24. Escencialmente todas las formas cultivables de tomate pertenecen a la especie *esculentum*. Ambos miembros del subgénero *Eulycopersicon* son también compatibles con miembros del subgénero *Eriopersicon*.

*Eulycopersicon* (frutos rojos o amarillos)

*L. esculentum*

*L. Pimpinellifolium**Eriopersicon* (frutos verdes)*L. peruvianum*                      *L. glandulosum**L. chilense*                         *L. hirsutum*

Se adapta a varios ambientes desde el Ecuador hasta el norte de Alaska y tiene diferentes usos por lo que se le considera como una planta nativa de América tropical cuyo origen se localiza en la región de los Andes (Chile, Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú) donde se encuentra la mayor variabilidad genética y abundancia de tipos silvestres. México está considerado a nivel mundial como el centro más importante de domesticación. La palabra tomate proviene de la voz náhuatl "Tomatl" xitomate (Tigghelaar, 1986 y Rick, 1990).

Cuadro 2.1. Especies del género *Lycopersicon*.

Especies	Nombre Común	Forma Reproductiva
<i>L. esculentum</i>	Tomate común	SP
<i>L. pimpinellifolium</i>	Tomate grosella	SP + CP
<i>L. cheesmanii</i>	Especie Silvestre	SP
<i>L. parviflorum</i>	" "	SP
<i>L. chmielewskii</i>	" "	CP
<i>L. pennellii</i>	" "	SI
<i>L. hirsutum</i>	" "	SF + SI
<i>L. chilense</i>	" "	SI
<i>L. peruvianum</i>	" "	SI

SI = Autopolinización, CP = Polinización cruzada, SF = Autofertilidad y, SI = Autoincompatibilidad.

## Importancia económica del Cultivo de Tomate.

El cultivo de tomate es una de las hortalizas más importantes debido a la aceptación que tiene en el mercado ya que se consume tanto en fresco como procesado, además de que genera fuentes de empleo a un sin número de personas en las diversas áreas de la actividad económica. El tomate es una significativa fuente de vitamina A y C, se utiliza como un ingrediente en la mayoría de las comidas (Tigghelaar, 1986).

El tomate es la hortaliza más importante a nivel mundial y es la más ampliamente distribuida en los países desarrollados, alto en valor económico y con un alto potencial para valor agregado al procesarlo.

Dada la importancia económica del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) esta especie ha sido y continua siendo objeto de un sin número de programas de investigación en todo el mundo, desde aspectos de origen y evolutivos Tigghelaar (1986) hasta estudios de mejoramiento genético mediante los métodos más modernos y sofisticados Tigghelaar (1986); Casali y Tagchelaar (1975). En esa vasta diversidad de estudios se incluyen investigaciones citogenéticas Rick (1990); McGurl y Ryan (1993); Ooijen (1993); Ruiz et al. (1993); Martín et al. (1993), genéticos Shalaby et al. (1993); Polesskaya et al. (1993), adaptación



Ramírez (1994), resistencia a plagas y enfermedades Rick (1990); Tigghelaar (1986); Lukyanenko (1993), tolerancia a salinidad Sanchís et al. (1993); González y Cuartero (1993); Paola et al. (1993); Saranga et al. (1993), sequía Abdul-Baki (1993); Thakur (1993) y sobre muchos otros aspectos Rick (1990); Lalitha (1993); Dickinson et al. (1993); Wymore y Baker (1982); Stancheva y Milanova (1993); NGuen et al. (1993); Erb y Rowe (1992); Benhamou et al. (1991).

La importancia de los centros de origen y bancos de germoplasma como fuentes de diversidad para el mejoramiento genético ha sido discutido por Rick (1990); Tigghelaar (1986).

#### Fuentes de Resistencia.

La contribución del mejoramiento genético moderno en tomate es la obtención de variedades resistentes a patógenos comunes (Tigghelaar, 1986). Sin embargo, en tomate para control de *Fusarium* esto no ha sido posible debido a que, conforme se quiere controlar el patógeno genera nuevas razas y por lo tanto variedades que son resistentes a una raza pueden ser susceptibles a otra raza de la misma especie, tal es el caso de la variedad walter, la

cual es resistente a la raza 1 y 2 de FOL pero susceptible a la raza 3 de ese mismo patógeno.

Martyn y Barnes (1986) al inocular con FORL las variedades Bonnie Best, Tropic, Walter, Laura y una variedad resistente a la pudrición de la raíz y de la corona encontraron una incidencia de daño de 47, 80, 93, 55 y 0 por ciento respectivamente. Estos mismos autores al inocular con FORL extraído de un aislamiento de la variedad Laura y con FOL raza 1 y 2 en estas variedades encontraron que, FOL raza 1 causó marchitamiento en Bonnie Best mientras que Fol. raza 2 causó marchitamiento en ambas Bonnie Best y Tropic. Los aislamientos de la variedad Laura fueron patógenos a cada variedad testigo excepto la variedad resistente a FORL.

Las plantas de la variedad Ohio MR-13 fueron susceptibles a todos los aislamientos de pudrición de raíz y corona y a FOL raza 2. Sólo pocas plantas fueron susceptibles reaccionando a FOL raza 1 en muchas pruebas. Las plantas de la variedad Walter fueron resistentes a ambas razas de FOL; pero fueron completamente susceptibles a todos los aislamientos de pudrición de raíz y corona de todas las pruebas originales, las plantas de la línea mejorada japonesa IRB-301-31 fueron consistentemente resistentes a todos los aislamientos de pudrición de raíz y corona, pero

fueron extremadamente susceptibles a FOL raza 1 y moderadamente susceptibles a la raza 2 (Rowe, 1980).

La línea 89-1 desarrollada en Ohio es la fuente de resistencia de todas las variedades de tomate actuales en invernaderos comerciales resistentes a FORL desarrolladas en la Universidad Estatal de Ohio (Berry y Oakes, 1987).

La resistencia a FORL fue incorporada a varias líneas mejoradas en invernadero en la Universidad Estatal de Ohio antes de 1980, resultando en varias líneas, creando una nueva raza para resistencia (Scott y Farley, 1981). En 1983 se liberó la variedad "Ohio CR-6" que fue la primera variedad de tomate de invernadero comercialmente aceptable con resistencia a FORL (Scott y Farley, 1983).

Rowe (1980) menciona que algunos organismos de los aislamientos de pudrición de raíz y corona fueron ligeramente patogénicos a pepino y berenjena, mientras que las inoculaciones hechas en 15 plantas hospederas representando cinco familias botánicas, se observó que, muchas leguminosas también fueron moderadamente susceptibles, pero las pruebas hechas en cucurbitáceas, crucíferas y cereales no se mostraron afectadas.

## Tipo de Herencia.

### Herencia de la Resistencia.

Berry y Oakes (1987) mencionan la resistencia a FORL en el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fue heredado como un carácter monogénico dominante en una cruce entre la línea mejorada 89-1 (resistente) y la línea 1239A (susceptible) desarrollada en la Universidad Estatal de Ohio. Además dicen que el conocimiento de la herencia de la resistencia a FORL es particularmente importante cuando se desarrollan híbridos que contienen resistencia a otras enfermedades.

La información con respecto a la herencia de la resistencia a FORL es limitada refiriéndose a estudios de mejoramiento publicados de J. Farley y Rowe, indicando que este estudio propone que la resistencia es controlada por un simple gen dominante (Rowe, 1980).

En los diferentes cromosomas se encuentran genes que le dan resistencia a la planta a diferentes patógenos. En ausencia de razas fisiológicas de FORL se le ha considerado como una población uniforme especialmente para la utilización en programas de mejoramiento. Katan *et al.* (1991) al estudiar varios grupos y subgrupos de colonias de

*Fusarium* encontró que FORL se componía de varias subpoblaciones distintas, sin embargo, no supo si esas subpoblaciones diferían patogénicamente.

En lo que se refiere a FOL se tiene que actualmente existen tres razas que causan daño al cultivo. La resistencia del patógeno raza 1 de este hongo fue reportado en la línea PI 79532 de *L. pimpinellifolium* Mill. Bohn y Tucker, (1940) con herencia monogénica designada como I, este gen (I-1) se encontró en la variedad Pan American. Cinco años después Alexander y Tucker, (1945) describen la existencia de una nueva raza (raza 2) a la cual todos los cultivos resistentes a la raza 1 eran susceptibles. La resistencia a ambas razas 1 y 2 fue identificada en la línea PI 126915 de *L. pimpinellifolium* (Alexander y Hoover, 1955). Cirulli y Alexander (1966) determinan que esta resistencia fue controlada por dos genes, uno con resistencia a la raza 1 y el otro confiere resistencia a la raza 2. Estos autores supusieron que el símbolo I-1 representa el gen para resistencia PI 79532 a la raza 1 y que I-2 representa el gen PI 126915 para resistencia a la raza 2.

Stall y Walter (1965) trabajando en Florida encuentran el primer cultivo resistente a las dos razas de FOL obtenido de la cruce *L. pimpinellifolium* x *L. esculentum* denominado PI 126915 determinando que el tipo de

resistencia era monogénica dominante. Cuatro años más tarde Stobel et al. (1969) incorporando el gen para resistencia a las dos razas al cultivo que le denominaron "Walter" siendo éste el primer cultivo comercial para resistencia a las dos razas.

Grattidge y O'Brien (1982) informan la aparición de la raza 3 en el área tomateras de Bowen. Qld, pero también la aparición de esta raza ha sido confirmada en Florida (Volin y Jones, 1983).

McGrath (1988) en Australia obtuvo resistencia en FOL raza 3 derivada de *L. pennellii* D'Aray PI 414773 controlada por un carácter dominante simple I-3, a esta línea la denominó BHRS 2-3 (Bowen Horticultural Research Station 2-3) la cual además de proporcionar resistencia a la raza 3 de este hongo, proporciona resistencia a la raza 1 y 2.

Recientemente, Chellemi y Dankers (1992) han descrito la aparición de esta raza en Florida y Georgia, indicando que en la actualidad no existen variedades comerciales aceptables con resistencia a la raza 3 de este hongo (*F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*).

Jorge et al. (1992) al hacer aplicaciones con *Fusarium* y *Verticillium* en tomate para incrementar su resistencia a *Fusarium* observaron que cuando se incrementa el

intervalo de inoculación entre *Fusarium* y *Verticillium*, disminuye el nivel de resistencia, y cuando se inocula simultáneamente con *Fusarium* y *Verticillium* a diferentes concentraciones, se observa que conforme se disminuye la concentración de *Fusarium* y se incrementa la de *Verticillium*, el nivel de resistencia va disminuyendo. También ocurría un aumento de resistencia en niveles bajo pero significativos en tomate resistente a *Verticillium*, cuando se inoculaba al mismo tiempo con conidias de *Verticillium dahliae* y FOL. El incremento de la resistencia de ambos casos, aparentemente era atribuible a un efecto antagónico entre ambos patógenos.

Variedades que presentan resistencia a las dos razas de *Fusarium* (1 y 2) son; Contessa, Blazer y Duke. Florida MH-1 que presenta resistencia a estas dos razas y a *Stemphylium*. Otras variedades que presentan resistencia a las dos primeras razas de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* y *Verticillium albo-atrum* son Floradade y Haslyp (Tigghelaar, 1986).

#### Mecanismos de Resistencia a *Fusarium* spp.

La resistencia que el hospedero ejerce sobre un patógeno es el resultado final de ciertos mecanismos que actúan conjunta y simultáneamente y reaccionan contra el

patógeno. Los mecanismos de resistencia presentes antes de la invasión (preexistentes) o formados como respuesta al ataque (postexistentes). En ambos tipos de respuesta la planta produce barreras físicas y químicas cuya función es inhibir, impedir, limitar y aun causar la muerte del patógeno (Agrios, 1991).

Charest et al. (1984) al inocular con *Fusarium* plantas de tomate observó que de 12 a 24 hrs después de la inoculación la epidermis era colonizada. Hasta las 96 hrs el patógeno permaneció en el área cortical exterior donde las células del hongo se establecieron en cada espacio inter o intracelular, el hospedero formó una papila en la célula cortical. En el área cortical, el citoplasma y la célula de la pared del hospedero fueron afectadas, principalmente desintegrando toda la raíz colonizándose esta cerca de 144 hrs después de la inoculación. Entre 96 y 120 hrs las hifas fueron visibles en la endodermis, y 24 hrs después la estela vascular fue colonizada.

Beckman (1964) al inocular con *Fusarium* plantas de tomate resistentes observó que estas formaban capas de tilosas rápidamente como respuesta al ataque del patógeno y era lo que les daba la resistencia.

El hospedero que ha sido infectado puede reducir el flujo de agua al desintegrarse o disminuir el tamaño de sus



vasos cuando son infectados formándose tilosas en ellos debido a los grandes compuestos moleculares presentes en los vasos como respuesta a las enzimas que secreta el patógeno (Agrios, 1991).

Brammall y Higgins (1988a) al inocular plantas de tomate susceptibles y resistentes con FORL observaron que en las variedades resistentes después de 72 hrs de inoculadas éstas presentaban papilas en abundancia en las células hipodérmicas en respuesta al ataque del hongo. Además observaron que en ambas variedades resistentes y susceptibles, la producción de papilas fue una respuesta común a la penetración de la hipodermis sin embargo, solamente hubo penetración en las variedades susceptibles.

En tomate, la papila es generalmente interpretada que confiere resistencia a la penetración del hongo (Griffths y Lim, 1964; Griffths, 1971; Bishop y Cooper, 1983).

Campbell et al. (1980) al trabajar con plantas de tomate que fueron tratadas para asegurar una mayor acumulación de pectatos de calcio encontraron que se volvían más resistentes a *Fusarium*.

Charest *et al.* (1984); Brammall y Higgins (1988a) en el cultivo de tomate observaron que la muerte de las células de la raíz ocurre rápidamente cuando hay contacto del protoplasto de hospedero con la hifa del hongo de FOL y FORL respectivamente.

Brammall y Higgins (1988b) al aplicar glyfosfato a plantas de tomate susceptibles y resistentes a FORL observaron que al incrementar los niveles de glyfosfato a las 24 hrs después de la inoculación se producía un incremento en los niveles de susceptibilidad en los materiales de tomate que normalmente eran resistentes a este hongo y además inhibía la formación de compuestos aromáticos y suberina en la pared de las células de la corteza que es una respuesta normal de los cultivos resistentes a la penetración del patógeno.

Chamberland *et al.* (1991) demostraron que el incremento de pectinesterasa en cultivos susceptibles a FORL están asociados con los síntomas típicos celulares de la enfermedad y que además ésta es localizada sobre material fibroso presente en espacios intercelulares en ambos tejidos vascular y cortical, y puede contribuir a la pérdida parcial de los síntomas característicos de esta enfermedad.

## Métodos para Inducir la Enfermedad.

Básicamente las técnicas que se han utilizado para inducir la enfermedad por *Fusarium sp.* en diversos hospederos, son la natural y la artificial. La primera consiste en cultivar plantas en terrenos infestados por el patógeno, la última es la que se ha utilizado más ya que permite tener mayor uniformidad tanto en la cantidad de inóculo aplicado como la reducción de riesgo por escape del hospedero.

El tipo de inoculación artificial para *Fusarium* difiere tanto por el sitio en la planta a inocular (raíz, pecíolo, tallo, meristemo) como por la forma en que se aplica el inóculo (infestando el suelo, inmersión temporal antes de plantar, inmersión permanente, aspersión) y hasta por su aplicación de sus metabolitos (toxinas). La combinación entre el sitio inoculado y como se aplicó el patógeno, es conocido como método de inoculación (Dávalos, 1990).

Los métodos que a continuación se mencionan son los utilizados para esta investigación.

Inoculación de la Semilla con Suspensión de Esporas al Momento de la Siembra.

Este tipo de inoculación ha sido poco utilizada en el cultivo de tomate, pero es el método más efectivo para inducir enfermedades por *Fusarium* (Rowe, 1980; Berry y Oakes, 1987).

En referencia a lo anterior Berry y Oakes (1987) ellos prepararon el inóculo con microsporas de FORL producidas en PDA cultivadas a 25°C por tres a cuatro días. Las microsporas las filtraron en una manta y midieron la concentración de esporas con un hematocítometro a una proporción de cinco millones de esporas por mililitro. Las semillas de tomate las sembraron en suelo estéril a un centímetro de profundidad e inmediatamente después lo asperjaron con una solución de esporas a una tasa de 5 cm de inóculo por 35 cm de largo del surco sembrado, las plantas las mantuvieron bajo condiciones de invernadero.

Inmersión de Plántulas en Suspensión de Esporas.

Este método de inoculación es uno de los más utilizados en tomate por medio del cual se han obtenido favorables resultados al inducir la enfermedad provocada por

diversas formas especiales de *Fusarium oxysporum* (Brammall y Higgins, 1988a; Rowe, 1980).

Dicho método consiste en sumergir las raíces de las plantas en una solución de esporas por algunos segundos, transplantarlas y dejarlas que se desarrollen normalmente, observando periódicamente sus síntomas. Este método es usado comúnmente en especies de chícharo, jitomate, rábano, fresa y algunas otras especies.

En referencia a este método de inoculación Rowe (1980) produjo microsporas en un medio de cultivo a base de papa-dextrosa, las cultivo alrededor de 25°C por tres a cuatro días. La suspensión de microsporas la filtró en una manta y la concentración final la ajustó a cinco millones de esporas por mililitro. Las raíces de plantas de tomate de 15 a 20 días de edad de varias líneas las lavó para quitar el exceso de suelo y posteriormente las sumergió en la suspensión de microsporas por un tiempo de 15 a 30 segundos y posteriormente las transplantó en bolsas de plástico y las mantuvo bajo condiciones de invernadero por ocho a veinte semanas.

### Programas de Mejoramiento.

Las prácticas de mejoramiento más usuales son el método de pedigrí, retrocruzamientos, descendencia de una sola semilla y combinaciones de éstas. Las cruzas se dificultan más en otras especies de *Lycopersicon* pero cuando se usan técnicas modernas como rescate de embriones se puede obtener híbridos. Esto es toda la utilización de germoplasma de tomate utilizando mejoramiento genético (Rick, 1990; Tigghelaar, 1986).

Se han utilizado especies silvestres especialmente de *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*, el tomate silvestre cereza y otros cultivos primitivos que han sido utilizados para los problemas de mejoramiento derivando características tales como incremento de rendimiento y resistencia a enfermedades, mediante la introducción de genes favorables a materiales exóticos (Rick, 1990). Estas introducciones han tenido mucho uso por ejemplo obtención de resistencia a 16 enfermedades causadas en las hojas de las cuales ocho especies son silvestres y de ellas solamente tres presentan frutos coloreados.

En mejoramiento genético para resistencia a enfermedades, se tiene que hay contribuciones de mejoramiento para el desarrollo de cultivos resistentes a patógenos

comunes, observando que la obtención de variedades resistentes es la mejor forma de control de dichas enfermedades pero que estos materiales son difícil de obtener ya que la mayoría de los patógenos tienen una amplia capacidad de variación para formar nuevas razas, o encuentran nuevas formas para causar el daño, mediante la introducción de cultivos resistentes y mediante la identificación de genes relacionados con dicha resistencia se ha podido reducir su daño dicha resistencia fue derivada de especies silvestres de tomate incorporada a cultivos adaptados por medio de mejoramiento por retrocruzas (Rick, 1990; Tigghelaar, 1986).

## MATERIALES Y METODOS

### Descripción del Área de Estudio

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos e Invernadero de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" (UAAAN) localizada en Buenavista, Mpio. de Saltillo, Coah., situada entre las coordenadas, 25° 22' latitud Norte, 101° 00' latitud Oeste y una altura de 1742 msnm (CETENAL, 1975).

El trabajo de investigación que a continuación se presenta constó de cuatro fases, que son las siguientes:

- Incremento del germoplasma y selección del material utilizado.
- Incremento masivo del hongo *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*.
- Inoculación del germoplasma.
- Evaluación del germoplasma.



Incremento del Germoplasma y Selección del Material Utilizado.

Para el presente trabajo se utilizó semilla de tomate de diferentes orígenes, proporcionadas por el programa de conservación de recursos genéticos de la Universidad de Davis California a través del Dr. Rick. Para su incremento esta semilla fue sembrada bajo condiciones controladas en invernadero, la siembra se realizó en diciembre de 1993. La recolección de frutos para semilla se efectuó de mayo a octubre de 1994 manteniendo durante todo este tiempo a las plantas libres de plagas y enfermedades. En el Cuadro 3.1 se presenta la descripción de estos materiales.

Cuadro 3.1. Descripción de los materiales de tomate provenientes de Davis California.

IDENTIDAD	COLOR DE FRUTO	ORIGEN	USO
<i>L. esc. prim. cv.</i> <sup>1</sup>			Resistencia
LA.395 (B4L6501*)	Rojo	Perú	Enfermedades
LA.113 (91L5355*)	"	"	
LA.473 (90L3543*)	"	"	
LA.477 (86L9441*)	"	"	
LA.404 (90L335*)	"	"	
LA.134C (90L3516*)	"	"	
LA.126 (90L3515*)	"	Ecuador	
LA.1251 (90L3575*)	"	"	
LA.409 (90L3536*)	"	"	
LA.1021 (84L6594-1,2*)	"		
LA.146 (91L5356*)	"	México	
LA.468 (83L4649*)	"	Chile	
LA.466 (83L4-48*)	"	"	
LA.358 (90L3531*)	"	Colombia	
LA.172 (84L6491-4*)	Amarillo	Bolivia	

Cuadro 3.1.....Continuación

IDENTIDAD	COLOR DE FRUTO	ORIGEN	USO
LA.1162(89L2530*)	Rojo		
LA.147(90L3518*)	"	Honduras	
<i>L. esc. cv. Edkawi</i> <sup>1</sup>			
LA.2711(86L9489*)	Rojo	Egipto	
<i>L. esc. cv. Malintkalol</i> <sup>1</sup>			
LA.3120(91L5342*)	"		
<i>L. esc. cv. 204C</i> <sup>1</sup>			
LA.3130(91L5425*)	"	U.S.A.	
<i>L. esc. cv. Motelle</i> <sup>1</sup>			
LA.2823(87L0382*)	"		
<i>L. esc. cv. Saladette</i> <sup>1</sup>			
LA.2662(88L1368*)	"		
<i>L. esc. cv. Nagcarlang</i> <sup>1</sup>			
LA.2661(85L8310*)	"		
<i>L. Peruvianum</i> <sup>2</sup>			Resistencia
<i>f. humifusum</i>			Enf. Insect.
LA.385(78L488Mass-sib)	Verde	Perú	y Nemátodos
LA.111(8427104)Mass-sib	"	"	"
LA.462(79L4445-4449)	"	Chile	"
Mass-sib			
<i>f. glandulosa</i>			
LA.1292(91L5792)	"	Perú	"
Mass-sib			
<i>L. pimpinellifolium</i> <sup>3</sup>			Resistencia
LA.722(8629486*)	Rojo	"	enfermedades
Amazonas	"	"	y Nemátodos
LA.2184(87L0413*)	"	"	"
<i>L. chmielewskii</i> <sup>4</sup>			Altos
LA.2663(85L8673-8676)			Sólidos
Mass-sib	Verde	Perú	solubles
LA.1306(87L0413*)	"	"	
Mass-sib	"	"	
<i>L. chesmanii</i> <sup>3</sup>			Resistencia
<i>f. minor</i>			Enfermedades
LA. 317(82L2446*)	Rojo	Ecuador	Altos
LA.1401(85L8098*)	"	"	Sólidos
<i>f. typicum</i>			Solubles
LA.166(82L2523*)	"	"	y DNP
<i>L. pennellii</i> <sup>1,2</sup>			Resistencia
LA.716(86L9637)			a Sequía
Mass-sib	Verde	Perú	Insectos y
<i>var. puberuleum</i>			DNP
LA.1926(88L1763)	"	"	
Mass-sib			
<i>L. parviflorum</i> <sup>3</sup>			Altos
LA.1326(81L572*)	"	"	sólidos
			solubles

Cuadro 3.1.....Continuación

IDENTIDAD	COLOR DE FRUTO	ORIGEN	USO
<i>L. esc. var. cerasiforme</i> <sup>1</sup> LA.1673 (83L4805*)	Rojo	Perú	Tolerante a Sales
<i>L. hirsutum</i> <sup>3</sup> <i>f. glabratum</i> LA.1223 (86L9840) Mass-sib	Verde	Ecuador	Resistencia Enfermedades Insectos y DNP
LA.1353 (85L9839) Mass-sib	"	Perú	
<i>L. chilense</i> <sup>2</sup> LA.1958 (89L2835) Mass-sib	Verde	"	Resistencia Enfermedades Nemátodos y Sales
LA.1959 (89L2836) Mass-sib	"	"	
LA.1972 (91L5855) Mass-sib	"	"	
LA.1963 (85L1851) Mass-sib	"	"	
LA.2884 (82L588+638) Mass-sib	"	Chile	
<i>S. lycopersicoides</i> LA.2408 (82L3116) Mass-sib		"	Resistencia a Virus
LA.2951 (81L206+2862) Mass-sib		"	
LA.1964 (90L4193) Mass-sib		Perú	
Manapal	Rojo	USA	Resistencia a F.o.l. raza 1
Walter	"	"	Resistencia a F.o.l. raza 1 y 2
I <sub>3</sub> R <sub>3</sub>	"	"	Resistencia a F.o.l. raza 3
Bonnie Best	"	"	

\*. Autógamo; DNP= Disturbios no Patogénicos; 1. Autógamo; y. Autoincompatible, Alógamo; 3. Autocompatible, Autógamo; 4. Autocompatible, Alógamo.

Posteriormente se escogieron 20 introducciones para ser evaluados según su respuesta a *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici*. Los materiales escogidos para ser

evaluados fueron aquellos que tenían suficiente cantidad de semilla y que de acuerdo a la bibliografía revisada eran los más indicados para mostrar resistencia al hongo (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2 Descripción de los materiales de tomate utilizados en la evaluación para resistencia.

No DE ORDEN	IDENTIDAD	COLOR DE FRUTO	TAMAÑO DE FRUTO	ORIGEN
	<i>L. esc. prim. cv</i>			
1	LA.404(90L335*)	Rojo	Grande	Perú
2	LA.1251(90L3575*)	"	"	Ecuador
3	LA.1021(84L6594-1,2*)	"	Mediano	"
4	LA.468(83L4649*)	"	Grande	Chile
5	LA.172(84L6491-4*)	Amarillo	Chico	Bolivia
6	LA.147(90L3518*)	Rojo	Mediano	Honduras
	<i>L. Esc. Cv. Edkawi</i>			
7	LA.2711(86L9489*)	"	"	Egipto
	<i>L.esc. cv saladette</i>			
8	LA.2662(88L1368*)	"	"	USA
	<i>L. pimpinellifolium</i>			
9	LA.722(8629486*)	"	Pequeño	Perú
	Amazonas			
10	LA.2184(87L0413*)	"	"	"
	<i>L. chmielewski</i>			
11	LA.1306(87L0617 Mass-sib	Verde	"	"
	<i>L. chesmanii f. minor</i>			
12	LA.1401(85L8098*)	Rojo	"	Ecuador
	<i>L. parviflorum</i>			
13	LA.1326(81L572*)	Verde	"	Perú
	<i>L. esc. var. cerasiforme</i>			
14	LA.1673(83L4805*)	Rojo	Chico	"
	<i>L. hirsutum f. glabratum</i>			
15	LA.1223(86L9840) Mass-sib	Verde	Pequeño	Ecuador
	<i>L. chilense</i>			
16	LA.1963(85L1851) Mass-sib	"	"	Perú
17	Manapal	Rojo	Mediano	USA
18	Walter	"	"	"
19	I,R,	"	"	"
20	Bonnie Best	"	"	"

\* = Autofecundación

Cabe mencionar que los materiales presentados en el cuadro anterior la mayoría tiene compatibilidad reciproca con *L. esculentum* a excepción de los siguientes materiales; *L. pennellii* y *L. hirsutum* LA.1353(85L9840) Mass-sib que tienen compatibilidad unilateral y los materiales *L. peruvianum* y *L. chilense* en los que solamente se puede obtener por medio de cultivo de embriones.

Incremento Masivo del Hongo *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*.

El hongo utilizado fue proporcionado por la Universidad de Davis California. Este hongo se incrementó masivamente en cajas petri a base de Papa-Dextrosa-Agar (PDA) esterilizadas en una autoclave a 120°C por 20 minutos las cajas se llenaron e inocularon con *Fusarium* en una cámara de flujo laminar, posteriormente se colocaron en una cámara de germinación a una temperatura de 25°C por ocho días, después de ese tiempo el hongo fue inoculado a plantas de tomate de *Lycopersicon* susceptibles (Manapal, Walter, I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> y Bonnie Best) después de 15 días de nacidas para que no perdiera su agresividad. Las plantas inoculadas se sembraron en suelo estéril y se mantuvieron bajo condiciones de invernadero por 20 días, después de ese tiempo las plantas que presentaron los síntomas característicos de la enfermedad fueron seleccionadas.

Las plantas seleccionadas se lavaron y de la parte dañada donde era apreciable el avance de la enfermedad, se cortaron trozos pequeños, se lavaron y desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al cinco por ciento por 15 segundos, se enjuagaron y posteriormente fueron colocados en PDA por un período de siete días a 25°C; después de ese tiempo se procedió a purificarlo.

Para purificar el hongo se preparó PDA con un PH ácido de 3.5, selectivo para *Fusarium oxysporum* Komada (1975); el medio se vació a cajas petri en una cámara de flujo laminar y se inoculó con el hongo, se incubó a 25°C por tres a cuatro días. Posteriormente parte del hongo fue colocado en cajas petri con PDA a PH normal (5.5 aproximadamente) a 25°C por 10 a 14 días para su reproducción masiva.

#### Inoculación del Germoplasma Utilizado.

Una vez incrementado el hongo se procedió a llevar a cabo las inoculaciones. Para ello se utilizaron dos métodos de inoculación que son los siguientes;

## Método 1

Semilla de los 20 materiales seleccionados fueron sembradas bajo condiciones controladas en invernadero. Del contenido de ocho cajas petri licuadas con todo y medio en agua estéril, se extrajeron tres diluciones de esporas de ocho, cinco y tres millones de esporas por mililitro, las cuales se contaron con un hematocitómetro. Cinco plantas de 15 días de nacidas de cada línea fueron sumergidas en cada una de las diluciones dañando previamente la raíz con tijeras, posteriormente estas fueron transplantadas individualmente en vasos de nieve seca en suelo esterilizado con bromuro de metilo al 98 por ciento y mantenidas bajo condiciones de invernadero.

## Método 2

Para este método se utilizaron 50 semillas por cada material, para preparar las diluciones se extrajeron las esporas de un medio líquido el cual se preparó con papa y dextrosa inoculado con el hongo y mantenido por tres a cuatro días en constante movimiento, se utilizaron las mismas diluciones que el método anterior. Las semillas fueron inoculadas al momento de la siembra, asperjando con 5 cm de inóculo por 25 cm de largo de surco conteniendo 25 semillas. La siembra se efectuó en suelo estéril (Peat most). Se dejaron 50 semillas testigo por cada

concentración las cuales fueron mantenidas bajo las mismas condiciones de invernadero.

### Evaluación del Germoplasma.

Las plantas inoculadas bajo el Método 1 fueron evaluadas después de 20 días, observando los síntomas característicos de la enfermedad en las raíces y síntomas aéreos (tallo y hojas). Para llevar a cabo la evaluación se utilizó la siguiente escala de evaluación, la cual fue adaptada de Rowe, (1980).

0= Raíces y corona sanas.

1= Coloración interna (usualmente manchas localizadas en raíces secundarias y dado más abajo de la base de la raíz).

2= Daño interno moderado a severo hasta la base de la raíz.

3= Daño interno severo extendiéndose de la base de la raíz hasta más arriba de la línea del suelo.

4= Plantas muertas (estas fueron consideradas de acuerdo al porcentaje de germinación o número de plantas inoculadas.

Las plantas del método 2 permanecieron en el invernadero durante 14 semanas, evaluando germinación cada tercer día hasta alcanzar el máximo. A las cuatro semanas de



nacidas se hizo la primera evaluación de la enfermedad utilizando la misma escala que el método anterior observando cuidadosamente las raíces para evitar que se dañaran, terminando la evaluación las plantas fueron transplantadas para una segunda evaluación. Esta segunda evaluación se llevó a cabo a las 10 semanas después de la primera. La evaluación consistió en observar interna y externamente a la planta, internamente se observó el avance de la enfermedad haciendo un corte longitudinal con una navaja y externamente se observaron los síntomas visibles. De los resultados obtenidos de la última evaluación se seleccionaron las fuentes de resistencia al patógeno.

#### Descripción de Tratamientos y Diseño Experimental.

Para analizar la respuesta a la dosis de *Fusarium* fue necesario sembrar dos experimentos. En el ensayo uno se empleó el método uno de inoculación y para el ensayo dos se utilizó el segundo método respectivamente.

En los dos experimentos se manejó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de dos factores donde, el factor A correspondió a variedades. El factor B a las dosis aplicadas. El experimento uno constó de cinco repeticiones con una unidad experimental de una planta, mientras que en el experimento dos se utilizaron dos

repeticiones con diferente número de plantas por material considerando el porcentaje de germinación máximo obtenido.

#### VARIABLES CONSIDERADAS.

El ensayo uno permaneció en observación 20 días, hasta esa fecha se hizo la lectura de las siguientes variables;

- a). Índice de enfermedad.
- b). Por ciento de plantas enfermas.
- c). Promedio de plantas muertas.

El ensayo dos permaneció 14 semanas en observación, durante este tiempo se midieron las siguientes variables;

- a). Germinación total.
- b). Índice de enfermedad.
- c). Por ciento de plantas enfermas.
- d). Promedio de plantas muertas.

En ambos experimentos se hizo una estimación del daño ocasionado por *Fusarium* mediante los síntomas observados tanto en la parte aérea como en la raíz interna y externamente. Los valores obtenidos de las evaluaciones con el índice de selección utilizado se asignaron a los síntomas observados y la suma total de la lectura fue el

llamado índice de enfermedad. Así tenemos que, si una planta se secó en la evaluación su índice sería  $4 \times 1$  (lecturas) = 4 éste sería el máximo (Dávalos, 1990) y al transformar su valor con arcoseno raíz cuadrada de " $y + 1/2$ " su índice quedaría igual a 12.25, mientras que para las plantas sanas su índice sería  $0 \times 1$  (lecturas) = 0 y al hacer la transformación su valor quedaría igual a 4.06.

### Análisis Estadístico.

En los dos ensayos los datos originales de todas las variables se transformaron con arcoseno raíz de " $y$ " y arcoseno raíz de " $y + 1/2$ " para las variables que presentaron valores de cero Steel y Torrie (1992) a excepción de promedio de plantas muertas en las cuales se utilizaron los datos originales.

Los modelos estadísticos utilizados con un  $\alpha = 0.05$  (significativo, \*) y  $\alpha = 0.01$  (altamente significativo, \*\*) son los siguientes;

- a). Diseño completamente al azar con arreglo factorial de dos factores.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + A_i B_j + E_{ijk}$$

donde:

$Y_{ijk}$  = Variable de respuesta

$\mu$  = Media general

$A_i$  = Efecto del germoplasma

$B_j$  = Efecto de las dosis aplicadas

$E_{ijk}$  = Error experimental

$i$  = 1,2.....20 (germoplasma)

$j$  = 1,2....4 (dosis de inóculo)

$k$  = 1,2 y 5 (repeticiones)

Por haberse detectado heterogeneidad de varianza, se sometieron a prueba de rango múltiple aquellas variables que resultaron significativas en el análisis estadístico. Además se hizo un análisis de contrastes ortogonales éstos mediante la diferenciación de resistentes, susceptibles y extremadamente susceptibles. Se les dio la categoría de resistencia a aquellos materiales que tuvieron un índice de daño menor o igual a 4.06, los materiales que presentaron un índice entre 7.03 y 8.13 se consideraron susceptibles y aquellas que mostraron un índice más alto a estos valores se les consideró como extremadamente susceptibles.

## RESULTADOS

Los resultados que a continuación se presentan son derivados de los objetivos e hipótesis que se plantearon para este trabajo. El comportamiento de las variables será abordado en función a los dos métodos de inoculación: inmersión de plántulas en suspensión de esporas e inoculación de las semillas con esporas al momento de la siembra. Es importante mencionar que en el segundo método se incluye la variable por ciento de germinación debido al tipo de inoculación que se utilizó.

### Inmersión de Plántulas en Suspensión de Esporas

Los datos obtenidos de índice de enfermedad utilizando el primer método de inoculación después de haber sido analizados estadísticamente, el Cuadro 4.1 muestra una alta significancia para todas las fuentes de variación con un  $\alpha = 0.01$ , el coeficiente de variación para esta variable fue de 15.88 por ciento respectivamente. Se formularon algunos contrastes para observar el comportamiento de esta variable en los diversos materiales.

Cuadro 4.1 Cuadrados medios de las variables correspondientes al método uno.

F.V.	G.L.	Indice de Enfermedad	% de Plantas Enfermas
Tratamientos	79	21.48 **	590546.37 **
Germoplasma	19	3.563528 **	3081.75 **
Dosis	3	498.621735 **	577580.63 **
Ger. X Dosis	57	2.338919 **	9884.00 **
Error	320	1.351856	25455.5
C.V. (%)		15.833522	13.394364

\*\* : Diferencia altamente significativa ( $\alpha = 0.01$ ).

El índice de enfermedad encontrado en cada uno de los cultivares con las dosis aplicadas utilizando el método de inmersión de plántulas en suspensión de esporas se encuentra en el Cuadro 4.2, en él se observa que todos los materiales resultaron susceptibles hasta con la dosis más baja, no pudiendo discriminar materiales resistentes y susceptibles, posiblemente por haber hecho el corte a la raíz, que es posiblemente donde pudieron tener la resistencia.

Cuadro 4.2. Índice promedio de enfermedad en 20 cultivares de *Lycopersicon spp.* inoculados con tres dosis de FORL utilizando el método de inmersión de plántulas en suspensión de esporas.

Materiales Utilizados	Dosis de Inóculo (millones de esporas por mililitro)		
	3	5	8
<i>L. esc. primitivo cv</i>			
1.- LA.404(90L335*)	8.2720	8.6860	8.6860
2.- LA.1251(90L3575*)	8.6860	10.99	8.6860
3.- LA.1021(84L6594-1,2*)	8.2720	9.022	9.1
4.- LA.468(83L4649*)	7.444	8.6860	9.022
5.- LA.172(84L6491-4*)	7.444	8.2720	7.858
6.- LA.147(90L3518*)	7.444	8.6860	9.316
<i>L. esc. cv. edkawi</i>			
7.- LA.2711(86L9489*)	7.858	9.1	9.022
<i>L. esc cv saladette</i>			
8.- LA.2662(88L1368*)	7.444	9.694	9.1
<i>L. pimpinellifolium</i>			
9.- LA.722(8629486*) Amazonas	8.902	8.686	8.272
10.- LA.2184(87L0413*)	7.444	8.272	9.022
<i>L. chmielewskii</i>			
11.- LA.1306(87L0617) Mass-sib	7.03	8.272	7.894
<i>L. cheesmanii f. minor</i>			
12.- LA.1401(85L8098*)	7.03	8.686	8.686
<i>L. parviflorum</i>			
13.- LA.1326(81L572*)	8.886	9.436	8.608
<i>L. esc. var. cerasiforme</i>			
14.- LA.1673(83L4805*)	8.272	7.858	8.688
<i>L. hirsutum f. glabratum</i>			
15.- LA.1223(86L9840) Mass-sib	7.858	10.108	9.772
<i>L. chilense</i>			
16.- LA.1963(85L1851) Mass-sib	9.316	8.272	9.946
17.- Manapal	7.03	7.444	7.444
18.- Walter	7.03	7.858	11.206
19.- I.R.	8.272	7.444	8.272
20.- Bonnie Best	5.842	8.074	8.488

\* = Autofecundación

En el Cuadro 4.3 se observan los resultados de los contrastes, los cuales resultaron no significativos, esto quiere decir que, estadísticamente todas las variedades se comportaron de igual forma ante la aplicación de las diferentes dosis de inóculo de FORL, no importando el color y tamaño de los frutos.

En la Figura 4.1 se puede observar el índice promedio de las veinte variedades con las dosis aplicadas, se observa un incremento en el índice de enfermedad a medida que se aumenta la densidad del inóculo. Para los testigos se obtuvo un índice de 4.06 y para las dosis aplicadas 7.68, 8.67 y para la dosis más alta 8.85 respectivamente. Las plantas inoculadas con tres millones de esporas resultaron susceptibles y las plantas inoculadas con las dosis restantes presentaron una extrema susceptibilidad, esto debido posiblemente a la forma de inoculación que se utilizó ya que se esperaba que al menos un material resultara resistente a la dosis más baja aplicada.



Cuadro 4.3. Análisis de varianza correspondiente al índice de enfermedad y sus contrastes.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Tratamientos	79	1696.89024	21.48	15.89 **
Germoplasma	19	67.7070	3.5635	2.6360**
C <sub>1</sub>	1	1.2013	1.2013	0.8887 <sup>NS</sup>
C <sub>2</sub>	1	0.1263	0.1263	0.0934 <sup>NS</sup>
C <sub>3</sub>	1	0.6199	0.6199	0.4586 <sup>NS</sup>
C <sub>4</sub>	1	1.2945	1.2945	0.9576 <sup>NS</sup>
C <sub>5</sub>	1	0.0002	0.0002	0.0001 <sup>NS</sup>
C <sub>6</sub>	1	1.4264	1.4264	1.0551 <sup>NS</sup>
C <sub>7</sub>	1	0.1420	0.1420	0.1051 <sup>NS</sup>
Dosis	3	1495.8652	498.6217	368.8425**
Ger. X Dosis	57	133.3184	2.3389	1.7302**
Error	320	432.5938	1.3519	
Total	399	2129.4844		
C.V. (%)				15.8835

NS = No significativo y \*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ ) respectivamente. C<sub>1</sub> = Manapal, Walter, y I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> Y Bonnie Best (17,18,19 y 20) vs *L. pimpinellifolium* (9 y 10). C<sub>2</sub> = *L. chmielewskii* (11), *L. parviflorum* (13), *L. hirsutum* (15) y *L. chilense* (16) vs *L. pimpinellifolium* (9 y 10). C<sub>3</sub> = *L. pimpinellifolium* (9 y 10) vs *L. Esc. Prim.*(5). C<sub>4</sub> = *L. chmielewskii* (11), *L. parviflorum* (13), *L. hirsutum* (15) y *L. chilense* (16) vs *L. esc. prim.* (5). C<sub>5</sub> = Manapal, Walter, I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> y Bonnie Best vs *L. esc. prim.* (5). C<sub>6</sub> = Las líneas 1-4, 6-8, 12 y 14 vs *L. esc. prim.* (5) C<sub>7</sub> = Las líneas 1-4, 6-8, 12 y 14 vs *L. pimpinellifolium* (9 y 10).

En cuanto a por ciento de plantas enfermas en el Cuadro 4.1 podemos observar que se obtuvo una diferencia altamente significativa para todas las fuentes de variación, esto quiere decir que al menos una variedad presentó plantas enfermas o se comportó de forma distinta ante la aplicación de las diferentes dosis de inóculo. Esta variable manifestó un coeficiente de variación de 13.39 por ciento.

Las líneas de tomate reaccionaron de manera similar a las dosis de *F. oxysporum* evaluadas. De acuerdo a la

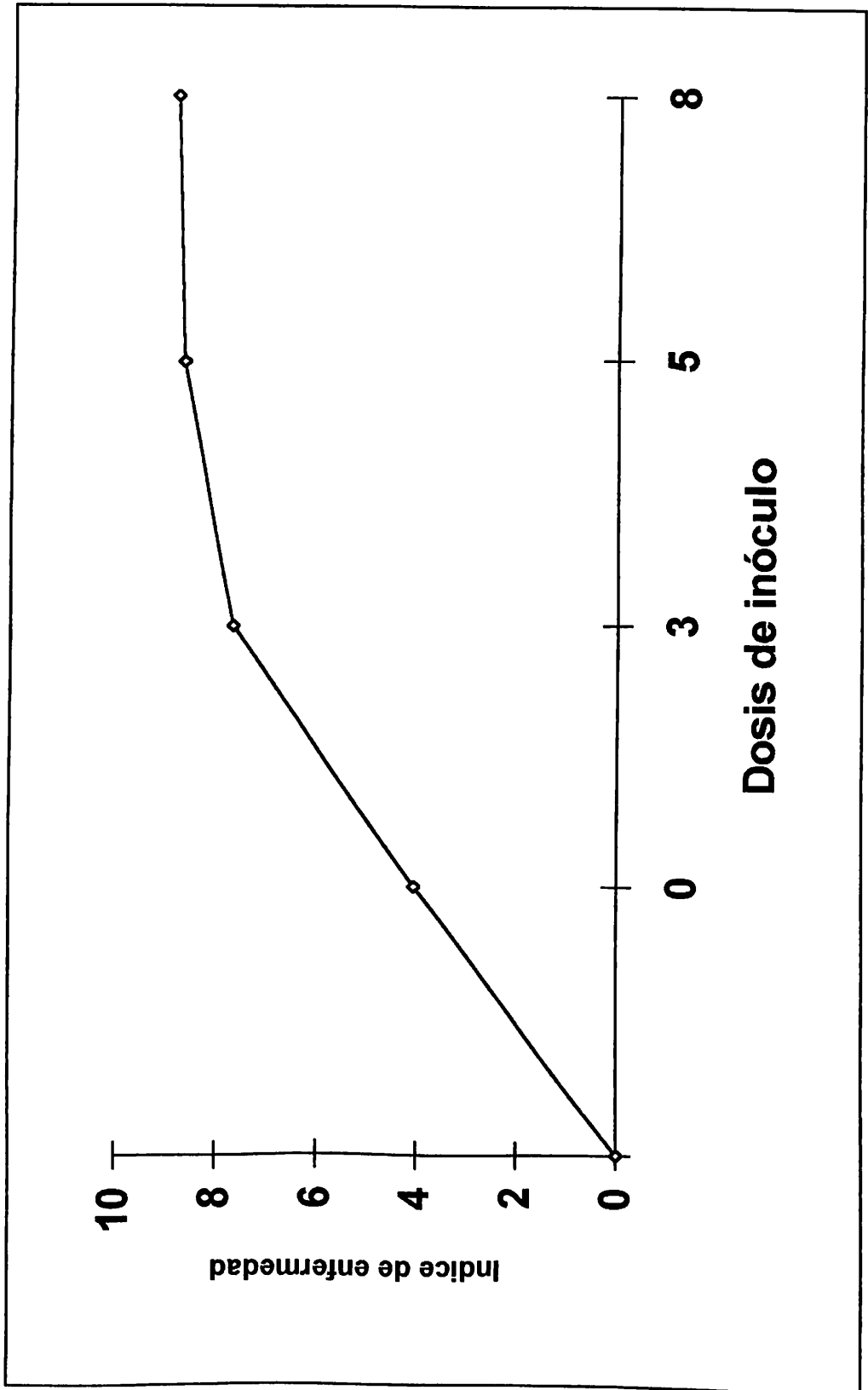


Fig. 4.1 Relación de dosis de inóculo de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* con el índice promedio de los 20 cultivares inoculados.

Figura 4.2 el por ciento de plantas enfermas fue muy alto para las tres dosis. Para la dosis más baja se obtuvo un 96 por ciento y para las más altas un 100 y 99 por ciento respectivamente, mientras que para los testigos no se presentaron plantas enfermas. Cabe mencionar que estos valores se tomaron de los datos originales. Aunque no es mucha la diferencia, se puede observar menos plantas enfermas con la primera dosis de inóculo aplicado. Esta no muy marcada diferencia se la atribuimos a que el tiempo de evaluación fue muy corto (20 días) y posiblemente las condiciones ambientales en las cuales se encontraban los cultivares no fueron las adecuadas para que se permitiera el desarrollo de la enfermedad y se pudieran observar con mayor claridad las diferencias entre dosis.

Con respecto a la variable promedio de plantas muertas es importante mencionar que los datos se obtuvieron de los promedios originales de los 20 materiales. En la Figura 4.3 se presenta la relación de estos datos, en ella se puede apreciar que a medida que incrementamos la dosis de inóculo se obtiene un mayor número de plantas muertas, así tenemos que para los testigos no se presentaron plantas muertas mientras que para las dosis de 3, 5 y 8 millones de esporas se obtuvo un promedio de 3, 4 y 9 de plantas muertas.

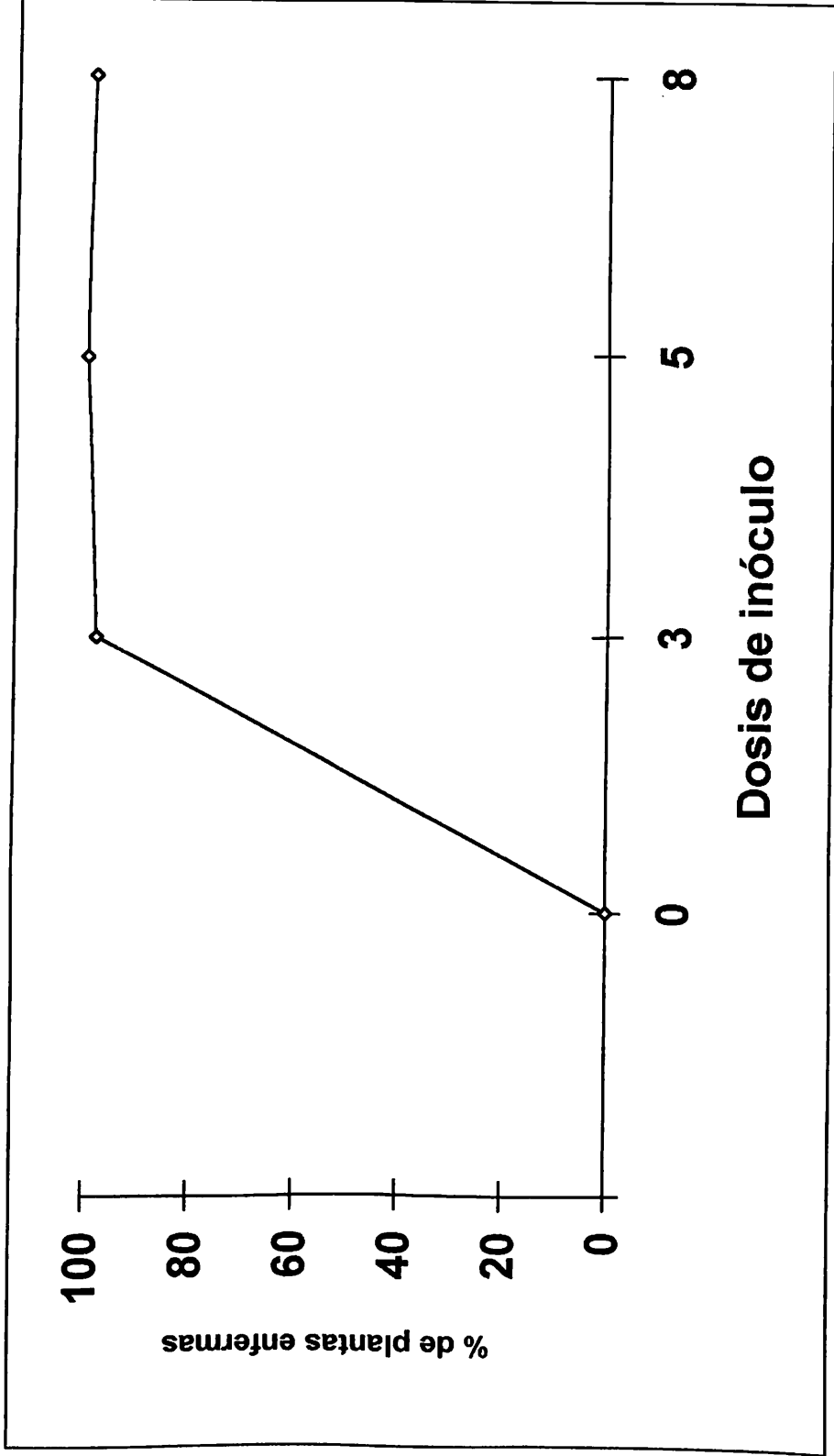


Fig. 4.2 Relación de dosis de inóculo de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* con el porcentaje de plantas enfermas promedio de las 20 variedades.

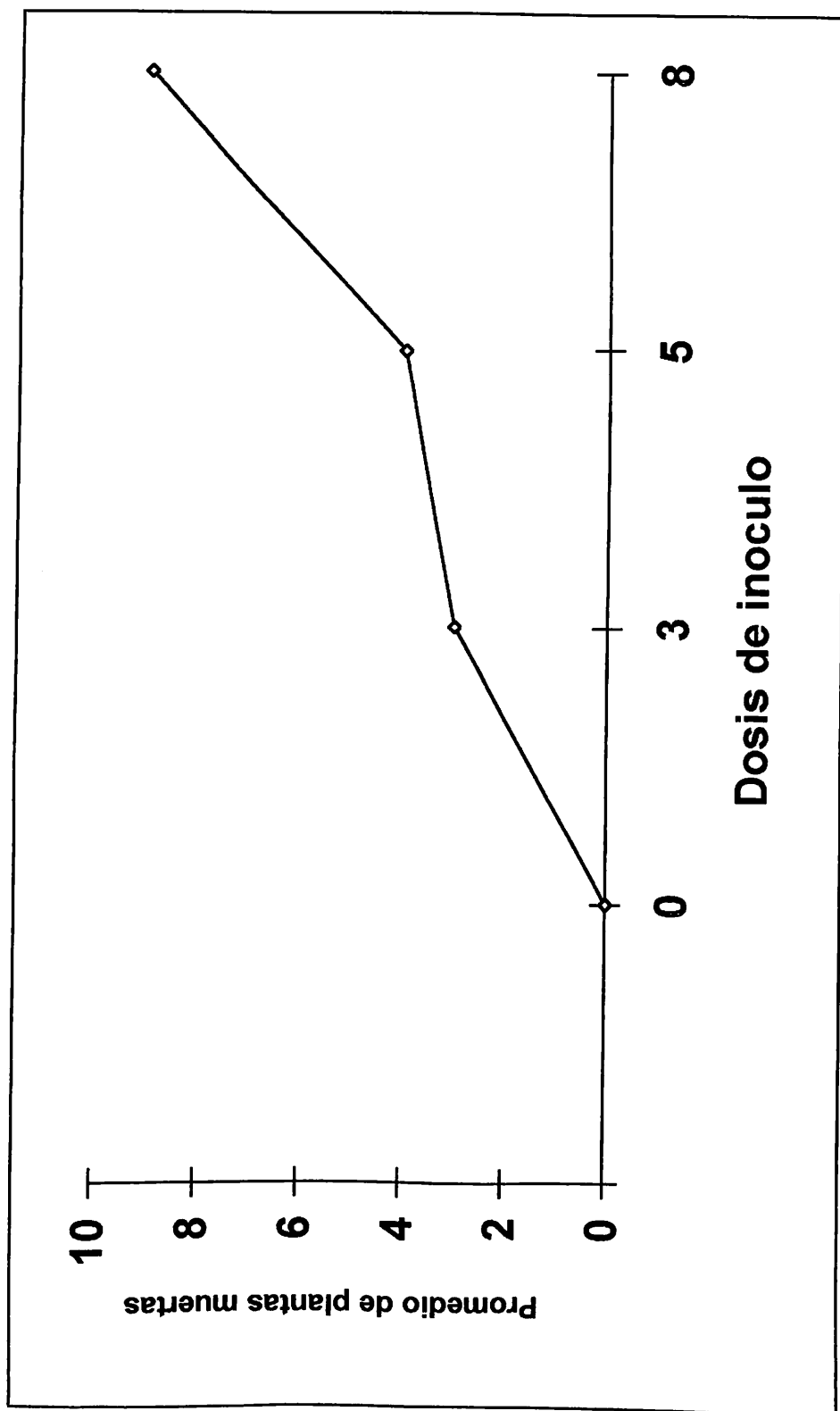


Fig. 4.3 Relación de dosis de inóculo de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* con el promedio de plantas muertas de los 20 cultivares.

## Inoculación de la Semilla con Suspensión de Esporas al Momento de la Siembra.

Para las variables de este segundo método de inoculación tenemos que la variable por ciento de germinación resultó altamente significativa para las diferentes fuentes de variación. De ésta podemos decir que, tanto el testigo como las dosis son estadísticamente diferentes al observar los resultados obtenidos del análisis de varianza y al hacer la prueba de mínima significancia (DMS), esto obedece principalmente para calidad inicial de la semilla ya que las diferencias entre las dosis fueron fijadas de antemano por lo que al entrar a los análisis esta diferencia se reflejó, Cuadro 4.4. El coeficiente de variación para esta variable fue de 16.32 por ciento aproximadamente.

El por ciento de germinación promedio de los 20 materiales es presentado en la Figura 4.4; los testigos presentaron un 60 por ciento de germinación mientras que las dosis restantes mostraron un 44.3, 48.4 y un 48.7 por ciento respectivamente. Como se puede observar el porcentaje de germinación es bajo, tanto para los testigos como para las dosis aplicadas, sin embargo, se observa una gran diferencia, esto quiere decir que posiblemente el hongo actuó rápidamente impidiendo la germinación normal de la semilla, además de que el potencial de la semilla para germinar

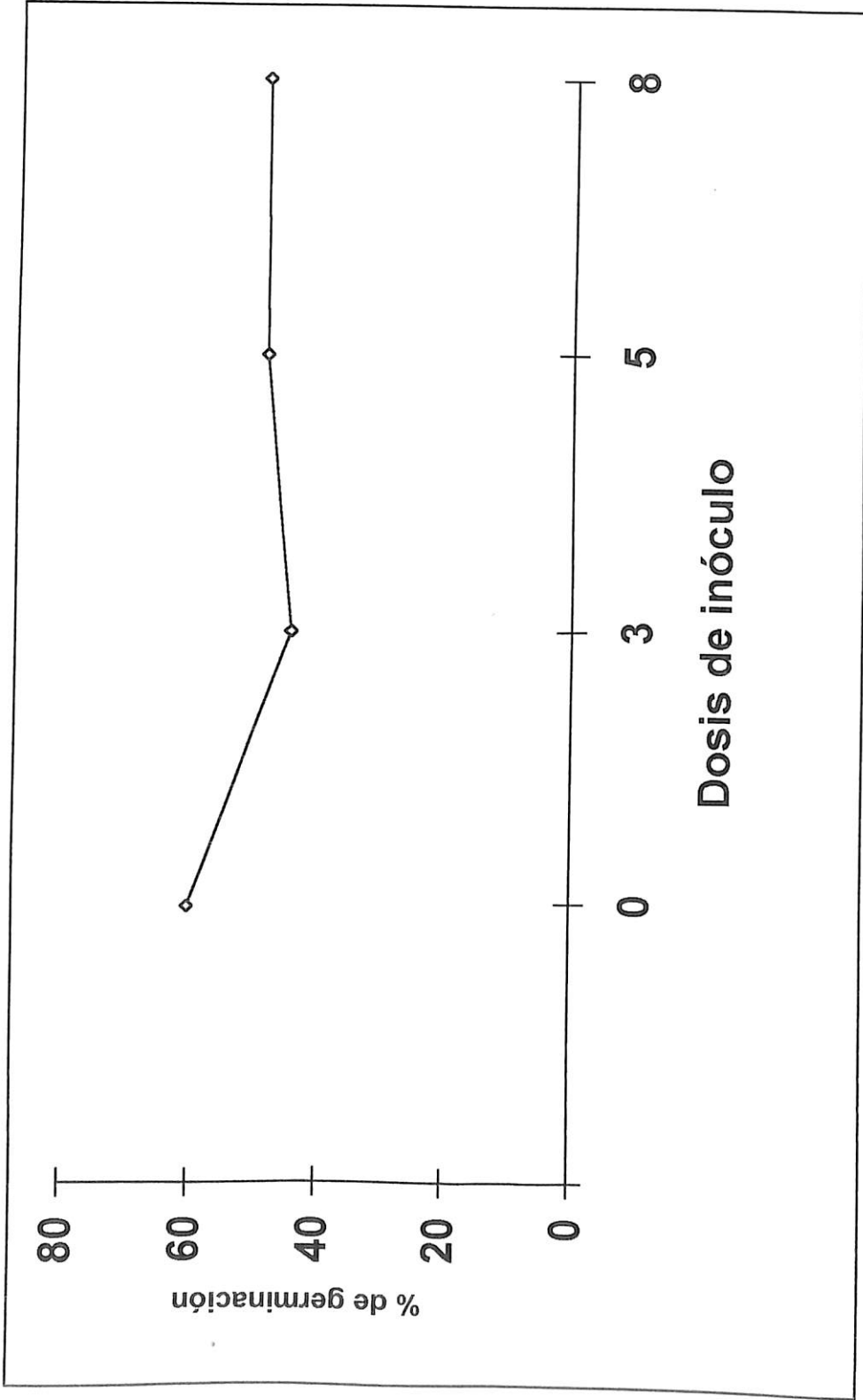


Fig. 4 .4 Relación de dosis de inóculo de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* con el índice promedio de los 20 cultivares inoculados.

también fue bajo debido posiblemente a que las condiciones de almacenamiento de la semilla no fue el adecuado y por lo tanto pudo repercutir al momento de la siembra. El coeficiente de variación para esta variable fue de 4.29 por ciento aproximadamente.

Cuadro 4.4. Cuadrados medios de dos de las variables del segundo método de inoculación.

F.V.	G.L.	% de Germinación	Índice de Enf. a las 4 semanas	Índice de Enf. a las 14 semanas
Trat.	79	440.3912	5.3632**	6.9872**
Germoplasma	19	1084.4260	7.8551**	10.3307**
Dosis	3	1859.0837	63.1737**	92.6598**
Ger. x Dosis	57	151.0450	1.4966**	1.3636**
Error	80	4.6672	0.1170	0.0897
C.V. (%)		4.2903	5.7667	4.7518

\*\* = Diferencia altamente significativa ( $\alpha = 0.01$ ).

Los resultados obtenidos del ANVA para índice de enfermedad a las cuatro semanas son presentados en el Cuadro 4.4 en el cual se puede observar que tanto tratamientos, variedades, dosis y la interacción resultaron altamente significativos esto se lo atribuimos a las dosis aplicadas, lo cual repercutió de alguna forma en cada una de las fuentes de variación. El coeficiente de variación obtenido de este análisis fue de 5.8 por ciento aproximadamente.

Los resultados para el índice de enfermedad a las 14 semanas también son presentados en el mismo Cuadro anterior y hubo un comportamiento similar para las fuentes de variación



en estudio, ya que también resultaron altamente significativas. El coeficiente de variación para esta segunda evaluación fue de 4.8 por ciento aproximadamente.

En la Figura 4.5 se observa que a las cuatro semanas después de inoculadas las plantas con FORL el nivel del índice de enfermedad casi fue el mismo para las tres dosis aplicadas (6.5 aproximadamente) mientras que a las catorce semanas el índice de enfermedad sufrió un incremento a medida que las dosis se aumentaron. Se tiene que la dosis de tres millones de esporas para la última evaluación fue de 6.4 y las dosis restantes mostraron un índice de 7.04 y 7.40, aproximadamente mientras que los testigos mantuvieron su nivel, el cual fue de 4.06. Cabe mencionar que estos valores son el promedio de los 20 materiales bajo estudio.

De los resultados obtenidos de la última evaluación se formularon algunos contrastes para ver el comportamiento del germoplasma ante la aplicación del hongo Cuadro 4.5. Para el primer contraste el cual resultó altamente significativo tenemos que existe una gran diferencia entre los materiales de *L. pimpinellifolium* con las líneas diferenciales, debido a que estas últimas presentaron un grado de susceptibilidad desde la primera evaluación mientras que los otros materiales ya mostraban un nivel de resistencia.

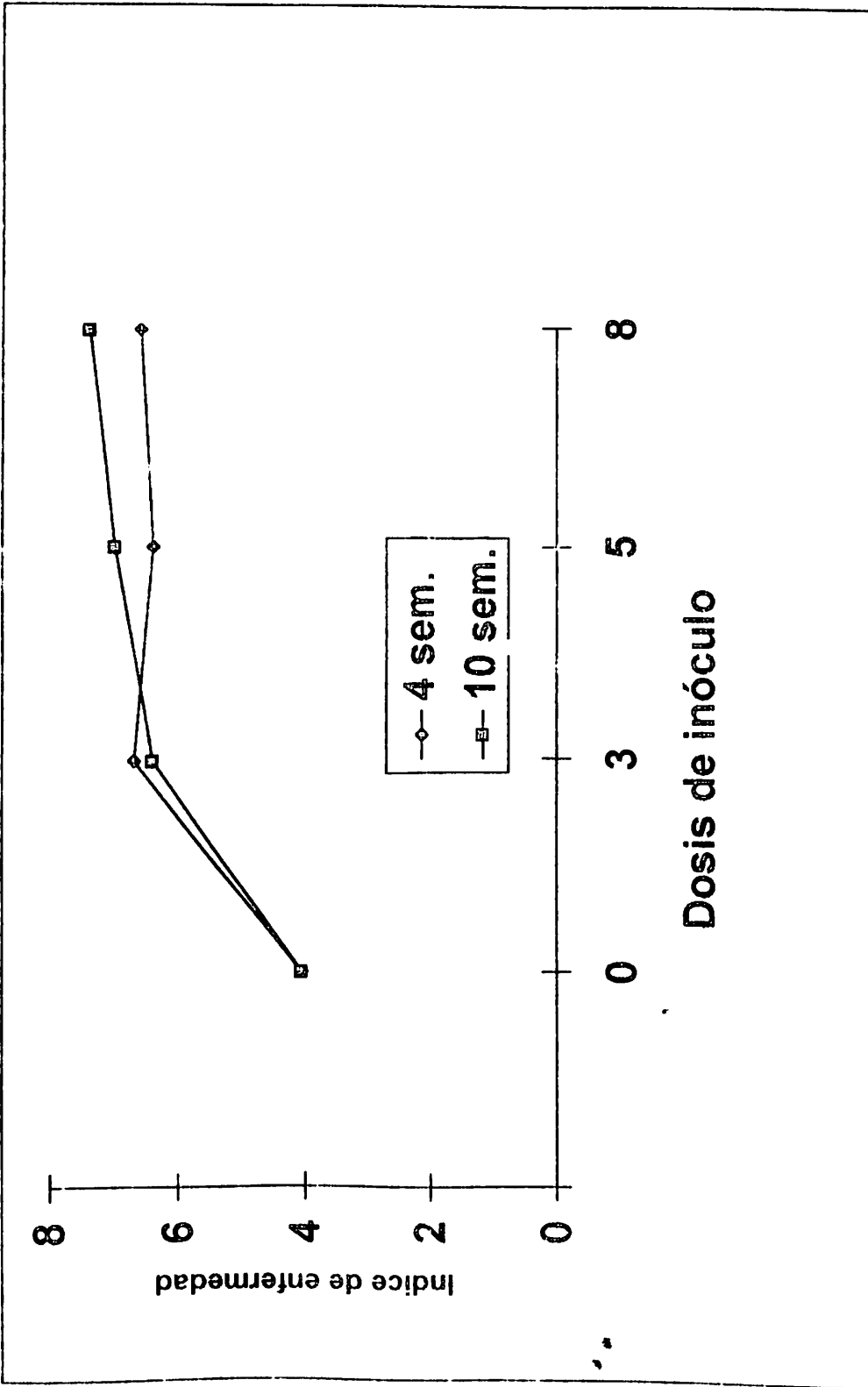


Fig. 4.5 Relación de dosis de inóculo de *Fusarium oxysporum f. sp. radices-lycopersici* con el índice promedio de las 20 variedades, método dos.

Cuadro 4.5. Análisis de varianza correspondiente al índice de enfermedad a las 14 semanas y sus contrastes.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Tratamientos	79	551.9893	6.9872	77.8710**
Germoplasma	19	196.2827	10.3307	115.1335**
C <sub>1</sub>	1	6.8561	6.8561	76.4102**
C <sub>2</sub>	1	0.2441	0.2441	2.7204**
C <sub>3</sub>	1	1.4370	1.4370	16.0152**
C <sub>4</sub>	1	2.8760	2.8760	32.0520**
C <sub>5</sub>	1	0.5113	0.5113	5.6984*
C <sub>6</sub>	1	0.5847	0.5847	6.5167*
C <sub>7</sub>	1	8.4633	8.4633	94.3215**
Dosis	3	277.9795	92.6598	1032.6771**
Ger. X Dosis	57	77.7271	1.3636	15.1974**
Error	80	7.1782	0.0897	
Total	159	559.1675		
C.V. (%)				4.7518

\*, \*\* : Diferencia significativa y Altamente significativa ( $\alpha = 0.01$  y  $\alpha = 0.05$  respectivamente). C<sub>1</sub> = Manapal, Walter, y I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> Y Bonnie Best (17,18,19 y 20) vs *L. pimpinellifolium* (9 y 10). C<sub>2</sub> = *L. chmielewskii* (11), *L. parviflorum* (13), *L. hirsutum* (15) y *L. chilense* (16) vs *L. pimpinellifolium* (9 y 10). C<sub>3</sub> = *L. pimpinellifolium* (9 y 10) vs *L. esc. prim.* (5). C<sub>4</sub> = *L. chmielewskii* (11), *L. parviflorum* (13), *L. hirsutum* (15) y *L. chilense* (16) vs *L. esc. prim.* (5). C<sub>5</sub> = Manapal, Walter, I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> y Bonnie Best vs *L. esc. prim.* (5). C<sub>6</sub> = Las líneas 1-4, 6-8, 12 y 14 vs *L. esc. prim.* (5) C<sub>7</sub> = Las líneas 1-4, 6-8, 12 y 14 vs *L. pimpinellifolium* (9 y 10).

Para el segundo contraste tenemos que no existe diferencia significativa entre las dos líneas de *L. pimpinellifolium* con *L. chmielewskii*, *L. parviflorum*, *L. hirsutum* y *L. chilense*, esto debido probablemente a que todos estos materiales desde la primera evaluación ya presentaban un grado de resistencia. Para el otro contraste se obtuvo una alta significancia entre los materiales de *L. pimpinellifolium* con una línea de *L. esculentum* primitivo el cual presenta frutos amarillos, esto se lo atribuimos a que en un principio el material primitivo presentó un grado de

resistencia pero para la segunda evaluación mostró susceptibilidad.

El cuarto contraste muestra una alta significancia, esto quiere decir que existe una gran diferencia entre el cultivar *L. esculentum primitivo* frutos amarillos con los materiales de *L. chmielewskii*, *L. parviflorum*, *L. hirsutum* y *L. chilense* ambos con frutos verdes esto debido probablemente a que los últimos materiales mantuvieron su resistencia hasta la segunda evaluación mientras que *L. esculentum* no la mantuvo.

El quinto contraste muestra significancia a un 5 por ciento de probabilidad esto debido posiblemente a que en la primera evaluación los materiales Bonnie Best, I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> y *L. esculentum primitivo* (frutos amarillos) presentaron un grado de resistencia y para la última evaluación ya presentaban un nivel de susceptibilidad. Para el sexto contraste también se presentó el mismo nivel de significancia que el contraste anterior esto se lo atribuimos a que al menos una de los materiales con el cual se comparó *L. esculentum* (frutos amarillos) mostró un comportamiento diferente a este material. El último contraste presentó una alta significancia esto quiere decir que los materiales con los cuales se comparó a *L. pimpinellifolium* se comportaron de forma distinta a éste.

De todo esto podemos decir que existe una gran diferencia entre utilizar materiales que tengan diferente color y tamaño de fruto aunque no necesariamente estas características estén asociadas con los genes que le dan el grado de resistencia o susceptibilidad a los cultivos.

El Cuadro 4.6 muestra el por ciento de plantas enfermas de las dos evaluaciones, como podemos ver en las dos evaluaciones existe alta significancia para todas las fuentes de variación bajo estudio esto quiere decir que, estadísticamente tanto variedades como dosis son diferentes y por lo tanto no actúan en forma independiente, por lo cual un nivel de un factor depende de uno o varios niveles del otro factor. El coeficiente de variación para la primera evaluación fue de 24.42 y para la segunda de 16.32 por ciento aproximadamente.

Cuadro 4.6. Cuadrados medios correspondientes al porcentaje de plantas enfermas.

F.V.	G.L.	% de plantas enf. a las 4 semanas	% de plantas enf. a las 14 semanas
Trat.	79	1963.2459**	1957.6594**
Ger.	19	2560.6545**	2488.2566**
Dosis	3	27095.2910**	29515.0410**
Ger. x Dos.	57	441.4392**	330.4052**
Error	80	94.2008	45.5918
C.V. (%)		24.4221	16.3243

\*\* = Diferencia altamente significativa ( $\alpha = 0.01$ ).

El porcentaje de plantas enfermas promedio de los 20 materiales se muestra en la Figura 4.6 en la cual se observa

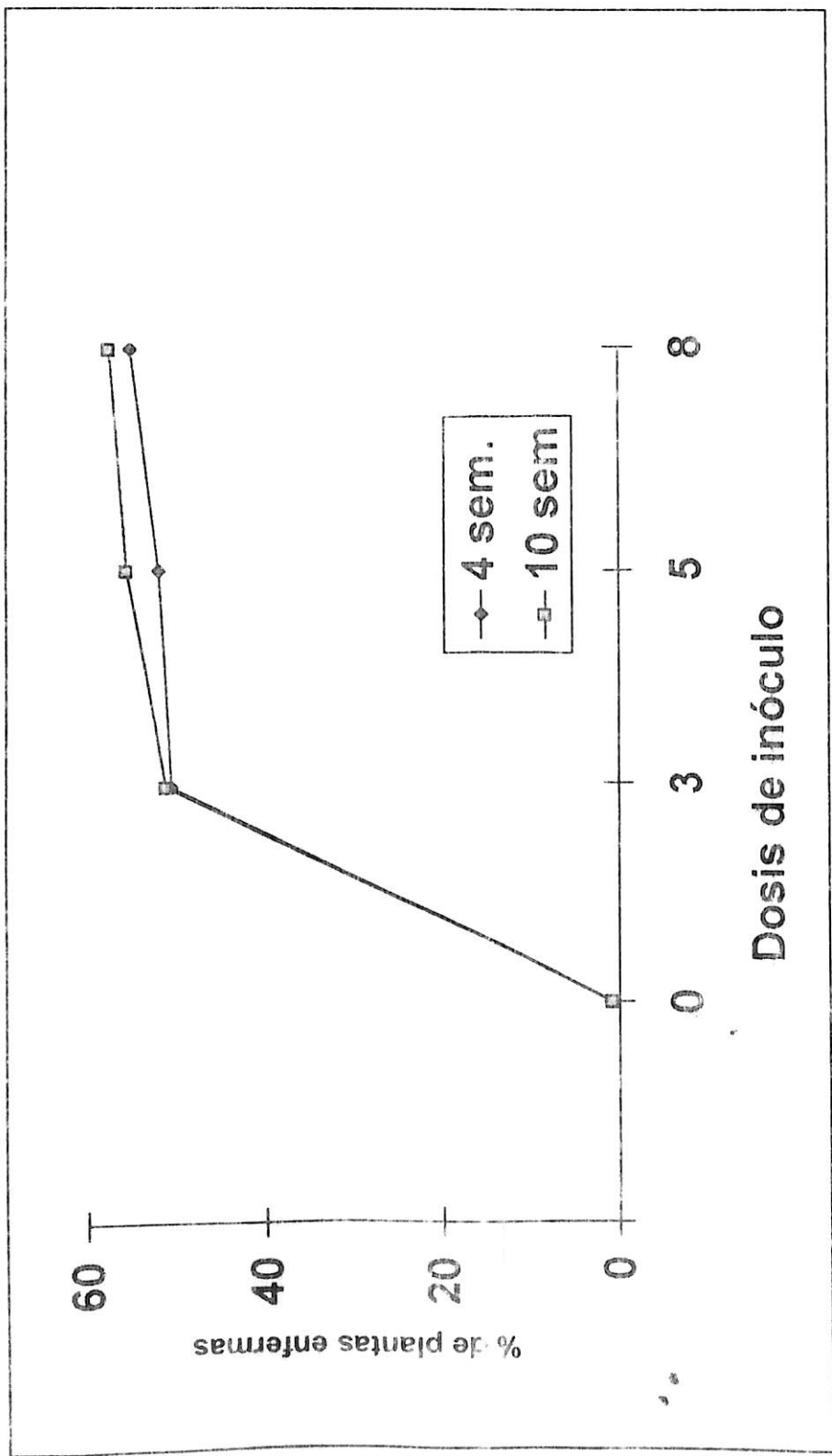


Fig. 4.6 Relación de dosis de inóculo de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* con el porcentaje de plantas enfermas de las dos evaluaciones (promedio de las veinte variedades).

que a la primera evaluación el porcentaje de plantas enfermas fue más bajo y se incrementó en un dos por ciento aproximadamente en cada una de las dosis aplicadas hasta la segunda evaluación. En ella se observa un claro incremento de la enfermedad a medida que se aumenta el nivel de inóculo.

Para la variable promedio de plantas muertas tenemos que los testigos no mostraron plantas muertas mientras que para las dosis de 3, 5 y 8 millones de esporas presentaron un promedio de 1.4, 3.6 y 6.1 aproximadamente Figura 4.7. Aquí podemos ver que a medida que se incrementa el nivel de inóculo se presenta un mayor número de plantas muertas. Cabe mencionar que estos son el promedio de los 20 materiales y fueron tomados de los datos originales.

#### Búsqueda de Fuentes de Resistencia.

Entre el grupo de cultivares de tomate, inoculadas con *F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* utilizando el método de inoculación de la semilla con suspensión de esporas al momento de la siembra encontramos que a las 14 semanas después de inoculadas las plantas, 12 materiales resultaron susceptibles al patógeno. El tipo de inoculación que se utilizó provocó una consistente manifestación de la

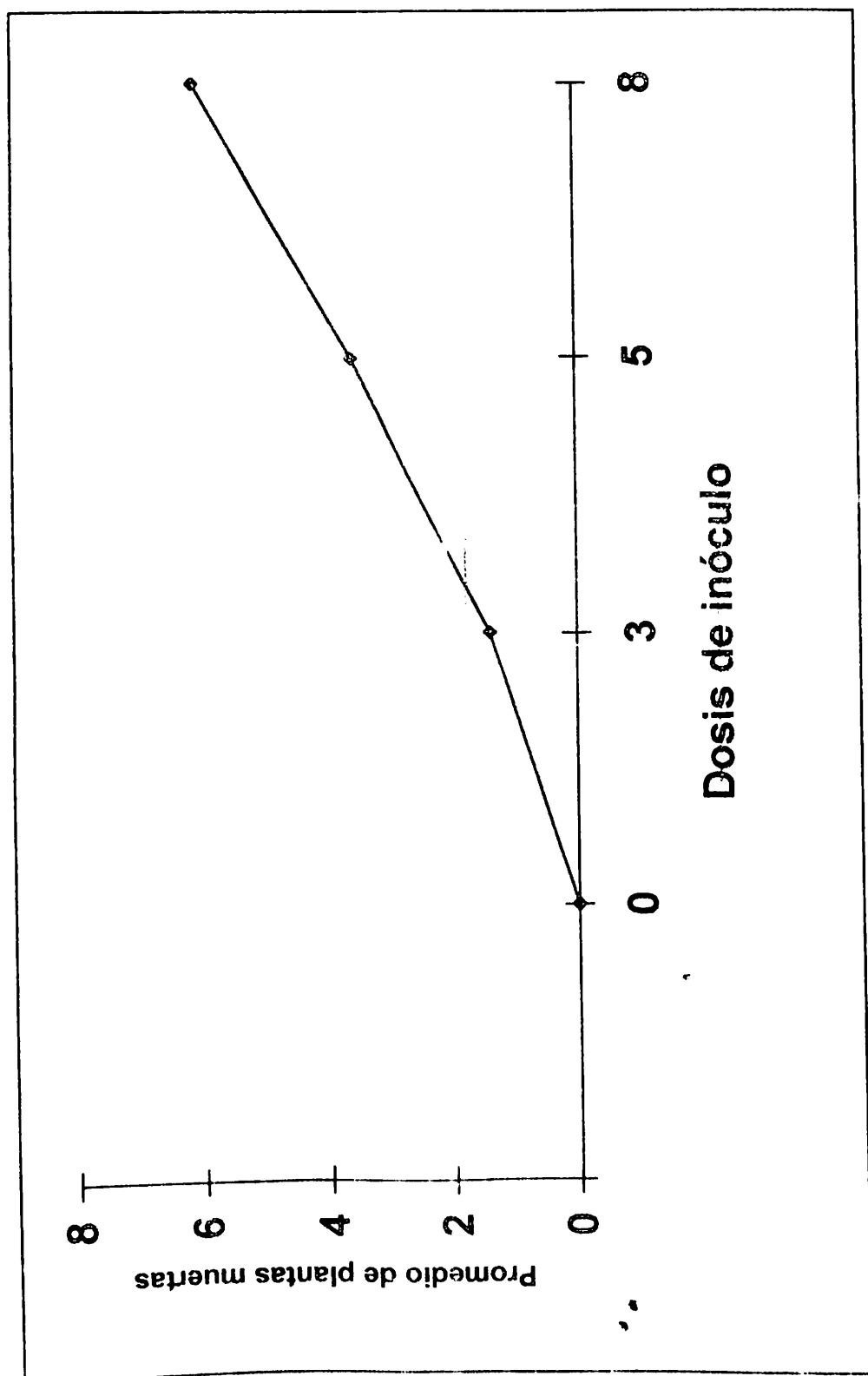


Fig. 4.7 Relación de dosis de inóculo de *Fusarium oxysporum*f.sp. *radicis-lycopersici* con el promedio de plantas muertas.



enfermedad. La clasificación de resistencia se encuentra en el Cuadro 4.7, Aquí se observan que los materiales que resultaron resistentes la mayoría tienen frutos de color verde a excepción de *L. pimpinellifolium* que presenta frutos rojos pero todas ellas con frutos chicos y pequeños con un diámetro de 0.5 a 2 centímetros aproximadamente.

Cuadro 4.7. Respuesta del germoplasma de tomate a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

Germoplasma de tomate	Pudrición de raíz y corona <sup>a</sup>
<i>L. esc. primitivo</i> cv	
1.- LA.404 (90L335*)	ES <sup>b</sup>
2.- LA.1251 (90L3575*)	ES
3.- LA.1021 (84L6594-1,2*)	ES
4.- LA.468 (83L4649*)	ES
5.- LA.172 (84L6491-4*)	S
6.- LA.147 (90L3518*)	ES
<i>L. esc. cv. edkawi</i>	
7.- LA.2711 (86L9489*)	ES
<i>L. esc cv saladette</i>	
8.- LA.2662 (88L1368*)	R
<i>L. pimpinellifolium</i>	
9.- LA.722 (8629486*) Amazonas	R
10.- LA.2184 (87L0413*)	R
<i>L. chmielewskii</i>	
11.- LA.1306 (87L0617) Mass-sib	R
<i>L. cheesmanii</i> f. <i>minor</i>	
12.- LA.1401 (85L8098*)	R
<i>L. parviflorum</i>	
13.- LA.1326 (81L572*)	R
<i>L. esc. var. cerasiforme</i>	
14.- LA.1673 (83L4805*)	ES
<i>L. hirsutum</i> f. <i>glabratum</i>	
15.- LA.1223 (86L9840) Mass-sib	R
<i>L. chilense</i>	
16.- LA.1963 (85L1851) Mass-sib	R
17.- Manapal	ES
18.- Walter	S
19.- I.R.	ES
20.- Bonnie Best	S

<sup>a</sup>Plantas con síntomas típicos de pudrición de raíz y corona. <sup>b</sup>Reacción de las plantas: R = resistentes, S = susceptibles y ES = extremadamente susceptibles.

La mayoría de los materiales que resultaron susceptibles presentan frutos de color rojo a excepción de *L. esculentum primitivo cv LA 172(84L6491-4\*)* que tiene frutos amarillos. Todos estos materiales presentan frutos con un diámetro entre 2 a 7 cm.

En el Cuadro 4.8 se muestra el índice de enfermedad promedio de cada una de los materiales de tomate con cada una de las dosis aplicadas utilizando el sistema de inoculación al suelo, en las cuales se puede observar que las dosis de tres y cinco millones de esporas fueron suficientes para causar la enfermedad.

Con las dosis de tres y ocho millones de esporas se pudo discriminar materiales resistentes y susceptibles sin embargo, fue con la de ocho millones con la cual se tuvo la seguridad de que materiales que resultaron resistentes con la aplicación de la dosis más baja mantenían su resistencia a FORL, debido a que, la variedad Bonnie Best, que está clasificada como susceptible, presentó una baja resistencia a las dos primeras dosis, en cambio, los materiales de Manapal, Walter y la línea I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> que también son susceptibles sí mantuvieron su susceptibilidad con cada una de las dosis aplicadas.

Cuadro 4.8. Índice promedio de enfermedad en 20 materiales de *Lycopersicon spp.* inoculadas con tres dosis de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* en invernadero método dos.

Germoplasma de tomate	Dosis de Inóculo (millones de esporas por mililitro)		
	3	5	8
<i>L. esc. primitivo cv</i>			
1.- LA.404(90L335*)	7.94	8.375	9.16
2.- LA.1251(90L3575*)	7.92	8.5	8.72
3.- LA.1021(84L6594-1,2*)	8.195	8.44	8.40
4.- LA.468(83L4649*)	7.63	8.27	8.95
5.- LA.172(84L6491-4*)	6.89	6.96	7.315
6.- LA.147(90L3518*)	8.17	8.71	9.04
<i>L. esc. cv. edkawi</i>			
7.- LA.2711(86L9489*)	7.685	8.005	9.705
<i>L. esc cv saladette</i>			
8.- LA.2662(88L1368*)	7.475	6.415	6.39
<i>L. pimpinellifolium</i>			
9.- LA.722(8629486*) Amazonas	5.74	6.24	6.325
10.- LA.2184(87L0413*)	5.205	5.18	5.335
<i>L. chmielewskii</i>			
11.- LA.1306(87L0617) Mass-sib	4.06	4.325	4.57
<i>L. cheesmanii f. minor</i>			
12.- LA.1401(85L8098*)	4.06	5.055	4.33
<i>L. parviflorum</i>			
13.- LA.1326(81L572*)	4.43	4.58	4.705
<i>L. esc. var. cerasiforme</i>			
14.- LA.1673(83L4805*)	8.16	8.44	8.865
<i>L. hirsutum f. glabratum</i>			
15.- LA.1223(86L9840) Mass-sib	4.64	6.31	6.82
<i>L. chilense</i>			
16.- LA.1963(85L1851) Mass-sib	6.08	6.21	6.48
17.- Manapal	8.185	8.39	8.53
18.- Walter	7.09	7.195	8.19
19.- I <sub>3</sub> R <sub>3</sub>	7.905	8.32	8.815
20.- Bonnie Best	6.825	6.88	7.38

\* = Autofecundación

## DISCUSION

El presente trabajo se hizo con el objeto de identificar fuentes de resistencia a *Fusarium oxysporum* f. *sp. radicis-lycopersici* y determinar cual de los dos métodos de inoculación era el mejor. En nuestro estudio obtuvimos mejores resultados con el método de inoculación de la semilla con suspensión de esporas al momento de la siembra, debido a que desde que empieza la germinación de la semilla ésta se encuentra con el inóculo y hay menor riesgo de escape. Rowe (1980); Berry y Oakes (1987) mencionan que es el método más efectivo para inducir enfermedades por *Fusarium*, pero que es un tipo de inoculación poco utilizada en el cultivo de tomate.

Se menciona el método de inoculación de la semilla con suspensión de esporas al momento de la siembra debido a que posiblemente al utilizar el método de inmersión de plántulas en suspensión de esporas se rompió el sistema de resistencia al hacer el corte a las raíces antes de sumergirlas en la solución de esporas, al respecto Brammall y Higgins (1988<sub>b</sub>) mencionan que en la pared de las células de la corteza de las raíz de tomate se forman compuestos aromáticos y suberina como respuesta normal de los cultivos

resistentes a la penetración del patógeno. Además de que al llevar a cabo las evaluaciones no fue posible clasificar plantas susceptibles y resistentes debido a que todas presentaron un grado de susceptibilidad hasta con la dosis más baja.

Para decir cual dosis es la mejor se debe tomar en cuenta el sistema de inoculación ya sea la aplicación a la semilla, a plantas jóvenes o adultas así como también, el vigor o nutrición de ellas entre otras características. Si algunas de estas situaciones se pasan por alto, no se puede tener la certeza de que un material sea resistente o no y en tal caso quedaría la duda. Sin embargo, para nuestro caso la dosis que mejor permitió la clasificación de plantas resistentes y susceptibles fue la de cinco millones de esporas ya que con ésta se especuló que se tuvo mayor seguridad de contacto con el hongo y posiblemente permitió un mayor lapso de ataque. Esto viene a corroborarlo Rowe (1980) ya que él utilizó esta misma dosis en diferentes especies de solanáceas, cucurbitáceas, crucíferas, leguminosas y gramíneas obteniendo resultados favorables.

Los materiales que resultaron resistentes hasta la segunda evaluación utilizando el método de inoculación de la semilla con suspensión de esporas al momento de la siembra fueron: *L. esculentum* cv. *saladette*, las dos líneas

de *L. pimpinellifolium*, *L. chmielewskii*, *L. cheesmanii* f. *minor*, *L. parviflorum*, *L. hirsutum* f. *glabratum* y *L. chilense*. *L. esculentum primitivo* cv. LA 172(84L6491-4\*), Walter y Bonnie Best resultaron susceptibles mientras que las líneas de *L. esculentum primitivo* cv. LA (404 (90L335\*), 1251 (90L3575\*), 1021 (84L6594-1,2\*), 468 (83L4649\*), 147 (90L3518\*)), *L. esculentum* cv. *edkawi*, *L. esc.* var. *cerasiforme*, Manapal y la línea I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> resultaron extremadamente susceptibles al compararlas con las tres dosis aplicadas. En nuestro estudio, la interacción del genotipo del hospedero con la concentración de inóculo y la temperatura del suelo son dos de los factores que pudieron influenciar en los resultados. Con respecto a lo anterior González y Galindo (sin fecha), Rowe 1980; Brammall y Higgins (1988<sub>a</sub>); Martyn y Barnes (1986) mencionan que Walter y Bonnie Best son susceptibles a *F. oxysporum* f. *sp. radialis-lycopersici* además, Rowe (1980), Jarvis y Shoemaker (1978), también dice que todos los materiales resistentes a *F. oxysporum* f. *lycopersici* son susceptibles a este patógeno, tal es el caso de la línea I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> que es resistente a la raza 3 de FOL y susceptible a FORL.

El índice de enfermedad promedio obtenido de *L. pimpinellifolium* amazonas y *L. chmielewskii* que resultaron resistentes es de 6.1 y 4.32 mientras que Manapal, Walter y la línea I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> que presentaron susceptibilidad fue de, 8.37,

7.49 y 8.35 respectivamente, para los testigos se obtuvo un índice de 4.06.

El porcentaje de plantas enfermas en las líneas diferenciales Manapal, Walter, I<sub>3</sub>R<sub>3</sub> y Bonnie Best utilizando la inoculación al suelo fue de 93, 80, 85 y 74 por ciento respectivamente. Martyn y Barnes (1986) en las líneas Walter y Bonnie Best obtuvieron un porcentaje de plantas enfermas de 93 y 47 por ciento respectivamente. Los síntomas característicos presentados por los materiales que resultaron susceptibles y extremadamente susceptibles fueron, coloración café del sistema vascular por arriba de la línea del suelo entre 3 y 8 cm de longitud, en algunas de ellas formación de raíces adventicias en los primeros 5 cm de longitud y muerte ocasional de plantas jóvenes Jarvis y Shoemaker (1978); Rowe (1980); Rowe y Farley (1981) mencionan estos síntomas y dicen que la coloración café del sistema vascular se extiende arriba de la línea del suelo a no más de 25 cm de longitud. Rowe (1980) observa que cuando se corta y secciona la raíz dañada, la infección se observa en la base y corona de la raíz extendiéndose entre 3 a 6 cm de longitud, además de que plantas severamente dañadas presentaron proliferación de raíces adventicias en los primeros 10 cm del tallo por encima de la línea del suelo, mientras que en las plantas ligeramente dañadas y sanas esto no lo observó.

## CONCLUSIONES

El método de inoculación de la semilla con suspensión de esporas al momento de la siembra fue suficiente para inducir la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*.

Se observó mayor daño con la dosis más alta. Sin embargo, se obtuvieron mayores incrementos proporcionales con las dosis de tres y cinco millones de esporas.

De los 20 materiales evaluados ocho resultaron resistentes a la enfermedad (*L. esculentum* cv. *saladette*, las dos líneas de *L. pimpinellifolium*, *L. chmielewskii*, *L. cheesmanii f. minor*, *L. parviflorum*, *L. hirsutum f. glabratum* y *L. chilense*).

Aunque no se sabe si el color de los frutos está asociado con los genes que le dan la resistencia a los cultivares, se observó mayor resistencia en los materiales que presentaron frutos de color verde.



*Lycopersicon pimpinellifolium* a pesar de tener frutos rojos presentó resistencia, pero en una escala menor que aquellos que presentaron frutos de color verde.

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos e Invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro de 1993 a 1995, con los objetivos de encontrar un método de inoculación efectivo así como una dosis adecuada de inóculo que permita inducir y clasificar el germoplasma en susceptible y resistente e identificar fuentes de resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Este trabajo consistió en evaluar 20 materiales para resistencia utilizando los métodos de inoculación de; inmersión de plántulas en suspensión de esporas e inoculación de la semilla con suspensión de esporas al momento de la siembra aplicando una dosis de tres, cinco y ocho millones de esporas por mililitro. Cada unidad experimental se dividió en cada uno de los métodos de inoculación, se evaluó germinación, índice de enfermedad, por ciento de plantas enfermas y promedio de plantas muertas, se analizaron los datos en un diseño completamente al azar factorial con dos factores usando dos y cinco repeticiones, se sometieron a prueba de mínima significancia (D.M.S.) los valores que resultaron significativos, además se hicieron pruebas de contrastes ortogonales mediante la diferenciación de

materiales resistentes, susceptibles y extremadamente susceptibles. Teniendo que hubo mayor daño con las dosis de cinco y ocho millones sin embargo, se obtuvieron mayores incrementos proporcionales con las dosis de cinco y tres millones de esporas. De los 20 materiales inoculados ocho presentaron resistencia, entre ellos se encontraron seis con frutos verdes los cuales mostraron mayor resistencia que *L. pimpinellifolium* que también es resistente.

## LITERATURA CITADA

- Abdul-Baki, A. A. 1993. Tolerance of tomato cultivars and selected germplasm to heat stress. *Plant Breeding* 63(6):833 (Abstr.) No.6629 U.S.A.
- Agrios N., G. 1991. *Fitopatología. Marchitamiento por Fusarium*. Ed. LIMUSA. México. pp. 371-375.
- Alexander, L. J. and C. M. Tucker. 1945. Physiological specialization in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Agr. Res.* 70:303-313. U.S.A.
- \_\_\_\_\_ and M. M. Hoover. 1955. Disease resistance in wild species of tomato. *Ohio Agr. Exp. Stn. Res. Bull.* 752. U.S.A.
- Beckman, C. H. 1964. Host response to vascular infection *Ann Rev. Phytopathology*. 2:231-251. U.S.A.
- \_\_\_\_\_ and P. W. Talboys. 1981. Anatomy of resistance In: Mace, M. E., A. A. Bell, and C. H. Beckman (Eds.). *Fungal wilt disease of plant*. Academic Press, New York pp. 487-521 U.S.A.
- Benhamou, N., D. Mazau, J. Grenier, and M. T. Esquerré-Tugayé. 1991. Time - course study of the accumulation of hydroxyproline - rich glycoproteins in root cells of susceptible and resistant tomato plant infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. *Planta* 184:196-208. Canadá.
- Berry, S. Z. and G. L. Oakes. 1987. Inheritance of resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato. *Hort. Sci.* 22(1):110-111. U.S.A.

- Bishop, C. D. and R. M Cooper. 1983. An structural study of root invasion in tree vascular wilt diseases. *Physiol. Plant Pathology* 22:15-27. U.S.A.
- Bohn, G. W. and C. M. Tucker. 1940. Studies on *Fusarium* wilt of the tomato: I, immunity in *Lycopersicon pimpinellifolium* Mill. and its inheritance in hybrids. *Mo. Agr. Expt. Sta. Res. Bull.* 311p. U.S.A.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium* commonwealth. Mycological Institute, Kew Surrey, England 237 p.
- Brammall, R. A. and V. J. Higgins. 1988a. A histological comparison of fungal colonization in tomato seedlings susceptible or resistant to *Fusarium* crown and root rot disease. *Can. J. Bot.* 66:915-925. Canadá.
- 
- 1988b. The effect of glyphosate on resistance of tomato to *Fusarium* crown and root rot disease and on the formation of host structural defensive barriers. *Can. J. Bot.* 66:1547-1555. Canadá.
- Campbell, C. L., J. S. Huang, and G. A. Payne 1980. Defense at the perimeter: The outer walls and the gates. In: Horskall C., J. and E. B. Cowling (Eds.). "Plant dis.: an advance treatise". 5:103-118. U.S.A.
- Caron, M., J. A. Fortin, and C. Richard. 1986. Effect of phosphorus concentration and glomus intraradices on *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. *Phytopathology* 76:942-946. U.S.A.
- Casali, V. W. D. and E. C. Tagchelaar. 1975. Breeding progress in tomato wilt pedigree selection and single seed descent. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 100:362-364. U.S.A.
- Castro F., J. Y P. A. Dávalos González. 1984. Etiología de la "secadera" de la fresa en el área de Irapuato Gto. Memorias de XII Congreso Nacional de Fitopatología. Resumen 21. Guanajuato, Gto. México.

- Chamberland, H., G. B. Ovellette, F. J. Pauze, and P. M. Charest. 1991. Immunocytochemical localization of tomato pectinesterase in rot cell of tomato plant infect by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Can. J. Bot. 69:1265-1274. Canadá.
- Charest, P. M.; G. B. Ovellet and F. J. Pauze. 1984. Cytological observation of early infection process by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants. Can. J. Bot. 62:1232-1244. Canadá.
- Chellemi, D. O. and H. A. Dankers. 1992. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in northwest Florida and Georgia. Plant. Dis. 76:861.
- Cirulli, M. and L. J. Alexander. 1966. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. Phytopathology 56:1301-1304. U.S.A.
- Comisión de Estudios del Territorio Nacional (CETENAL). 1975. Carta Topográfica de Saltillo. G. 14G33 Escala 1:50,000 color: varios 1a ed. Saltillo Coah, México 1 p.
- Dávalos G., P. A. 1990. Respuesta de la fresa a dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* e identificación de fuentes de resistencia. Tesis. Maestría. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp. 7-9.
- Dickinson, M., D. Jones, C. Thomas, K. Harrison, J. English, G. Bishop, S. Scofield, K. Hammond - Kosack, and J. D. G. Jones. 1993. Strategies for the cloning of genes in tomato for resistance to *Fulvia fulva*. Plant Breeding 63(5):669 (Abstr.) No. 5413 U.S.A.
- Dimond, A. E. (Sin fecha). The fisiological of wilt disease. Physiol. of fungi and fungus disease. Pp. 91-101. U.S.A.

- Erb, A. W. and Randall C. Rowe. 1992. Screening tomato seedling for multiple disease resistance. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117(4):622-627. U.S.A.
- Gaumann, E. 1957. Fusaric acid as a wilt toxin. Phytopathology 47:342-357. U.S.A.
- González F., J. J. and J. Cuartero. 1993. Distribution of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> in plants and accuracy of different samples in tomato species treated with NaCl Plant Breeding 63(4):516 (Abstr.) No. 4187 U.S.A.
- González G., R. y J. A. Galindo. (sin fecha). Marchitez del jitomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el Valle de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Maestría. Colegio de postgraduados, Chapingo, México. pp. 91-104.
- Grattidge, R. and R. G. O'Brien. 1982. Ocurrence of a third race of *Fusarium* wilt of tomatoes in Queensland. Plant Dis. 66:165-166. U.S.A.
- Griffiths, D. A. and D. C. Lim. 1964. Mechanical resistance in root hairs to penetration by species of vascular wilt fungi. Mycol. Appl. 24:103-112. U.S.A.
- \_\_\_\_\_ 1971. The Development of lignitubers in roots after infection by *Verticillium dahliae*. Kleb. Can. J. Microbiol. 17:441-444. Canadá.
- Haskell. 1919. Potato *Fusarium* wilt. Phytopathology 9:253-260. U.S.A.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). 1996. El sector alimentario en México. Comisión Nacional de Alimentación (conal). México. 59 y 252 pp.
- Jarvis, W. R., H. J. Thorpe, and B. H. Macneill. 1975. A foot and root rot disease of tomato caused by *Fusarium oxysporum*. Can. Plant Dis. Surv. 55:25-26. Canadá.

- \_\_\_\_\_ and R. A. Shoemaker, 1978. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathology* 68:1679-1680. U.S.A.
- Jorge, P. E., Green, R. J., Jr. and W. R. Chancy. 1992. Inoculation with *Fusarium* and *Verticillium* to increase resistance in *Fusarium* resistant tomato. *Plant Dis.* 76(4):340-343. U.S.A.
- Katan, T., D. Zamir, M. Sarfatti, and J. Katan. 1991. Vegetative comparatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 81:255-262. U.S.A.
- Kodama, T. 1974. Characters of strawberry yellows caused by *Fusarium* and difference of its effect on the grown varieties. *Nara Agr. Exp. Snt. Bull.* 6:68-75. Japan.
- Komada, H. 1975. Development of a selective medium for cuantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant. Prot. Res.* 8:114-125. Japan.
- Krikum, J., A. Nachmais, R. Offenbach, and O. Ucko. 1983. Establishment of the crown and root rot pathogen of tomato in the negev region. *Phytoparasitica* 11:3-4. (Abstr.). U.S.A.
- Lalitha, A. 1993. Pathogenesis - related proteins of tomato: comparative studies on protein profiles of resistant and susceptible lines of tomato following infection with *Alternaria solani*. *Plant Breeding* 63(4):516 (Abstr.). No. 4192 U.S.A.
- Leary, J. V. and R. M. Endo. 1971. A *Fusarium* induced root rot of staked tomatoes. *Phytopathology* 61:900 (Abstr.). U.S.A.
- Lukyanenko, A. N. (Luk'yanenko, A. N.). 1993. Disease resistance in tomato. *Plant Breeding* 63(4):516 (Abstr.). No. 4189 U.S.A.
- MacHardy, W. E. and C. H. Beckman. 1981. Vascular wilt *Fusarium* infection and pathogenesis In: Nelson, P. E.,



- T.A. Toussoun, and R. J. Cook (Eds.). *Fusarium: dis., biology and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, P. A. pp. 365-390.
- Martin, G. B., J. G. Williams, and S. D. Tanksley. 1993. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Plant Breeding* 63(6):833 (Abstr.). No 6631 U.S.A.
- Martyn, R. D. and L. W. Barnes. 1986. *Fusarium* crown and root rot of greenhouse tomatoes. *Hort. Sci.* 21(4):942. (Abstr.). U.S.A.
- McGrath, D. J. 1988. BHRS 2-3 *Fusarium* wilt resistant tomato. *Hort. Sci.* 23(6):1093-1094. U.S.A.
- McGurl, B. and C. A. Ryan. 1993. The organization of the prosystemin gene. *Plant Breeding* 63(2):220 (Abstr.). No. 1773 U.S.A.
- NGuen, K. M. (NGuyen Hong Minh), V. A. Smirnov, K'eu Tkhi Tkhy (Kieu Thi Thu) and N. N. Balashova. 1993. Somaclonal variation under treatment with fusaric acid in tomato. *Plant Breeding* 63(4):516. (Abstr.). No. 4191 U.S.A.
- Oldrich, K. S. 1952. Physiological properties of *Fusarium f. lycopersici*. and *Fusarium f. Vasinfectum*. *Phytopathology* 42:119-122. U.S.A.
- Ooijen, J. W. V. 1993. Accuracy of mapping quantitative trait loci in autogamous species. *Plant Breeding* 63(2):220. (Abstr.). No. 1775 U.S.A.
- Paola Di, M. L., L. Barsanti, L. Giustiniani, and A. Graifenberg. 1993. In vitro grown of seedlings of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in saline condition. *Plant Breeding* 63(4):516 (Abstr.). No. 4188 U.S.A.
- Polesskaya, L. M., A. G. Zhakote, U. G. Kharti, and M. E. German. 1993. Genetic control of quantitative

characters of cold resistant in tomato. Plant Breeding 63(6):833. (Abstr.). No. 6630 U.S.A.

Ramírez M., Moisés. 1994. Estabilidad de genotipos de tomate tipo "saladette" en la planicie Huasteca. México 94 Congreso Latinoamericano de Genética, XV Congreso de Fitogenética. Impreso en el Dpto. de Imprenta de la Facultad de Agronomía de la UANL. México. 236 p.

Rick, Charles M. 1990. Genetic resources at risk. perspectives from plant genetics: the tomato genetics stock center. Genetic Resources Conservation Program University of California Report. 5:10-19. U.S.A.

Rowe, R. C., J. D. Farley, and D. L. Coplin. 1977. Air-borne spore dispersal and recolonization of steamea soil by *Fusarium oxysporum* in tomato greenhouses. Phytopathology 67:1513-1517. U.S.A.

---

1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-grown tomatoes in North America and Japan. Phytopathology 70:1143-1148. U.S.A.

---

and J. D. Farley. 1981. Strategies for controlling *Fusarium* crown and root rot in greenhouse tomatoes. Plant. Dis. 65:107-112. U.S.A.

Ruiz-Medrano, R., B. Jimenez Moraila, L. Herrera-Estrella, R. F. Rivera-Bustamante. 1993. Nucleotide sequence of an osmotic-like cDNA induced in tomato during viroid infection. Plant Breeding 63(5):669 No. 5419 U.S.A.

Sanchís, A., F. Botella, F. Nuez, and J. Costa. 1993. Some problems in the selection of sources of tolerance to salinity in tomato. Plant Breeding 63(4):516. (Abstr.). No. 4186 U.S.A.

Saranga, Y., D. Zamir, A. Marani, and J. Rudich. 1993. Breeding tomatoes for salt tolerance; field evaluation of *Lycopersicon* germoplasm for yield and dry-matter production. Plant Breeding 63(6):833. (Abstr.). No. 6628 U.S.A.

- Scheffer, R. P. and J. C. Walker. 1953. The physiology of *Fusarium* wilt of tomato. *Phytopathology* 43:116-125. U.S.A.
- Scott, J. W. and J. D. Farley. 1981. Evaluation of *Fusarium* crown and root rot resistant greenhouse tomatoes. *Greenhouse Vegetable Crops-1981 A Summary of Research*. Ohio Agr. Res. vs Dev. Ctr. Wooster. Res. Circ. 264:16-17.
- 
1983. 'Ohio CR-6' tomato. *Hort. Sci.* 18:114-115. U.S.A.
- Shalaby, G. I., N. M. Kandeel, M. A. Farghaly, and M. H. Hoseni. 1993. Genetic studies on various soil moisture in some tomato genotypes. *Plant Breeding* 63(6):833. (Abstr.). No. 6627 U.S.A.
- Stall, R. E. and J. M. Walter. 1965. Genetic selection and inheritance of resistance in tomato to isolates of race 1 and 2 of the *Fusarium* wilt organism. *Phytopathology* 55:1213-1215. U.S.A.
- Stancheva, I. and M. Milanova. 1993. Genetic analysis of leaf resistance in tomato to *Alternaria solani*. *Plant Breeding* 63(5):669. (Abstr.). No. 5414 U.S.A.
- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie. 1992. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2 ed. Mc Graw Hill. México. pp. 226-228.
- Strobel, J. W., N. C. Hayslip, D. S. Burgis, and P. H. Everett. 1969. Walter, a determinate variety resistant to race 1 and 2 de *Fusarium* wilt pathogen. *Flat. Agr. Exp. Sta. Cir.* 5-202 U.S.A.
- Thakur, P. S. 1993. Effect of water stress on proline and relative water content in tomato cultivars. *Plant Breeding* 63(5):669. (Abstr.). No. 5412 U.S.A.
- Thibodeau, P. O. 1981. La pourriture fusiarienne de la tomate de serre. Evaluation de la résistance de cultivars et essai de répression chimique. *Phytoprotection* 62:115. (Abstr.). U.S.A.

- Tigghelaar, E. C. 1986. Tomato breeding In: Bassett, J. M. Breeding vegetable crops. AVI Publishing Company INC. U.S.A. pp. 135-171.
- Volin, R. B. and J.P. Jones. 1983. Progress in developing resistance to *Fusarium* race 3 in Florida. Proc. 4th tomato Qual. Workshop. Univ. of Florida, Gainesville. Res. Rep. VEC83-1. 105 p. U.S.A.
- Walter, J. C. and R. E. Foster. 1946. Plant nutrition in relation to disease development. III *Fusarium* wilt of tomato. Amer. J. Bot. 33:159-264. U.S.A.
- William, C. S. and T. A. Toussoun. 1965. Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfect stages. Phytopathology 55:833-837. U.S.A.
- Winks, B. L. and Y. N. Williams. 1965. A wilt of strawberry caused by a new form of *Fusarium oxysporum*. Queensland J. of Agr. and Animal Sci. 22:475-479.
- Wymore, L. A. and R. Baker. 1982. Factors affecting cross protection in control of *Fusarium* wilt of tomato. Plant Dis. 66(10):908-910. U.S.A.
- Yamamoto, I., H. J. Komada, K. Kuniyasu, M. Saito and A. Ezuka. 1974. A new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* inducing root rot of tomato. Proc. Kansai Plant Prot. Soc. 16:17-29. U.S.A.
- Yoshino, M. and K. Hashimoto. 1978. Studies on ecology of strawberry yellows and its control. Bull. Saitama Hort. Exp. Stn 7:13-34. Japan.