

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO.

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA

✓ ETIOLOGIA DE LA PUDRICION DE LA CORONA Y RAIZ
DEL TOMATE (*Lycopersicon esculentum* MILL.) EN SINALOA Y
SAN LUIS POTOSI, Y BUSQUEDA DE FUENTES DE
RESISTENCIA AL PATOGENO



FRANCISCO JAVIER ESTRADA RAMÍREZ

DIRECCION ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE :
MAESTRO EN CIENCIAS

ESPECIALISTA EN PROTECCION VEGETAL

CHAPINGO, MEX. 1989



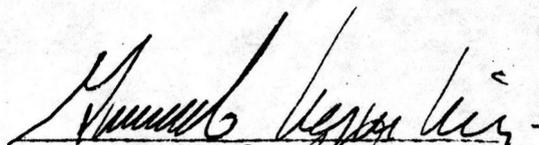
Esta tesis fue realizada bajo la dirección del M.C. S. Gerardo Leyva Mir. Fue revisada por el Jurado Examinador y aprobada como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

ESPECIALISTA EN PROTECCION VEGETAL

JURADO EXAMINADOR

Presidente: M.C. S. Gerardo Leyva Mir



Secretario: Dr. Sebastián Romero Cova



Vocal: Dr. José Ramírez Villapudúa



Suplente: M.C. Juan Fdo. Solís Aguilar



Suplente: M.C. Cecilio Mendoza Zamora



21828

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Escuela Superior de Agricultura, de la Universidad Autónoma de Sinaloa, por el apoyo brindado para la realización de mis estudios de postgrado.

Al M.C. S. Gerardo Leyva Mir, por la dirección y acertadas orientaciones en el presente trabajo.

Al Dr. Sebastián Romero Cova, por las sugerencias y revisión del presente trabajo.

Al Dr. José Ramírez Villapudúa, por su asesoría y aportaciones proporcionadas para la realización de este trabajo.

Al M.C. Juan Fernando Solís A. y al M.C. Cecilio Mendoza Z., por su acertada colaboración en la revisión de este trabajo.

A los profesores de la Maestría en Protección Vegetal, de quienes recibí acertados consejos y grandes conocimientos, por su amistad.

Al C. Mario Salazar, por su valiosa colaboración y facilidades prestadas en el desarrollo del trabajo de invernadero.

A la Sra. Lidia Morales Pérez, por su excelente labor mecanográfica.

A mis compañeros de generación y a todas las personas que en alguna forma colaboraron en el desarrollo y culminación de este trabajo.

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre:

Salomé Estrada Contreras (Q,E,P,D.). Padre ejemplar, cuyo recuerdo ha motivado mi superación.

A mi madre:

Herminia Ramírez Vda. de Estrada. Con amor y respeto y por el cariño y apoyo que ha dado a sus hijos para que vean realizadas sus metas.

A mi esposa:

María de la Luz. Por su inmenso amor y apoyo que me ha brindado, para alcanzar algo más en la vida.

A mis hijos:

Mitzi Dayanira y Javier Yair. Motivo de mi superación, y por la inmensa felicidad que le dan a mi vida.

A mis hermanos:

Carlota, Ildefonsa[†], Ma. Inés, Lorenza, Juana, Gregorio, Felipa de Jesús, Ma. de la Luz, Ma. Susana[†], Juan José, Modesta, Marcial, Faustina y J. Concepción. Con cariño y porque siempre estemos unidos.

A mi suegra:

Petra Pineda Gutiérrez. Con cariño y respeto.

CONTENIDO

	PAGINA
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS -----	viii
RESUMEN -----	x
1. INTRODUCCION -----	1
2. REVISION DE LITERATURA -----	5
2.1. Antecedentes -----	5
2.2. Taxonomía -----	6
2.3. Hospedantes -----	8
2.4. Síntomas -----	9
2.5. Daños -----	10
2.6. Epidemiología -----	11
2.7. Control genético -----	13
3. MATERIALES Y METODOS -----	17
3.1. Colecta de material enfermo -----	17
3.2. Estudios de laboratorio e invernadero -----	17
3.2.1. Aislamientos y purificación -----	17
3.2.2. Pruebas de patogenicidad -----	18
3.2.2.1. Preparación del inóculo y método de inoculación -----	18
3.2.2.2. Reaislamientos -----	19
3.2.3. Conservación del patógeno -----	19

	PAGINA
3.2.4. Identificación del patógeno -----	19
3.2.4.1. Características morfológicas -----	20
3.2.4.2. Características patogénicas -----	20
3.2.4.2.1. En semillas -----	20
3.2.4.2.2. En plantas diferenciales de toma- te -----	21
3.2.4.2.2.1. Incremento y prepara- ción del inóculo ---	21
3.2.4.2.2.2. Inoculación en plan- tas diferenciales --	22
3.2.4.2.2.3. Evaluación -----	23
3.2.4.2.2.4. Reaislamientos ----	23
3.2.5. Determinación de fuentes de resistencia al patógeno--	23
3.2.5.1. Variedades y líneas de tomate utilizadas ---	23
3.2.5.2. Establecimiento del experimento -----	25
3.2.5.3. Incremento y preparación del inóculo -----	25
3.2.5.4. Inoculación -----	25
3.2.5.5. Evaluación de daño -----	26
3.2.5.6. Análisis de datos -----	27
4. RESULTADOS Y DISCUSION -----	28
4.1. Localidades muestreadas -----	28
4.2. Estudios de laboratorio e invernadero -----	28
4.2.1. Aislamientos -----	28
4.2.2. Conservación del patógeno -----	28
4.2.3. Pruebas de patogenicidad -----	29

	PAGINA
4.2.4. Reaislamientos -----	29
4.2.5. Identificación del patógeno -----	30
4.2.5.1. Características morfológicas -----	30
4.2.5.2. Características patogénicas -----	30
4.2.5.2.1. En semillas -----	30
4.2.5.2.2. En plantas diferenciales de toma mate -----	32
4.2.6. Resistencia de algunas variedades y líneas de toma te a <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i> -----	33
4.2.6.1. Evaluación -----	33
4.2.6.2. Análisis de resultados -----	36
5. CONCLUSIONES -----	39
6. BIBLIOGRAFIA -----	40
7. APENDICE -----	43

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO		PAGINA
1	Variedades y líneas de tomate evaluadas, mediante la inoculación de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> en condiciones de invernadero, Chapingo, Méx. 1988.-	24
2	Resistencia de las variedades y líneas de tomate, evaluadas en condiciones de invernadero, a una cepa de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> . -----	38
FIGURA		
1	Macroconidios (A), microconidios (B) y clamidosporas (C) de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> . -----	31
2	Lesión café obscura, en el cuello y porción superior del hipocotilo de plántulas de tomate por <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> -----	31
3	Reacción de variedades de tomate Contessa (A), Manapal (B), Bonny Best (C) y Larma (D), a la infección de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> . -----	34
4	Lesiones en la raíz principal de tomate ocasionadas por <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> . -----	34

FIGURA

PAGINA

- | | | |
|---|---|----|
| 5 | Pudrición cortical café chocolate, en la base del tallo de tomate por <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> . ----- | 35 |
| 6 | Síntomas de necrosis vascular en raíces de tomate, por <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> . ----- | 35 |

RESUMEN

La reciente aparición de una nueva enfermedad en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), comúnmente conocida como pudrición de la corona y raíz, representa uno de los problemas más serios en las principales áreas productoras de esta hortaliza en México, ya que tiene una gran capacidad de diseminación y establecimiento en el suelo, el cual permanece infestado prácticamente por tiempo indefinido. Las estrategias para controlar la enfermedad por medio de fungicidas y fumigantes del suelo han fracasado, por lo que es conveniente el uso de variedades resistentes. En base a lo anterior, se llevó a cabo la presente investigación con los siguientes objetivos: 1.- Identificación del agente causal de la pudrición de la corona y raíz del tomate; y 2.- Determinación de fuentes de resistencia a la enfermedad.

Para este estudio se colectaron muestras de tallo y raíz de tomate con los síntomas típicos de la enfermedad en diferentes campos agrícolas de los Valles de Culiacán y Guasave, Sinaloa, así como también de Villa de Arista, S.L.P. Para lograr la identificación del patógeno se hicieron aislamientos y se cumplió con los postulados de Koch, verificando la patogenicidad de cada uno de los aislamientos, en condiciones de laboratorio e invernadero. Se estudiaron las características morfológicas y culturales del patógeno, así como también se tomó en cuenta la sintomatología, para lo cual se hizo uso de literatura relacionada con esta enfermedad.

La identificación del patógeno se basó en la reacción de cultivares diferenciales de tomate, Contessa resistente a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 1 y 2, Bonny Best susceptible a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 1 y 2, Manapal resistente a la raza 1 y susceptible a la raza 2, Larma resistente a la pudrición de la corona y raíz del tomate. Esta prueba se llevó a cabo mediante la inoculación de plántulas, sumergiendo las raíces en una suspensión de conidios para posteriormente ser trasplantadas en macetas con suelo esterilizado. También se hicieron inoculaciones a semillas de tomate Bonny Best, las cuales se expusieron a una suspensión de conidios, y enseguida fueron colocadas en cajas de Petri con papel filtro humedecido.

En base a las características morfológicas, sintomatología y reacción de cultivares diferenciales de tomate, el hongo patógeno se identificó como *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis y Shoemaker.

En la determinación de fuentes de resistencia los resultados obtenidos indican que de todos los cultivares de tomate utilizados, el cultivar Larma se comportó como la mejor fuente de resistencia, seguido por los cultivares Exp-89 y PSR 76780, los cuales mostraron tolerancia a la enfermedad.

1. INTRODUCCION

El cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), es la principal hortaliza que se produce en México, ya que representa el 30% de las exportaciones de hortalizas mexicanas, con un promedio de 467 mil toneladas, las cuales se concentran principalmente en los meses de Diciembre a Mayo, cuando exportan los Estados de Sinaloa, Jalisco y Sonora. Aproximadamente el 17% de la superficie nacional cosechada de hortalizas corresponde al tomate, gracias a que anualmente se dedica a este cultivo una superficie superior a las 60 mil hectáreas (UNPH 1986, 1988).

El Estado de Sinaloa es el principal productor de tomate en la República Mexicana, dedicando a este cultivo 30 275 hectáreas, con una producción de 1,150,161 toneladas de las cuales exporta 270,456 toneladas con una participación del 88.4% (UNPH 1986, 1988).

En nuestro país esta solanácea tiene una gran influencia y derrame económico a otros sectores que subsisten por su producción y comercialización. Como generador de empleos, la siembra y producción de tomate tiene una influencia primordial, ya que ocupa un gran número de trabajadores en el campo, quienes desarrollan actividades que van desde labores de cultivo y selección, hasta el empaque.

En el estado de Sinaloa existen alrededor de 35 enfermedades, que en mayor o menor grado, afectan los rendimientos del cultivo del to

mate y la calidad de su producción. De estas, 24 son infecciosas y se estima que reducen la producción de esta hortaliza aproximadamente en un 20% (Sánchez, 1980).

Recientemente en los Valles de Culiacán y Guasave, Sinaloa y en Villa de Arista, San Luis Potosí, se ha presentado una enfermedad nueva de origen fungoso que se le conoce como la pudrición de la corona y raíz del tomate, la cual por su severidad ha causado serios problemas en esta hortaliza, ataca cultivares de tomate resistentes a la marchitez por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 1 y 2, y en general ha llegado a causar daños hasta del 100%, lo cual ha limitado considerablemente la producción del cultivo (Ramírez, comunicación personal).

La pudrición de la corona del tomate se reportó por primera vez en tomate de invernadero en Japón en 1969, y en 1971 en los Estados Unidos y desde entonces se ha convertido en un factor limitante para el cultivo en Canadá, Creta, Italia, Israel, Francia y los países bajos. En México la pudrición de la corona del tomate se empezó a observar como un problema serio en Culiacán y Guasave, Sinaloa, a partir de 1985-1986 y en San Luis Potosí en 1987-1988 en plantas adultas de los cultivares Contessa, Pacific, Carmen y Floradade, de las cuales se hicieron aislamientos y consistentemente se obtuvo *F. oxysporum*; sin embargo, los síntomas de la enfermedad no eran típicos de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 1 y 2, a las cuales los cultivares anteriores son resistentes.

Los síntomas de la enfermedad en el campo se manifiestan como un ligero amarillamiento de los bordes de las hojas, que progresa de las hojas más viejas hacia las hojas jóvenes. Al tiempo de la maduración de los primeros frutos, algunas plantas se marchitan rápidamente y se secan pero la mayoría se marchita lentamente. El amarillamiento de las hojas progresa hacia la vena principal y el tejido afectado finalmente muere. En plantas muy afectadas, se observa pudrición de la corteza a la altura del cuello, y al hacer un corte longitudinal del tallo se observa una ne cro sis vascular de color café chocolate que se extiende hasta 25 cm hacia arriba de la superficie del suelo. En muchos casos se manifiesta una coloración púrpura en la punta de raíces afectadas. Estos síntomas son similares a los descritos por Leary y Endo (1971), en cultivares de tomate a campo abierto en California y Florida, respectivamente. Esta enfermedad llega a causar pérdidas muy severas, principalmente cuando se tienen cultivares susceptibles y existen condiciones favorables para el desarrollo del hongo, como: suelos fumigados o esterilizados con vapor, temperaturas de 10°C a 20°C y riegos frecuentes cuando existen bajas temperaturas. Hasta la fecha los intentos para controlar la enferme dad por medio de fungicidas y fumigantes del suelo han fallado, debido a la rápida reinfestación de los mismos, que permanecen infestados prácticamente por tiempo indefinido, por lo que es necesario el uso de culti va res istentes (Rowe y Farley, 1981).

Aquí en México, a pesar de que se sospecha de la nueva forma especial de *F. oxysporum*, no se han realizado estudios tendientes a su determinación, los cuales son necesarios para emprender trabajos relaciona dos con su control. En consecuencia, basándose en lo anteriormente descrito y debido al problema potencial que representa esta enfermedad, la

presente investigación se realizó con los siguientes objetivos:

1. Identificación del agente causal de la pudrición de la corona y raíz del tomate.
2. Detección de fuentes de resistencia, mediante la inoculación del agente causal en cultivares de tomate.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

La pudrición de la corona y raíz del tomate fue reconocida primeramente en tomate de invernadero cubiertos con plástico en los distritos de Ono y Kaiiso, Japón en 1969, en 25 de 74 campos agrícolas inspeccionados (33%) con pérdidas completas del cultivo en algunos casos, y para 1971, 15 de 30 invernaderos (50%) fueron afectados en Ono (Sato y Araki, 1974). La enfermedad posteriormente apareció en tomate de vara en campos de California en 1971 (Leary y Endo, 1971) y el agente causante se identificó como una nueva raza de *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, el cual atacó cultivares de tomate resistentes a las razas 1 y 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sánchez et al., 1975). En Japón, el organismo causal también se identificó como *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Ogura y Ban, 1971).

González (1974) al trabajar con razas fisiológicas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el Valle de Culiacán, Sin., encontró 13 aislamientos que habían atacado ligeramente al cultivar "Walter", lo cual lo llevó a determinar la posibilidad de que se tratara de una nueva forma especial de *F. oxysporum* que causa pudrición de la corona del tomate, descrita en 1972 por el Dr. Endo, y finalmente encontró que ninguno de los 13 aislamientos pertenecía a la nueva forma especial mencionada.

En 1973, Endo, Leary y González, recorrieron la zona dedicada al cultivo del tomate en los Valles de Culiacán y Fuerte del Estado de Sinaloa, buscando plantas de tomate enfermas de la pudrición de la corona por *F. oxysporum* y en ninguno de ambos Valles se encontraron plantas enfermas por el nuevo patógeno, descartándose la presencia de tal enfermedad (González, 1974).

2.2. Taxonomía

Todos los investigadores han acordado que el hongo causal de la pudrición de la corona y raíz del tomate es *Fusarium oxysporum* Schlecht., indistinguible en morfología y características culturales de otros aislamientos de *F. oxysporum* (Booth, 1971; Gordon, 1965), pero es distinguible en su asociación estrecha con *Lycopersicon* spp. y en los síntomas que causa.

Sato y Araki (1974), Yamamoto et al. (1974) y Rowe (1978, 1980) encontraron que *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* fue patogénico en cultivares de *Lycopersicon esculentum* resistentes a las razas 1 y 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Para diferenciar entre los dos patógenos, Rowe uso cuatro cultivares; Vendor, susceptible a las razas 1 y 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y pudrición de la corona; Ohio MR13, resistente a la raza 1, susceptible a la raza 2 y pudrición de la corona; Walter, resistente a las razas 1 y 2, susceptible a la pudrición de la corona; IBR-301-31 (línea híbrida japonesa) resistente a pudrición de la corona y susceptible a las razas 1 y 2. Por otra parte, Yamamoto et al. (1974) usaron tres cultivares para diferenciar la pudrición de

la corona de la marchitez por *Fusarium* en tomate: Ponderosa (susceptible a las razas 1 y 2), Okitsu 3 (resistente a las razas 1 y 2), todas las cuales fueron susceptibles al patógeno de la pudrición de la corona del tomate; de esta forma, Yamamoto et al. (1974) la designan raza 3, siguiendo la terminología japonesa de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 1 y 2, ambos patógenos que causan marchitez.

La pudrición de la corona del tomate tiene una temperatura óptima que varía de 15-18°C (Jarvis y Thorpe, 1976; Sonada, 1976) en contraste a la óptima de 27°C para la expresión de la marchitez causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Walker, 1971). Además, los síntomas causados por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* son completamente distintos. El patógeno de la pudrición de la corona comúnmente penetra los tejidos corticales de las raíces e hipocotilo por medio de heridas causadas por la emergencia de raíces secundarias y adventicias, respectivamente, y causa una lesión café chocolate que se extiende hacia el sistema vascular, pero no más de 25 cm. arriba de la zona de transición raíz-tallo. El patógeno puede aislarse solamente de tejido cercano a la lesión, mientras que *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* puede aislarse desde lo alto en las plantas marchitas (Jarvis y Shoemaker, 1978). Esta consideración llevaron a Jarvis y Shoemaker (1978) a proponer una nueva forma especial: *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis y Shoemaker.

Sánchez et al. (1975) mencionan un método rápido en cajas de Petri para diferenciar la pudrición de la corona de las razas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* del tomate, en plántulas germinadas en

Agua-Agar o Agar bajo en nutrientes. A los cinco días después de la inoculación, el patógeno de la corona causa una lesión café oscura que afecta el cuello y la porción superior del hipocotilo de las plántulas, mientras que *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* causa una coloración café clara en toda la raíz principal.

2.3. Hospedantes

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* se caracteriza por atacar solamente a las variedades de tomate y hasta la fecha se han identificado 2 razas, 1 y 2, las cuales se pueden distinguir usando como plantas diferenciales a las variedades Bonny Best, Manapal y Walter (González, 1974).

F. oxysporum f. sp. *radicis-lycopersici* se reporta que además de tomate también ataca a algunas variedades de chile (*Capsicum frutescens* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), papa (*Solanum tuberosum*), gloria de la mañana (*Ipomoea purpurea*), okra (*Abelmoschus esculentus*), calabaza (*Cucurbita pepo* var. *melo*pepo), por lo que se descarta como la raza 3 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y se considera como una nueva forma especial (Sonoda, 1976).

Rowe (1980) probó la patogenicidad de 42 aislamientos en 15 hospedantes de 5 familias, de las cuales; cucurbitáceas, crucíferas y cereales no fueron afectadas, pero las leguminosae siguientes *Glycine max* (L.) Merr., *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L. y *Arachis hypogea* L. fueron afectadas por tres aislamientos. Dos de estos aislamientos también afectaron a la solanacea *Solanum melongena* L., concluyendo que la propuesta taxonómica de Jarvis y Shoemaker (1978), la

cual implica especificidad de hospedante, para denominar la nueva forma especial de *F. oxysporum*, se justificó con alguna modificación para incluir patogenicidad a leguminoseae, siendo algunas de estas atacadas.

2.4. Síntomas

La enfermedad se conoce comúnmente como pudrición de la corona y raíz del tomate por los síntomas que provoca en el cuello, raíz y aún en el tallo. En plantas afectadas es común encontrar pudrición del tejido a la altura del cuello, y al hacer un corte longitudinal del tallo y raíz se observa una necrosis vascular color café rojizo y en muchos casos se manifiesta una coloración púrpura en la punta de las raíces afectadas.

En el invernadero, la enfermedad se caracteriza por una marchitez repentina inmediatamente antes de que los primeros frutos estén listos para cosecharse, especialmente en días soleados. Las plantas enfermas se pueden recuperar hasta un determinado grado por la noche o en días nublados, o cuando se corta la primera fructificación. No obstante, a la larga las plantas afectadas mueren (Farley, 1975 ; Jarvis et al., 1975; Sato y Araki, 1974; Yamamoto et al., 1974). En plantas de campo, Sonoda (1976, 1979) observó una marchitez rápida que resultó en muerte temprana, y una marchitez lenta con una muerte progresiva de las hojas de abajo hacia arriba. Las plantas con marchitez lenta sobrevivieron hasta el final de la temporada y produjeron una abundancia de crecimiento nuevo después que la mayoría de los frutos se cortaron.

Jarvis y Shoemaker (1978) mencionan otros síntomas en cultivos maduros de invernadero, tales como pudrición cortical de color café chocolate al nivel del suelo frecuentemente no aparente hasta que se cortan las capas más exteriores del tallo; una necrosis vascular de color café rojizo que se extiende 5-10 cm hacia arriba del tallo y generalmente no más de 25 cm; pudrición severa o pérdida de la raíz primaria de la semilla y numerosas lesiones pequeñas de color café grisáceo en el punto de emergencia de las raíces laterales; proliferación de raíces adventicias arriba de la lesión del tallo; adelgazamiento del ápice del tallo; las hojas superiores se marchitan primero, seguidas por las hojas de más abajo, con coloración amarillo dorado desde la punta y eventualmente sobreviene la muerte de las hojas. El fruto de las plantas afectadas es flácido y le falta su coloración brillante normal.

Jarvis et al. (1975) aseveran que en el suelo esterilizado y fuertemente reinfestado, las plántulas jóvenes son afectadas severamente, doblándose y aparentando damping-off de plántulas atacadas por *Pythium* spp.

2.5. Daños

Las pérdidas por la pudrición de la corona del tomate pueden ser considerables, y la enfermedad se ha diseminado rápidamente a través de las regiones donde se cultiva el tomate bajo invernadero y campo.

Farley et al. (1975) reportaron cuatro cultivos de tomate afectados por la pudrición de la corona del tomate en el área de Cleveland y Ohio en 1973. Para 1976 Rowe y Farley (1977) encontraron la enferme-

dad en 23 invernaderos, alrededor de un tercio de los invernaderos de Ohio. En siete de los invernaderos, las pérdidas de rendimientos se estimaron de 20-60%.

Jarvis et al. (1983) inspeccionaron 119 tomates en una área densamente poblada por invernaderos en el Suroeste de Ontario, Canadá; en 1974, 23% de los invernaderos tenían cultivos de primera afectados por la pudrición de la corona incrementándose a 62% en 1978. Los agricultores estimaron que las pérdidas anuales del cultivo fluctuó de 0 a 95% con un 66% de la estimación en el rango de 0 a 4%.

Sonoda (1976) en el cultivo de tomate de campo en Florida, encontró 29% de plantas del cultivar floradade muertas como resultado de una marchitez rápida, con una correspondiente reducción de rendimiento a 65% en comparación con el ciclo anterior sin la enfermedad (pudrición de la corona del tomate).

En Culiacán y Guasave, Sinaloa, y Villa de Arista, S.L.P., la pudrición de la corona del tomate se ha estado diseminando rápidamente en los lotes de tomate, y los agricultores estiman que el rendimiento ha disminuído considerablemente debido a la enfermedad (Ramírez Villa pudúa, comunicación personal).

2.6. Epidemiología

Jarvis et al. (1983); Rowe y Farley (1981); Sonoda et al. (1978) aseveran que la pudrición de la corona del tomate es esencialmente una enfermedad de suelos fumigados o esterilizados con vapor, ya que antes que esta enfermedad fuera mejor conocida se le aconsejaba a los agricul

tores que llevaran a cabo un programa completo de higiene lavando las superestructuras de los invernaderos, macetas y equipos con formalina, pero Jarvis (1977) notó que los agricultores que hicieron ésto frecuentemente tuvieron los cultivos más afectados.

Dirks y Jarvis (1975); Jarvis et al. (1975) mencionan que la diseminación del patógeno de la pudrición de la corona del tomate en cultivos de invernadero fue a lo largo de los surcos rápidamente por más de 1% por día, ya que las plantas afectadas estaban distribuidas al azar, sugiriendo que la diseminación se da planta por planta, quizá ayudada por procedimientos mecánicos o por el sistema de riego y el trasplante.

Rowe y Coplin (1976) y Rowe et al. (1977) descubrieron que *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* es dispersado de manera importante por el viento en forma de microconidios y señalan que el hongo se recuperó fácilmente como microconidios de las pilas de desperdicios de ramas de tomate, suelo y acolchado de paja.

El *Fusarium* de la corona del tomate sobrevive como clamidosporas en las camas de tierra a 50 cm abajo de la superficie, más abajo de el nivel de la esterilización efectiva del suelo por medio de vapor o fumigante (cerca de 30-35 cm); también en raíces gruesas, y terrenos de arcilla difíciles de esterilizar (Jarvis, 1977), lo cual explica el porqué la esterilización y los procedimientos de higiene fallaron para el control de la enfermedad.

Rowe y Coplin (1976) citan que es fácil aislar a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* del polvo dentro y alrededor de los invernaderos por su capacidad de ser diseminado por el viento. Rowe et al. (1977) mencionan que existe la posibilidad de que las clamidosporas de *Fusarium* de la corona del tomate pudieran ser llevadas en ropa, zapatos, maquinaria, cajas de empaque, etc. por distancias cortas.

La temperatura óptima para la expresión de la enfermedad (pudrición de la corona del tomate) es de alrededor de 15-18°C, o de 10 a 20° C. La enfermedad es de los meses fríos del invierno en tomate de vara de campo en California y Florida y de cultivos de invernadero de primavera muy temprana (Jarvis et al., 1983; Sonoda, 1976, 1979; Jarvis y Shoemaker, 1978).

2.7. Control genético

Las estrategias para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* que causa la pudrición de la corona y la raíz han sido revisadas por Rowe y Farley (1981), y aseveran que hasta la fecha han fallado muchos intentos para controlar la enfermedad por medio de fungicidas y fumigantes del suelo, principalmente debido a la rapidez con que los microconidios llevados por el viento reinfestan los suelos esterilizados. Estos investigadores sugieren tres formas para el control. 1)- eliminación de las esporas dentro del invernadero; 2)- tratamiento del suelo con fungicidas después de la esterilización para prevenir la recolonización; 3)- Desarrollo de variedades resistentes, y como desarrollo futuro el control biológico.

La medida más efectiva para controlar la pudrición de la corona del tomate es el uso de variedades resistentes. Se conocen muy pocas variedades resistentes, ya sean tomate de campo o en tomate de invernadero. Jarvis y Thorpe (1976) no encontraron resistencia a esta enfermedad entre ocho cultivares de tomate de campo en Ontario, Canadá, aunque los síntomas fueron generalmente ligeros. Ellos mencionan que la temperatura del suelo en el invernadero fue alta, lo cual no permitió la expresión de la enfermedad. Por otro lado, Thibodeau (1980), Thibodeau y Simard (1978) mencionan que de las variedades de tomate de invernadero de crecimiento indeterminado solamente la variedad Larma de frutos rojos, ha sido reconocida como resistente a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

Yamakawa y Nogata (1975) en Japón encontraron que dos líneas híbridas, IBR-301-30 e IRB-301-31, eran resistentes a la pudrición de la corona y raíz del tomate, y que ambas fueron derivadas de mutantes inducidos por radiación gamma de *Lycopersicon peruvianum* cruzado con *L. esculentum*. Scott y Farley (1983) usaron la línea híbrida IRB-301-31 para obtener la variedad Ohio CR6, un cultivar de frutos rosados, siendo ésta la primera variedad de tomate liberada y aceptada comercialmente, como cultivar de invernadero con resistencia al *Fusarium* de la corona y raíz del tomate. Esta variedad fue liberada por la Universidad del Estado de Ohio en 1983. La línea híbrida IRB-301-31 fue posteriormente usada por Berry y Oakes (1987), para producir las variedades Ohio VR11 y VR12, ambos de fruto rosado y resistentes a la marchitez por *Verticillium* y virus mosaico del tabaco TM-22, así como también a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

Jarvis y Thorpe (1976) evaluaron 97 líneas de especies de *Lycopersicon* e híbridos, entre las que identificaron 18 fuentes de resistencia a la pudrición de la corona del tomate, aunque los cultivares de campo o invernadero que se probaron, no fueron resistentes, ni ninguna línea de plantas de *L. esculentum* introducidas por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). La resistencia se encontró en *L. hirsutum*, *L. hirsutum* f. *glabratum*, *L. peruvianum* y *L. pimpinellifolium*. Berry y Oakes (1987); Scott y Farley (1983) suponen que la resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en tomate esta generalmente condicionada por un solo gen dominante, así como también que puede existir resistencia recesiva o incompletamente dominante, probablemente con modificadores presentes, ya que algunas plantas registradas como resistentes en el estado de plántulas, sucumbieron antes de llegar a la maduración de los frutos. Por otro lado, Berry y Oakes (1987) aseveran que la resistencia a *Fusarium* de la corona y raíz en el tomate fue heredada por genes dominantes en una cruce entre las líneas producidas 89-1 (resistente) y 1239 A (susceptible).

En un análisis genético de resistencia Vakalounakis (1988) menciona que la línea de tomate IRB-301-31, resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* fue cruzada con dos cultivares susceptibles, Mottelle y Earlypack No. 7. Las cruces F_1 , F_2 y las cruces regresivas de los progenitores fueron inoculadas en el estado de hojas primarias con una suspensión de esporas del patógeno; las proporciones de resistencia o susceptibilidad de plantas indicó que la resistencia fue conferida por un gen dominante designado como Fr1. Los resultados de la inoculación de F_1 , F_2 y cruces regresivas de la progenie confirman la hipótesis de que la resistencia de IRB-301-31 a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-*

Lycopersici se debe a un gen dominante (Yamakawa y Nagata, 1975).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Colecta de material enfermo

Para la realización del presente trabajo, los muestreos se realizaron de los campos agrícolas dedicados al cultivo del tomate en Culiacán y Guasave, Sinaloa y Villa de Arista, San Luis Potosí, Méx., seleccionándose las plantas enfermas con síntomas típicos, y se seccionaron, conservando únicamente el sistema radical con parte del tallo, las cuales fueron colocados en bolsas de plástico con papel humedecido y se trasladaron al laboratorio de Micología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

3.2. Estudios de laboratorio e invernadero

3.2.1. Aislamientos y purificación

Los aislamientos se realizaron sembrando trocitos de tejido infectado de la corona, raíz y tallo. Los trocitos fueron desinfectados en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% y se lavaron en agua destilada estéril, para posteriormente ser sembrados en medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) con estreptomycina o acidificado, dejándose desarrollar a temperatura ambiente de 18°C - 26°C.

3.2.2. Pruebas de patogenicidad

Para determinar el agente causal de cualquier enfermedad, es necesario el cumplimiento de los postulados de Koch. Por esta causa, después de los aislamientos se procedió a inocular los organismos en plantas de tomate sanas de la misma variedad de donde fueron aislados para saber cuál(es) reproducía(n) los síntomas típicos de la enfermedad. El procedimiento fue el siguiente:

3.2.2.1. Preparación del inóculo y método de inoculación

El medio de cultivo empleado para la preparación del inóculo fue Papa-Dextrosa (PD), el cual se dispersó en matraces. A éstos se transfirieron discos de cultivo de cada uno de los aislamientos por separado y se dejaron crecer 10 días bajo condiciones de laboratorio. Después se extrajo el contenido de los matraces, usando una manta de cielo para separar las partículas gruesas. Para comprobar la presencia de esporas, se depositaron pequeñas gotas en portaobjetos y se hicieron observaciones al microscopio compuesto.

Las inoculaciones se hicieron a plántulas de tomate de la misma variedad de donde fueron obtenidos los aislamientos. Para cada aislamiento se utilizaron ocho plántulas de 15 días de edad, las cuales fueron removidas del suelo y se lavó la raíz con agua corriente, para posteriormente ser introducidas en la suspensión de esporas, se dejó un testigo para el cual se empleó solamente agua destilada. Las plántulas tratadas fueron enseguida plantadas en macetas con suelo previamente esterilizado con bromuro de metilo. Por último, las macetas se colocaron en bancales de invernadero.

3.2.2.2. Reaislamiento

Una vez que se empezó a notar la reproducción de síntomas de la enfermedad, se procedió a hacer los reaislamientos de las plantas que resultaron infectadas, siguiendo la misma técnica descrita para los aislamientos. El medio de cultivo empleado también fue PDA. Después de que se logró el reaislamiento, se compararon las características del crecimiento en el medio de cultivo y las características morfológicas del patógeno con las obtenidas en el aislamiento original.

3.2.3. Conservación del patógeno

Como en los aislamientos y reaislamientos sólo se obtuvo un hongo, de inmediato se procedió a purificarlo mediante cultivos monospóricos, de la siguiente manera: en cajas de Petri con Agar-Agua, se esparció 1 cc de la suspensión, distribuyéndose uniformemente en la superficie con movimientos rotativos de la caja para dispersar los conidios. A las 48 hr una vez germinados los conidios, estos fueron transferidos a PDA. Las cajas de Petri con el hongo se incubaron a temperatura ambiente 18°C - 26°C, y cuando el hongo estuvo próximo a cubrir la caja de Petri se le añadió agua destilada estéril para formar una suspensión de conidios la cual se virtió a tubos de ensayo con arena esterilizada por 2 veces, con intervalos de 24 hr para mantener al hongo viable durante el desarrollo de la investigación.

3.2.4. Identificación del patógeno

Después de verificar la patogenicidad de los diferentes aislamientos, y debido a que todos estos presentaron características cultura

les y morfológicas de *Fusarium* se hicieron cultivos monospóricos, con los cuales se procedió a identificar al agente causal de dos maneras: 1) por medio de características morfológicas y color de las colonias, 2) por la sintomatología y pruebas de patogenicidad en cultivares diferenciales, siendo esta última la más importante para la identificación del patógeno en estudio.

3.2.4.1. Características morfológicas

Se hicieron preparaciones del hongo en lactofenol y se observaron al microscopio compuesto previamente calibrado, así como también mediante un micrómetro se midieron conidios y clamidosporas que permitieron su identificación. Se realizaron observaciones del crecimiento del hongo en PDA, para observar la forma y color de las colonias bajo condiciones de oscuridad continua y luz alternada con oscuridad en proporciones iguales (12 hr: 12 hr).

3.2.4.2. Características patogénicas

3.2.4.2.1. En semillas. Para cumplir con el segundo de los postulados de Koch, se probó la patogenicidad de los aislamientos in-vitro, de la manera siguiente: se hicieron inoculaciones a semillas de tomate cultivar Bonny Best, de acuerdo con el método seguido por Sánchez y Endo (1975). Las semillas de tomate se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante tres minutos, y se lavaron por dos veces en agua destilada estéril. Posteriormente las semillas se sumergieron en una suspensión de 10^4 conidios por mililitro y se colocaron 15 de ellas a germinar sobre papel filtro humedecido dentro de

una caja de Petri. Estas se incubaron a temperatura ambiente (18°C a 26°C), y se sometieron a luz continua durante las primeras 72 hr para acelerar su germinación. A partir de los cinco días después de la germinación de las semillas se realizaron las lecturas de los síntomas; los resultados obtenidos se compararon con lo reportado por Sánchez y Endo (1975).

3.2.4.2.2. En plantas diferenciales de tomate. Para reproducir los síntomas de la enfermedad la patogenicidad de los aislamientos se probó en invernadero, inoculando plantas diferenciales de tomate por medio de una suspensión de conidios.

3.2.4.2.2.1. Incremento y preparación del inóculo. El inóculo se preparó a partir de aislamientos monospóricos que se tenían en tubo de ensayo con arena esterilizada, para lo cual se seleccionaron aquellos que resultaron positivos en la prueba de patogenicidad en semillas de tomate Bonny Best. Estos se pusieron a crecer por separado en matraces con medio de cultivo líquido Papa-Dextrosa (PD) y se incubaron a temperatura ambiente de 18°C a 26°C, exponiéndose a luz y oscuridad normal por un período de 10 días, tiempo en el cual se estuvieron agitando para asegurar una concentración adecuada de conidios. De estos cultivos se hicieron suspensiones de 10^6 conidios por mililitro, la cual se contabilizó con un hematocitómetro Neubauer.

3.2.4.2.2.2. Inoculación en plantas diferenciales. La de terminación de una posible nueva forma especial de *Fusarium oxysporum* se realizó en base a la reacción presentada por los cultivares diferenciales de tomate: Contessa, resistente a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 1 y 2; Bonny Best, susceptible a las razas 1 y 2; Mana pal, resistente a la raza 1 y susceptible a la raza 2 y Lama resistente a la pudrición de la corona del tomate.

Cuando se obtuvieron las suspensiones de conidios, ajustadas a la concentración indicada (10^6), se inocularon las plántulas diferenciales de tomate de 15 días de edad sumergiendo la raíz en la suspensión de conidios, siguiendo el método sugerido por Ramírez y colaboradores (1985). Las plántulas fueron removidas de las semilleras a los 15 días de edad y se lavó la raíz con agua corriente, para posteriormente ser in troducidas a la suspensión de conidios de cada aislamiento de *Fusarium* en estudio. Las plántulas tratadas fueron enseguida plantadas en macetas con suelo esterilizado con bromuro de metilo. Una vez hecha la inoculación las macetas fueron colocadas en bancales del invernadero a temperatura ambiente de 10°C a 18°C por la noche y de 25°C a 32°C durante el día.

La fertilización se hizo semanalmente con una solución nutritiva compuesta de: 250 gramos de Urea, 250 gramos de Superfosfato de calcio triple y 250 gramos de Sulfato de potasio; estos tres productos fueron diluidos en 20 litros de agua, y de la solución se tomó un litro y se aforó a 20 litros de agua; con esta nueva solución se regaron las plantas.

3.2.4.2.2.3. Evaluación. A los cinco días después de la inoculación se iniciaron las observaciones periódicas del desarrollo de las plantas. Después de dos meses de la inoculación, la severidad de la enfermedad se midió sobre una escala de 0-4; donde, 0 = no síntomas, 1 = necrosis de la punta principal, 2 = necrosis severa de toda la raíz, 3= necrosis severa de la raíz, la cual se extendió hacia el tallo sobre la superficie del suelo, 4 = planta muerta. Esta escala fue una modificación de la empleada por Jarvis y Thorpe (1976). Para la lectura final del daño se realizó un corte longitudinal del tallo y raíz.

3.2.4.2.2.4. Reaislamientos. Una vez que se presentaron los síntomas de la enfermedad, se procedió a hacer los reaislamientos de las plantas que resultaron infectadas, siguiendo la misma técnica descrita para los aislamientos. El medio de cultivo empleado fue PDA. Después de que se logró el reaislamiento, se compararon las características del crecimiento en el medio de cultivo y las características morfológicas del patógeno con las obtenidas del aislamiento original.

3.2.5. Deteminación de fuentes de resistencia al patógeno

3.2.5.1. Variedades y líneas de tomate utilizadas

Se seleccionaron 16 materiales que se reportan con resistencia a la enfermedad, y una variedad susceptible como testigo. En total se sembraron 17 materiales los cuales se enlistan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Variedades y líneas de tomate evaluadas, mediante la inoculación de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en condiciones de invernadero, Chapingo, Méx. 1988.

No.	Variedad o línea
1	Cal Ace
2	Ace - 55
3	Ace - Hy
4	Larma
5	Ruby
6	Exp - 86
7	Exp - 88
8	Vicki
9	Exp - 89
10	Lori
11	Cavalier
12	Red Cherry Large
13	PSR 26381
14	PSR 72882
15	PSR 76780
16	PSR 74782
17	Bonny Best (testigo)

3.2.5.2. Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en el invernadero de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. La siembra de los cultivos utilizados se hizo en cajas semilleras con suelo esterilizado con bromuro de metilo.

El diseño experimental utilizado para evaluar el grado de resistencia fue el de bloques al azar, con tres repeticiones; la unidad experimental estuvo constituida por 2 macetas, con cuatro plantas por maceta, por lo que en total fueron ocho plantas por unidad experimental.

3.2.5.3. Incremento y preparación del inóculo

El inóculo se preparó a partir de un aislamiento típico del agente causal de la enfermedad, el cual se puso a crecer en un medio líquido (PD) bajo en nutrientes, como se indicó anteriormente, y la concentración de la suspensión fue de 10^6 conidios por ml, la cual se contabilizó con un hematocitómetro Neubauer.

3.2.5.4. Inoculación

Para valorar el grado de resistencia de las variedades y líneas utilizadas se hicieron inoculaciones a las plántulas cuando éstas tenían 15 días, sumergiendo la raíz en la suspensión de conidios como se indicó anteriormente. Las plantas tratadas fueron enseguida trasplantadas en macetas con suelo esterilizado con bromuro de metilo, se colocaron en bancales del invernadero a temperatura ambiente de 10°C a 18°C por la noche y de 25°C a 32°C durante el día. La fertilización se hizo semanalmente con la solución nutritiva antes descrita.

3.2.5.5. Evaluación de daño

Se hicieron observaciones periódicas del desarrollo de las plántulas después de la inoculación, con la finalidad de registrar los síntomos que éstas presentaron. Después de 70 días, en el período de fructificación, las plantas se sacaron de las macetas, se lavó el suelo de las raíces y se partieron longitudinalmente, haciéndose lo mismo con el tallo para evidenciar la necrosis interna en la base. Una característica usual de la enfermedad es que la punta de la raíz principal se pudre, por lo que se registró la presencia o ausencia de pudrición en la raíz principal. La severidad de la enfermedad fue evaluada por medio de una escala arbitraria de 0-5; donde, 0 = sin síntomas visibles; 1 = pudrición de raíz; 2 = pudrición de raíz y 0.1 a 2.0 cm de necrosis interna en el tallo; 3 = pudrición de raíz y 2.1 a 6.0 cm de necrosis interna del tallo; 4 = pudrición de raíz y 6.1 a 15.0 cm de necrosis interna en el tallo; 5 = planta muerta. Esta escala fue una modificación de la utilizada por Jarvis y Thorpe (1976).

En base a los datos arrojados por la escala, el grado de infección de cada tratamiento se evaluó mediante la siguiente fórmula de Townsend y Heuberger (1943):

$$P = \frac{\text{Suma de } (nxv)}{\text{Categoría mayor } \times N} \times 100, \text{ donde:}$$

P = Grado de infección, n = número de plantas por categoría, v = valor numérico de cada categoría, N = Número total de plantas en la muestra.

3.2.5.6. Análisis de datos

De cada tratamiento se obtuvieron valores promedio de ocho observaciones en cada repetición. Los valores de la escala se transformaron a su equivalencia en porcentaje, basado en la fórmula de Townsend y Heuberger, con los cuales se realizó el análisis de varianza correspondiente y la prueba de rango múltiple de Tukey.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Localidades muestreadas

De las tres localidades que se muestrearon, se determinó que en todas había presencia de la enfermedad atacando plantas adultas en la corona y raíz, tal y como lo especifican Jarvis y Shoemaker (1978), y Sonoda (1976). De los lotes muestreados, los Valles de Culiacán y Guasave, Sinaloa fueron los más afectados, observándose una incidencia de 40% - 100%.

4.2. Estudio de laboratorio e invernadero

4.2.1. Aislamientos

De los tejidos afectados de la raíz, cuello y parte baja del tallo, pero no más arriba de 15 cm sobre la línea del suelo se aisló consistentemente un hongo. Para tal caso se utilizó el medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) con estreptomycinina o acidificado con ácido láctico.

4.2.2. Conservación del patógeno

Los cultivos monospóricos se hicieron con la finalidad de tener la menor variación posible del patógeno. La técnica utilizada fue efectiva para obtener cultivos puros a partir de conidios individuales, ya que aparte de ser fácil, separa muy bien la esporas. El medio de culti

vo Agar-Agua, pobre en nutrientes, da un crecimiento lento de los tubos germinativos de los conidios, lo cual evita la unión entre ellos y la contaminación con otros microorganismos, por tener pocos carbohidratos.

La conservación del hongo en tubos de ensayo con arena esterilizada dos veces resultó efectiva, ya que se mantiene el hongo viable por más de dos años al desecarse gradualmente la arena, lo cual coincide con lo reportado por González (1974).

4.2.3. Pruebas de patogenicidad

El método de inoculación a raíces de plántulas de tomate a la misma variedad de donde fueron hechos los aislamientos resultó efectivo, ya que a los 10 días después de la inoculación se empezaron a reproducir los síntomas de la enfermedad, empezando por una marchitez y luego la muerte de plantas debido a la pudrición de la raíz. Las plantas que no murieron presentaron una pudrición cortical café chocolate en la base del tallo y al hacer un corte longitudinal de la raíz y tallo se observó una necrosis vascular de color café rojizo. Estos síntomas coincidieron con los observados en las plantas de donde se hicieron los aislamientos originales.

4.2.4. Reaislamientos

De las plantas inoculadas que mostraron síntomas, se hicieron reaislamientos de la raíz y de la base del tallo, siguiendo la técnica descrita en materiales y métodos. El resultado fue que tanto de raíz como de la base del tallo se recuperó el mismo tipo de hongo inoculado.

4.2.5. Identificación del patógeno

4.2.5.1. Características morfológicas

Con ayuda de las descripciones de Booth (1977) y Toussoun y Nelson (1976), basadas en la descripción morfológica de conidios y clamidosporas, se confirmó que el hongo aislado fue *F. oxysporum* (Fig. 1). Sin embargo, los síntomas de la enfermedad no fueron típicos de la marchitez causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 1 y 2, a las cuales los cultivares de donde fue aislado el hongo son resistentes, sino similares a los de la pudrición de la corona y raíz del tomate descritos por Leary y Endo (1971) y Sonoda (1976) en tomates cultivados en campo abierto en California y Florida, respectivamente.

El color típico de las cepas patógenas fue rosado, azafranado o de varias tonalidades de púrpura, cuando se dejó crecer bajo luz y obscuridad, pero de color cremoso en obscuridad. Esto coincide con lo mencionado por Jarvis y Shoemaker (1978), para la identificación de *Fusarium* de la corona y raíz del tomate.

4.2.5.2. Características patogénicas

4.2.5.2.1. En semillas. La técnica utilizada para las pruebas de patogenicidad en semillas de tomate Bonny Best, descrita por Sánchez y Endo (1975), fue efectiva para la identificación del patógeno, ya que es rápida, obteniéndose resultados en 5 días después de la germinación de semillas. El patógeno causó una lesión café oscura en forma de cinturón que afectó al cuello y la porción superior del hipocotilo de las plántulas (Fig. 2), lo cual no sucede con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

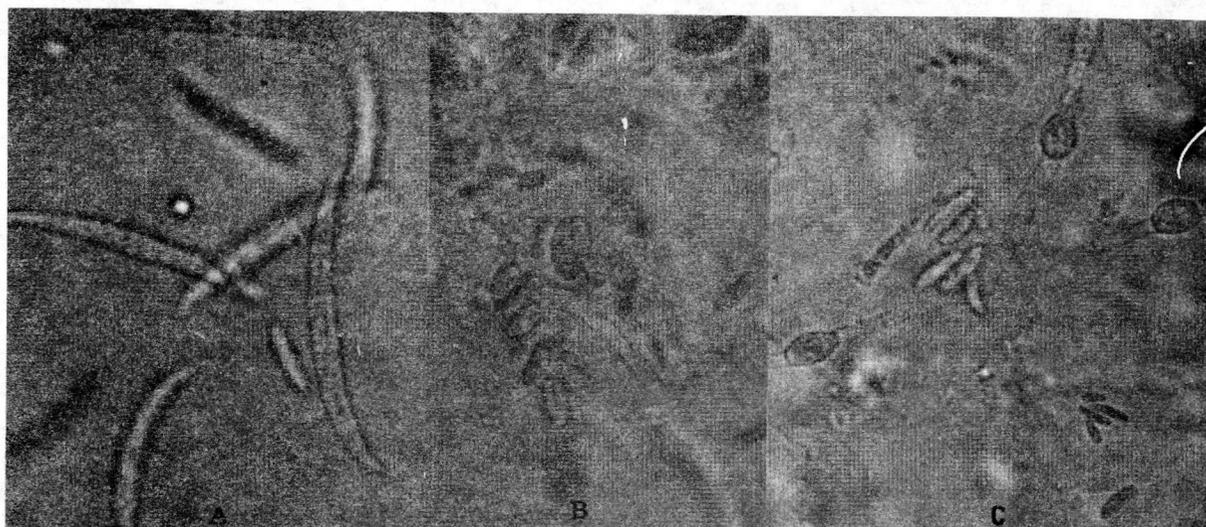


Figura 1. Macroconidios (A), microconidios (B) y clamidosporas (C) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

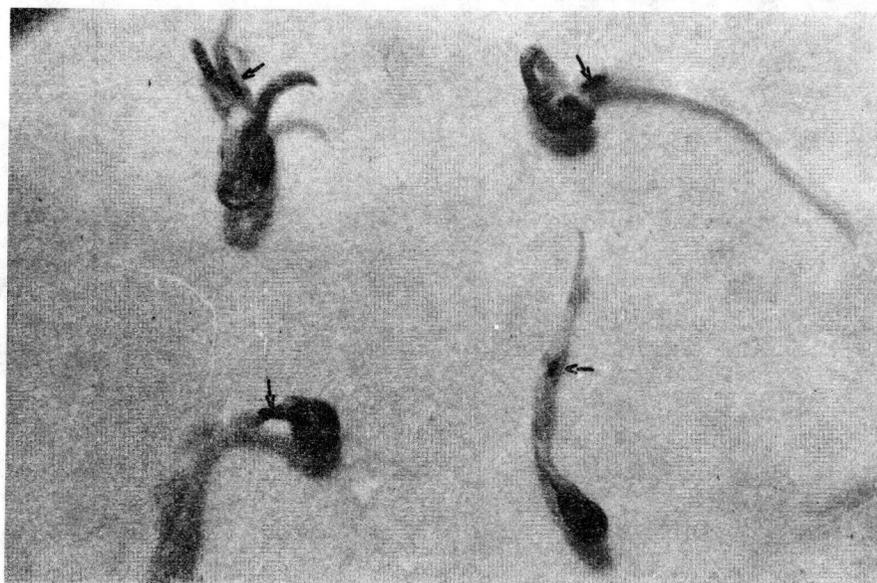


Figura 2. Lesión café obscura, en el cuello y porción superior del hipocotilo de plántulas de tomate por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

4.2.5.2.2. En plantas diferenciales de tomate. Para confirmar la presencia de la nueva forma especial de *F. oxysporum*, el método de la inoculación sumergiendo las raíces de las plántulas diferenciales de 15 días de edad en una suspensión de conidios resultó efectivo, ya que a los 5 días después de la inoculación se presentaron síntomas típicos de la enfermedad en ciertos cultivares diferenciales.

Los aislamientos de *F. oxysporum* que infectaron a los cultivares diferenciales también fueron positivos en la inoculación a semillas de tomate Bonny Best en cajas de Petri en laboratorio, comprobándose con ésto la presencia de la nueva forma especial de *F. oxysporum*.

Las pruebas de patogenicidad mostraron que el cultivar Contessa, el cual es resistente a las razas 1 y 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue susceptible a los aislamientos de *F. oxysporum* obtenidos en Culiacán y Guasave, Sinaloa, así como los de Villa de Arista, San Luis Potosí. También los cultivares Bonny Best y Manapaí fueron susceptibles; sin embargo, el cultivar Lama el cual se reporta como resistente a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* no mostró síntomas de la enfermedad (Fig. 3). Los resultados obtenidos, los cuales implican especificidad de hospedante, coinciden con los reportados por Rowe (1978, 1980), Sonoda, R.M. (1976), y Yamamoto et al. (1974), para la identificación de *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis y Shoemaker.

La sintomatología que presentaron las plantas afectadas fueron: en suelos recién esterilizados, a los cinco días después de la inoculación, las plántulas mostraron un estrangulamiento en la base del tallo

seguido por una marchitez repentina, semejante a muerte por damping-off de plántulas atacadas por *Pythium*, pero al hacer pruebas de laboratorio se comprobó que se trataba de *F. oxysporum*. Otros síntomas registrados fue la presencia de numerosas lesiones pequeñas de color café grisáceo en los puntos de emergencia de raíces laterales sobre la raíz principal (Fig. 4), así como también una pudrición cortical de color café chocolate al nivel del suelo (Fig. 5); al hacer un corte longitudinal de la raíz y tallo se observó una necrosis vascular de color café rojizo, que no se extendió más de 20 cm arriba del tallo (Fig. 6); arriba de la lesión de la base del tallo con frecuencia se observó una proliferación de raíces adventicias, lo cual permitió a las plantas que se recuperaran, pero a la larga éstas murieron. En muchos casos se pudo observar, en la punta de las raíces afectadas, una coloración púrpura. Estos síntomas coinciden con los descritos por Jarvis y Shoemaker (1978), Jarvis et al. (1975) y Sonoda (1976, 1979), para *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis y Shoemaker, causante de la pudrición de la corona y raíz del tomate.

4.2.6. Resistencia de algunas variedades y líneas de tomate a *F.*

oxysporum f. sp. *radicis-lycopersici*.

4.2.6.1. Evaluación

El método de inoculación sumergiendo las raíces de las plántulas en la suspensión de conidios fue efectivo para estimar el grado de resistencia de los cultivares utilizados, ya que diez días después de la inoculación se empezaron a presentar síntomas en ciertos cultivares, los cuales se registraron durante el desarrollo de las plantas. Después de 80 días, durante el período de fructificación, la severidad de la enfermedad fue evaluada, haciéndose cortes longitudinales de tallo y raíz.

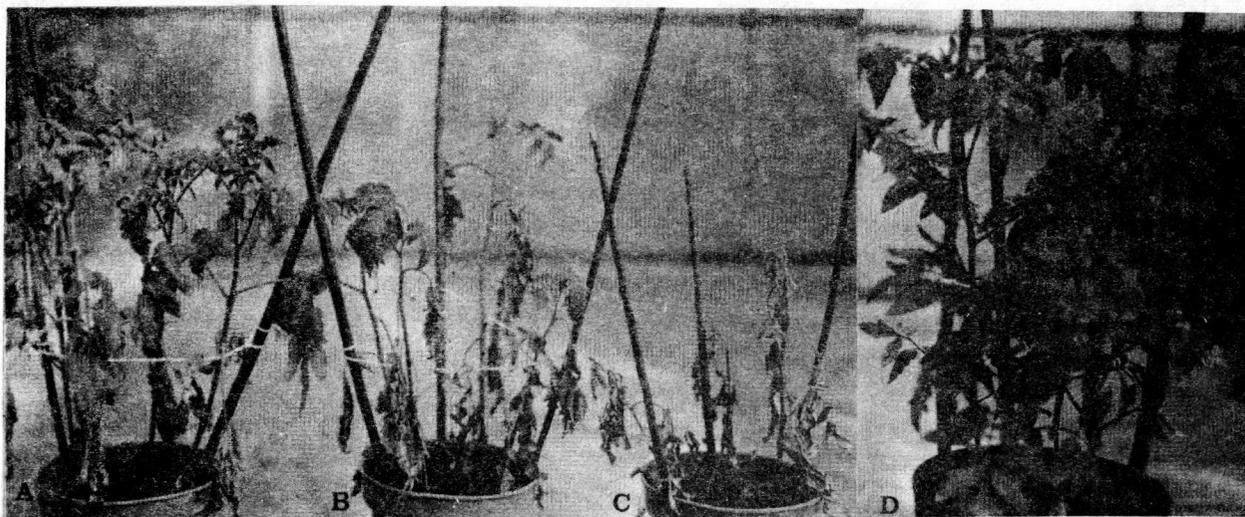


Figura 3. Reacción de variedades de tomate Contessa (A), Manapal (B), Bonny Best (C) y Lama (D), a la infección de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

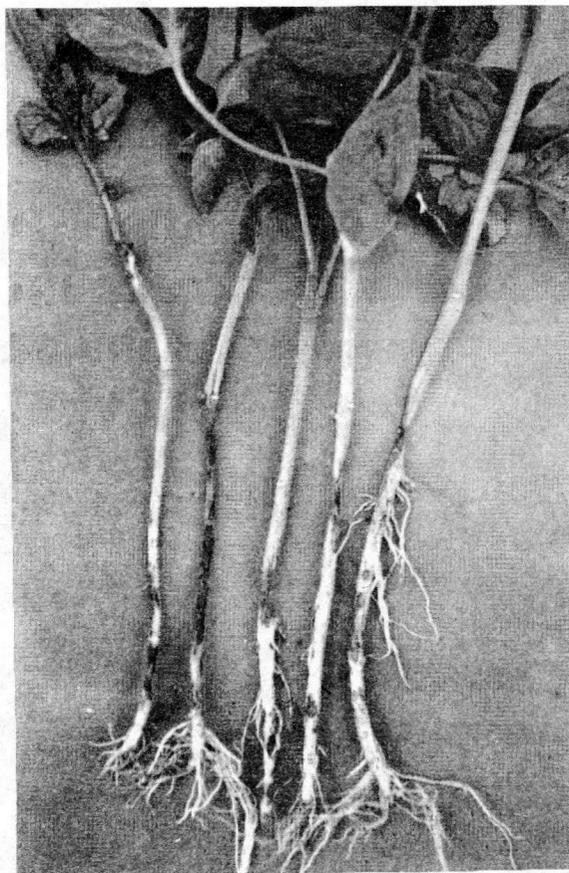


Figura 4. Lesiones en la raíz principal de tomate ocasionadas por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.



Figura 5. Pudrición cortical café chocolate, en la base del tallo de tomate por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

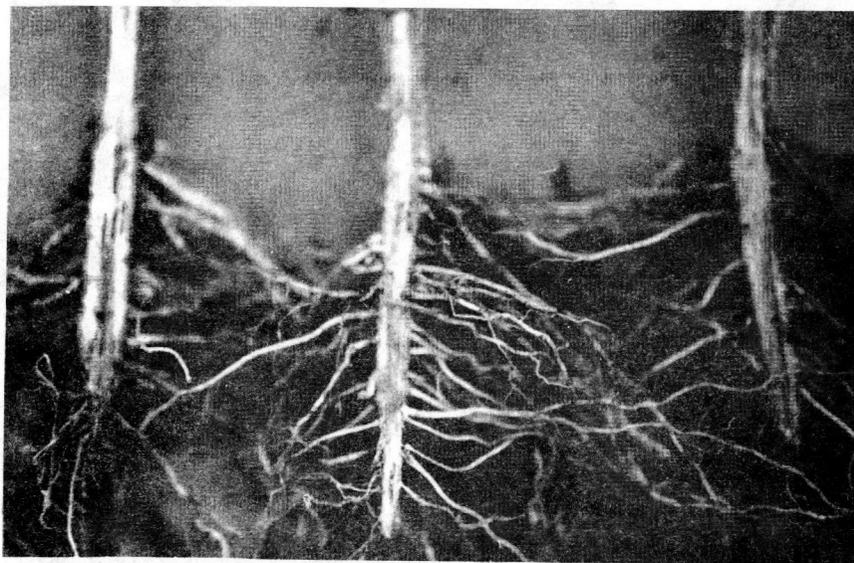


Figura 6. Síntomas de necrosis vascular en raíces de tomate, por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

Los datos se tomaron de acuerdo a la escala antes descrita de 0-5, y los valores obtenidos se transformaron a porcentaje de infección usando la fórmula de Townsend y Heuberger (Cuadro 1 del Apéndice). En base a los síntomas registrados se observó que: algunas plantas afectadas se marchitaron y se secaron rápidamente, pero la mayoría se marchitó lentamente, aunque eventualmente murieron. En plantas muy afectadas se observó una pudrición cortical de color café chocolate al nivel del suelo, y al hacer un corte longitudinal de raíz y tallo se descubrió una necrosis vascular de color café rojizo, que no se extendió más de 20 cm arriba del tallo; en muchos casos se observó una coloración púrpura en la punta de las raíces afectadas, así como también una proliferación de raíces adventicias arriba de la lesión de la base del tallo, lo cual permitió que muchas plantas se recuperaran pero finalmente sucumbieron al momento de la fructificación.

4.2.6.2. Análisis de resultados

Observando el resultado de las evaluaciones, se encontró que el grado de daño fue variable, es decir, hubo variedades que se comportaron como resistentes, algunas susceptibles y otras intermedias.

El análisis de varianza realizado para la evaluación de los resultados mostró que, con un nivel de significancia al 1% (Cuadro 2 del Apéndice), existen diferencias significativas entre los 18 tratamientos, es decir, se marcaron diferencias en el comportamiento de los materiales con relación al grado de infección causado por la inoculación del hongo, manifestándose alta significancia, lo cual indica que las variedades evaluadas tuvieron porcentaje de daño muy variable.

En base a la prueba de rango múltiple de Tukey, con un nivel de significancia al 5% (Cuadro 2) se concluye que el mejor tratamiento fue el cultivar Lama, aunque estadísticamente no hay diferencias significativas entre éste y los cultivares Exp-89 y PSR 76780, se deduce que el mejor cultivar es el Lama por no presentar ningún daño visible del patógeno y le siguen en tolerancia los dos ya mencionados. Por otro lado, mediante la prueba de rango múltiple de Dunnet, haciendo comparaciones de medidas de tratamientos contra el testigo, y con un nivel de significancia al 5% (Infante y Zárate, 1984) se puede concluir que solamente existen diferencias significativas entre el testigo inoculado, el cultivar Lama y el testigo sano.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo se determinó que de todos los cultivares utilizados, el cultivar Lama es la mejor fuente de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, causante de la pudrición de la corona y raíz del tomate, confirmándose con esto lo mencionado por Thibodeau y Simard (1978). Por otro lado, los cultivares Exp-89 y PSR 76780 mostraron tolerancia a la enfermedad, los cuales pueden ser utilizados mediante la adición de otras medidas de control tales como: prácticas culturales, uso de fungicidas y solarización del suelo.

Es necesario hacer notar que el cultivar Lama, el cual resultó ser resistente a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, debe ser estudiado con más detalle, así como tratar de incorporar la resistencia a otros cultivares o líneas de tomate, ya que dentro de los métodos de control, uno de los más recomendados es el uso de variedades resistentes, pero hasta la fecha se cuenta con un número reducido de cultivares reportados con resistencia a este patógeno.

Cuadro 2. Resistencia de las variedades y líneas de tomate evaluadas en condiciones de invernadero, a una cepa de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

No.	Tratamiento	Daños
18	Bonny Best (sin inocular)	0.00 a*
4	Larma	0.00 a
9	Exp-89	42.50 a b
15	PSR 76780	42.50 a b
16	PSR 74782	51.67 b c
7	Exp-88	52.50 b c
11	Cavalier	53.33 b c
2	Ace-55	55.00 b c
8	Vicki	58.33 b c
10	Lori	60.00 b c
12	Red Cherry Large	61.67 b c
14	PSR 72882	63.33 b c
3	Ace-Hy	64.17 b c
13	PSR-26381	68.33 b c
5	Ruby	80.83 b c
6	Exp-86	81.67 b c
1	Cal Ace	84.17 b c
17	Bonny Best (inoculado)	90.33 c

* Tratamiento con la misma letra son estadísticamente iguales con un nivel de significancia al 5%, según la prueba de rango múltiple de Tukey.

5. CONCLUSIONES

En base a los objetivos planteados y a los resultados obtenidos del presente trabajo, se concluye lo siguiente:

- 1.- Las cepas que infectaron a los cultivares diferenciales de tomate, también provocaron la formación de una lesión café oscura, en el cuello y porción superior del hipocotilo en plántulas de tomate Bonny Best después de cinco días de inoculadas las semillas en cajas de Petri.
- 2.- Los métodos de inoculación empleados en semillas y plántulas de tomate fueron efectivos, ya que reprodujeron los síntomas típicos de la enfermedad.
- 3.- De acuerdo al hospedante, sintomatología, morfología de conidios y clamidosporas, y la reacción de cultivares diferenciales de tomate inoculados, el agente causal de la pudrición de la corona y raíz del tomate en Sinaloa y San Luis Potosí es *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.
- 4.- El cultivar de tomate Larma, mostró la más alta resistencia a la enfermedad, seguido por los cultivares Exp-89 y PSR 76780, los cuales mostraron tolerancia.

6. BIBLIOGRAFIA

- Anónimo. 1986. Unión Nacional de Organismos de Productores de Hortalizas y Frutas (UNPH). Culiacán, Sinaloa, México.
- Anónimo. 1988. Unión Nacional de Organismos de Productores de Hortalizas y Frutas (UNPH). Culiacán, Sinaloa, México.
- Berry, S.Z. and G.L. Oakes. 1987. Ohio 11 and 12, Verticillium-wilt-race-2-resistant greenhouse tomato breeding lines. Hort. Science 22:167.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew. 237 pp.
- Dirks, V.A. and W.R. Jarvis. 1975. A basal stem and root of greenhouse tomatoes caused by *Fusarium oxysporum* and its spread in crops. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 2:36 (Abstract).
- Farley, J. 1975. Identified: new tomato root and crown rot disease. Am. Veg. Grower 23(10):30.
- Farley, J., G. Oakes and C. Jaberg. 1975. A new greenhouse tomato root-rot disease caused by *Fusarium oxysporum*: a preliminary report. Research Summary 82, Ohio Agric. Res. Devel. Center. Wooster, Ohio. pp. 27-29.
- Gordon, W.L. 1965. Pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Can. J. Bot. 43:1309-1318.
- González Garza, R. 1974. Estudio sobre la marchitez del tomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el Valle de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Infante, S. y Zárate, G. 1984. Métodos estadísticos. Un enfoque interdisciplinario, Ed. Trillas, 1a. Edición, México.
- Jarvis, W.R. 1977. Biological control of *Fusarium*. Can. Agric. 22: 28-30.
- Jarvis, W.R. and R.A. Shoemaker. 1978. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. Phytopathology 68:1679-1680.
- Jarvis, W.R. and H.J. Thorpe. 1976. Susceptibility of *Lycopersicon* species and hybrids to the foot and root rot pathogen *Fusarium oxysporum*. Plant Dis. Rep. 60:1027-1031.

- Jarvis, W.R., H.J. Thorpe and B.H. MacNeill. 1975. A foot and root rot disease of tomato caused by *Fusarium oxysporum*. Can. Pl. Dis. Surv. 55:25-26.
- _____, H.J. Thorpe and R.B. Meloche. 1983. Survey of greenhouse management practices in Essex County, Ontario, in relation to *Fusarium* foot and root rot of tomato. Plant Disease 67:38-40.
- Leary, J.V. and R.M. Endo. 1971. A *Fusarium* induced root rot of staked tomatoes. Phytopathology 61:900 (Abstract).
- Ogura, H. and M. Ban. 1971. *Fusarium oxysporum* causes tomato wilt disease. I. Factors affecting the appearance of tomato wilt disease accompanied by root rot. Res. Rep. Kochi University, Agric. Sci. 20:61-69.
- Ramírez Villapudúa, J. 1988. Comunicación personal. Depto. de Parasitología Agrícola. E.S.A., U.A.S., Culiacán, Sin. México.
- _____, Endo, R.M., Bosland, P. and Williams, P.H. 1985. A new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* that attacks cabbage with type a resistance. Plant Diseases 69:612-613.
- Rowe, R.C. 1978. Comparative pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and winter-grown field tomatoes. Phytopathol. News 12:222 (Abstract).
- _____. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-grown field tomatoes in North America and Japan. Phytopathology 70:1143-1148.
- _____ and D.L. Coplin. 1976. Dispersal of *Fusarium oxysporum* in tomato greenhouses. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 2:88 (Abstract).
- _____ and J.D. Farley. 1977. New greenhouse tomato disease can be controlled. Ohio Rep. 62:41-43.
- _____. 1981. Strategies for controlling *Fusarium* crown and root rot in greenhouse tomatoes. Plant Dis. 65:107-112.
- _____ and D.L. Coplin. 1977. Airborne spore dispersal and recolonization of steamed soil by *Fusarium oxysporum* in tomato greenhouses. Phytopathology 67:1513-1517.
- Sánchez Castro, M.A. 1980. Enfermedades del tomate en: el cultivo del tomate para consumo fresco en el Valle de Culiacán. Ed. Por León Gallegos, H.M. y M. Arozamena D. INIA. SARH., Culiacán, Sin. Méx.
- Sánchez, L.E., R.M. Endo and J.V. Leary. 1975. A rapid technique for identifying the clones of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing crown-and root-rot of tomato. Phytopathology 65:726-727.

- Sato, R. and T. Araki. 1974. On the tomato root-rot disease occurring under vinyl-house conditions in southern Hokkaido. Annu. Rep. Soc. Plant Protect. Nort. Japan. 25:5-13.
- Scott, J.W. and J.D. Farley. 1983. 'Ohio CR-6' tomato. Hort. Science 18:114-115.
- Sonoda, R.M. 1976. The occurrence of *Fusarium* root rot of tomatoes in South Florida. Plant Dis. Rep. 60:271-274.
- _____. 1979. Observations on *Fusarium* crown rot of tomato in winter of 1978-79. Res. Rep. Fort Pierce, Fla, Agric. Res. Center, RL 1979-10, 6 pp.
- _____, J. Marois and J.J. Augustine. 1978. *Fusarium* crown rot of tomato in Florida. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 91:284-286.
- Thibodeau, P.O. 1980. Evaluation du potentiel de resistance du cultivar de tomate Quanto á la pourriture fusarienne des racines et du collet. Res. Rep. Can. Hort. Council, Ottawa. pp. 164-165.
- _____. and M. Simard. 1978. Evaluation de la résistance de cultivars de tomate de serre á la fusariose. Can. Hort. Council Res. Rep. Ottawa. p. 172.
- Toussoun, T.A. and P.E. Nelson. 1976. A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species according to the taxonomic system of Snyder and Hanse. 2nd. Ed. The Pennsylvania State University Press. University Park, Pennsylvania. 43 pp.
- Townsend, G.R. and Heuberger, J.W. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Plant Disease Reporter 27: (17) 340-343.
- Vakalounakis, D.J. 1988. The genetic analysis of resistance to *Fusarium* crown and root rot of tomato. Plant Pathology 37:71-73.
- Walker, J.C. 1971. *Fusarium* wilt of tomato. Monograph 6. Am. Phytopathol. Soc. 56 pp.
- Yamakawa, K. and N. Nagata. 1975. Three tomato lines obtained by the use of chronic gamma radiation with combined resistance to TMV and *Fusarium* race J-3. Technical News. Inst. Rad. Breed. 16.2 pp.
- Yamamoto, I., H. Kamada, 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 Protect. Soc. 16:17-29.

7. APENDICE

Cuadro 1. Porcentaje de infección de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en las diferentes variedades y líneas de tomate.

Tratamientos	Repeticiones			\bar{X} %
	I	II	III	
1. Cal Ace	92.5	67.5	92.5	84.17
2. Ace-55	67.5	20.0	77.5	55.00
3. Ace-Hy	85.0	47.5	60.0	64.17
4. Larma	0.0	0.0	0.0	0.00
5. Ruby	100.0	42.5	100.0	80.83
6. Exp-86	100.0	52.5	92.5	81.67
7. Exp-88	47.5	17.5	92.5	52.50
8. Vicki	65.0	17.5	92.5	58.33
9. Exp-89	62.5	20.0	45.0	42.50
10. Lori	57.5	22.5	100.0	60.00
11. Cavalier	55.0	40.0	65.0	53.33
12. Red Cherry Large	75.0	37.5	72.5	61.67
13. PSR-26381	82.5	47.5	75.0	68.33
14. PSR 72882	67.5	37.5	85.0	63.33
15. PSR 76780	35.0	25.0	67.5	42.50
16. PSR 74782	47.5	22.5	85.0	51.67
17. Bonny Best (inoculado)	92.5	80.0	100.0	90.83
18. Bonny Best (s/inocular)	0.0	0.0	0.0	0.00

Cuadro 2. Análisis de varianza de los porcentajes de infección obtenidos en la evaluación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en variedades y líneas de tomate.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft. 0.01
Tratamientos	17	30850.57	1814.73	8.39	2.61 **
Bloques	2	15039.81	7519.90		
Error	34	7356.01	216.35		
Total	53	53246.41			

MEDIOS DE CULTIVO

1. Papa-Dextrosa-Agar (PDA)

1.1. Ingredientes

Papas peladas y partidas -----	200 g
Dextrosa -----	10 g
Agar -----	18 g
Agua destilada -----	1000 ml

1.2. Preparación:

Se cuecen las papas peladas y partidas en 500 ml de agua destilada durante 10 minutos en una olla express a 15 lb de presión. Simultáneamente se disuelve el agar en 500 ml de agua destilada. Una vez cocidas las papas se cuele el líquido a través de una manta de cielo y se agrega el agar; enseguida se añade la dextrosa, se afora a 1000 ml con agua destilada y se agita para obtener una mezcla homogénea, se esteriliza a 15 lb de presión por 20 minutos. Al momento de ser vaciado el medio de cultivo a cajas de Petri, se le agregan 10 gotas de ácido láctico por lt, o bien 100 ppm de estreptomycin.

2. Papa-Dextrosa (PD)

2.1. Ingredientes

Papa pelada y partida -----	200 g
Dextrosa -----	10 g
Agua destilada -----	1000 ml

2.2. Preparación:

La preparación es de la misma manera que para el PDA, con la diferencia que este no contiene Agar. Una vez que se tiene homogeneizada la mezcla, esta se divide en matraces, dependiendo de las características del trabajo y se esteriliza a 15 lb de presión por 20 min.

TESIS SAGITARIO
ESPECIALISTA EN TESIS URGENTES

Miguel Angel Serrano E.
ABRIMOS LOS DOMINGOS

Av. Cuauhtémoc No. 88
Col. Maravillas Neza

Tel. 7-97-56-89

Cabeza
de Juárez

