

Reacción de materiales genéticos de *Solanum* spp. a las razas 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y posible control genético de la resistencia a la raza 3

Reaction of Genetic Materials of *Solanum* spp. to Races 2 and 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and Possible Genetic Control of Resistance to Race 3

José Antonio Negrete-Ledesma^{*1}, Alfonso López-Benítez¹, Fernando Borrego-Escalante¹, José Espinoza-Velázquez¹

¹Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315, Saltillo, Coah., México. E-mail: j_a_negrete@hotmail.com (*Autor responsable).

RESUMEN

En todas las zonas productoras de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) constituye una limitante de gran importancia en la producción. La mejor alternativa de control para esta enfermedad es el uso de cultivares resistentes, por lo que los fitomejoradores requieren identificar fuentes de resistencia para incorporarlas a los nuevos cultivares mejorados. El objetivo de este trabajo consiste en evaluar un grupo de 25 materiales genéticos de *Solanum* spp., por su reacción a la inoculación de las razas 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* provenientes de variedades cultivadas en predios tomateros de Villa de Arista, S.L.P., México. La identificación de las razas se hizo mediante pruebas de patogenicidad en las variedades diferenciales I3R3, Walter, Manapal y Bony Best. De los 25 materiales evaluados, seis mostraron resistencia a la raza 2, cuatro a la raza 3, uno resistente a las dos razas y los 14 restantes resultaron susceptibles a las dos razas. Para el estudio de herencia a la resistencia de la raza 3 de Fol, se utilizaron como progenitores resistentes los materiales I3R3 y *Solanum pimpinellifolium* LA722 (86L9486), y como progenitores susceptibles a los materiales D6, D10, IR14, Manapal y Walter. Las generaciones F₂ mostraron proporciones mendelianas de herencia simple, con una proporción fenotípica de tres plantas resistentes y una susceptible. Las retrocruzas de las generaciones F₁ a progenitores susceptibles, mostraron en todos los casos una segregación en proporción de 1:1. De acuerdo con las pruebas de X², en ambos casos la resistencia está controlada por un gen dominante.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, herencia simple, inoculación, prueba de X².

ABSTRACT

In all producing areas of tomato in Mexico, an important limiting factor for production is the vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol). The best alternative to control this disease is the use of resistant cultivars. Therefore, plant breeders need to identify resistance sources to incorporate them in new cultivars. The objective of this study was to evaluate 25 genetic materials for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 2 and 3 from varieties grown in tomato fields in Villa de Arista, S.L.P., Mexico. Races identification was made by pathogenicity tests on differential varieties I3R3, Walter, Manapal y Bony Best for Fol races. Six of the 25 genetic materials evaluated showed resistance to race 2, five to race 3, one to both races and 14, showed susceptibility to both races 2 and 3. To study the inheritance of resistance to race 3 there were used as resistance progenitor I3R3 y *Solanum pimpinellifolium* LA722 (86L9486) and as susceptible progenitors D6, D10, IR14, Manapal y Walter. F₂ generations showed phenotypic proportions of simple inheritance having a proportion of 3 healthy plants to 1 diseased plant. Retrocrosses of F₁ from resistant progenitors by susceptible progenitors to susceptible ones, showed in all cases a phenotypic segregating proportion of resistant plants to susceptible plants of 1 to 1 which according to tests in both cases resistance is controlled by a single dominant gene.

Key words: *Solanum lycopersicum*, single inheritance, inoculation, X² test.

Recibido: Noviembre 2013 • Aprobado: Febrero 2014

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las especies hortícolas más importantes en México por la superficie sembrada y la producción obtenida. Los principales países productores son China, India, Estados Unidos, Turquía y Egipto, los cuales producen poco más de 50% de la producción mundial.

México se ubica en el lugar número 11 en el mundo, por el volumen de su producción (FAO, 2012). Este cultivo, como muchos otros, no escapa a los ataques de diversas enfermedades. Entre las más importantes están las del tipo marchitamiento, presentes en todas las zonas productoras de tomate que pueden causar pérdidas hasta del 50% de la producción (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2004).

La marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* es la enfermedad fúngica más importante del tomate (Agris, 2004), el patógeno puede persistir mucho tiempo en el suelo (González, 2006). Hasta ahora se han identificado tres razas de este hongo, la raza 1, 2 y 3 (Ascencio *et al.*, 2008). El conocimiento del patógeno y de sus razas fisiológicas es un aspecto importante para el manejo de la enfermedad y para entender el comportamiento de las variedades cultivadas (Grattidge y Brien, 1982). La raza 2 fue identificada en 1945, en Ohio, Estados Unidos (Alexander y Tucker, 1945), y la resistencia a esta nueva raza se encontró en el nuevo locus (1-2) del híbrido natural *L. esculentum* por *L. pimpinellifolium* PI-126915 (Alexander y Hoover, 1955). La raza 3, capaz de atacar los cultivares con los locus 1 y (1-2) fue identificada en Queensland, Australia, en 1978 (Grattidge y Brien, 1982), y en México (Valenzuela-Ureta *et al.*, 1996).

En México, como en otros países, existe una tendencia cada vez más exigente en el mercado en cuanto a rendimiento, calidad del fruto, sanidad de la planta y resistencia a enfermedades. Las empresas buscan fuentes de resistencia en especies silvestres y genotipos de interés para realizar mejoramiento genético, y obtener nuevas variedades o híbridos resistentes a la enfermedad y con buenos rendimientos.

La identificación de fuentes de resistencia a esta enfermedad es muy importante, por lo que este trabajo se realizó con la finalidad de identificar genotipos resistentes a las razas 2 y 3 de Fol aisladas de cepas colectadas en predios tomateros de Villa de Arista, San Luis Potosí, México, y estudiar la genética de la resistencia a la raza 3.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 25 materiales genéticos de *Solanum* spp. para resistencia a las razas 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Las cepas fueron recolectadas en predios tomateros de Villa de Arista, en S.L.P., México; se seleccionaron plantas con síntomas de marchitez, para esto, se cortaron trozos de tallos enfermos de 10 cm, se trasladaron al Laboratorio de Patosistemas del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Posteriormente, se realizaron los aislamientos del hongo, cortando trozos de tallo de 5 mm, los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto y luego se lavaron con agua destilada estéril. Los aislamientos del hongo se sembraron en cajas petri con medio de cultivo papa, dextrosa agar (PDA) y se incubaron a 25 ± 2 °C durante 7 d. Los aislamientos obtenidos se purificaron cortando puntas de micelio y sembrándolas en nuevas placas de Agar. Considerando el hospedante de origen, así como la observación de sus características morfológicas, tales como el color de la cepa del hongo en el medio de cultivo, tipo de micelio y presencia de microconidios, macroconidios y clamidosporas, se permitió identificar al agente causal como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Summerell *et al.*, 2003).

La identificación de las razas en los aislamientos de Fol, se realizó mediante pruebas patogénicas en las variedades diferenciales I3R3, Walter, Manapal y Bony Best (Ascencio *et al.*, 2008), identificando las razas 2 y 3 de Fol, que se utilizaron para evaluar los 25 materiales genéticos de *Solanum* spp., consistentes en 10 cultivares mejorados, 9 cultivares criollos y seis pertenecientes a cuatro diferentes especies silvestres de *Solanum*.

Los 25 materiales genéticos se sembraron en invernadero en charolas de poliestireno de 200 celdas conteniendo peat moss (Premier Pro-Mix PGX Professional), cuando las plantas tenían de 25 a 30 días después de la siembra, se inocularon con las razas 2 y 3 por separado, por medio del método de inmersión de puntas de raíz (Williams, 1981) durante 30 s en una suspensión de 1×10^6 conidios mL⁻¹. La evaluación de la respuesta a la inoculación se hizo mediante la escala de severidad del 1 al 5, según Marlatt *et al.* (1996), siendo 1 = planta sana y 5 = planta muerta.

Para estudiar la herencia de la resistencia a la raza 3 se cruzaron en invernadero materiales susceptibles con susceptibles; resistentes con resistentes y resistentes con susceptibles. Los materiales identificados

Cuadro 1. Reacción de 25 materiales genéticos a las razas 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* procedente de predios tomateros en la región de Villa de Arista, S.L.P, México, 2012.

Genotipo	Origen	Razas		Reacción
		2	3	
I3R3	México	R	R	R. razas 2 y 3
Walter	USA	R	S	R. raza 2, S. raza 3
Manapal	USA	S	S	S. razas 2 y 3
Bony Best	USA	S	S	S. razas 2 y 3
D1	México	S	S	S. razas 2 y 3
D6	México	S	S	S. razas 2 y 3
D10	México	S	S	S. razas 2 y 3
IR13	México	S	S	S. razas 2 y 3
IR14	México	S	S	S. razas 2 y 3
<i>Solanum peruvianum</i> LA462 /79L4445-444]	Chile	S	R	S. raza 2, R. raza 3
<i>Solanum pimpinellifolium</i> LA722 [86L9486]	Perú	S	R	S. raza 2, R. raza 3
<i>Solanum pimpinellifolium</i> LA2184 [87L0413]	Perú	S	R	S. raza 2, R. raza 3
<i>Solanum esculentum</i> LA473 [90L3543]	Perú	S	S	S. razas 2 y 3
<i>Solanum esculentum</i> LA477 [86L9441]	Perú	R	S	R. raza 2, S. raza 3
<i>Solanum esculentum</i> LA404 [90L335]	Perú	R	S	R. raza 2, S. raza 3
<i>Solanum cheesmanii</i> LA317 [82L2446]	Ecuador	R	S	R. raza 2, S. raza 3
<i>Solanum chilense</i> LA1958 [89L2835]	Perú	R	S	R. raza 2, S. raza 3
<i>Solanum chilense</i> LA1959 [89L2836]	Perú	R	S	R. raza 2, S. raza 3
<i>Solanum esculentum</i> LA468 [83L4649]	Chile	S	S	S. razas 2 y 3
<i>Solanum esculentum</i> LA134c [90I3516]	Perú	S	S	S. razas 2 y 3
<i>Solanum esculentum</i> LA409 [90L3536]	Ecuador	S	S	S. razas 2 y 3
<i>S. esculentum</i> cv Motelle LA2823 [87L0382]	USA	S	R	S. raza 2, R. raza 3
<i>S. esculentum</i> LA.472 [90L3543]	Perú	S	S	S. razas 2 y 3
<i>S. esculentum</i> LA.1162 [89L2530]	Bolivia	S	S	S. razas 2 y 3
<i>S. esculentum</i> LA.358 [90L3531]	Colombia	S	S	S. razas 2 y 3

R: resistente; S: susceptible.

como resistentes, se cruzaron con materiales susceptibles, utilizando los materiales susceptibles como hembras y los resistentes como progenitores masculinos. Una parte de los botones florales de las plantas híbridas F₁ se cubrieron con pequeños sobres de papel para forzar la autofecundación y con

ello evitar la contaminación de polen extraño y llevarlos hasta la generación F₂; otra parte se utilizó para retrocruzar al progenitor susceptible. Posteriormente, las plántulas obtenidas de las semillas F₂ como de las retrocruzas, se inocularon con la suspensión de 1×10^6 conidios mL⁻¹. La evaluación de la respuesta

Cuadro 2. Reacción de los progenitores, segregación de la generación F₂ y retrocruzas a la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Progenitores	Número de plantas				χ ²	P
	R	S	PE			
I3R3	10	0	1:0			
<i>Solanum pimpinellifolium</i> LA722 (86L9486)	10	0	1:0			
D10	0	0	0:1			
D6	0	10	0:1			
IR14	0	10	0:1			
Manapal	0	10	0:1			
Walter	0	10	0:1			
Generación F₁ (resistente x resistente)						
I3R3 x <i>Solanum pimpinellifolium</i> LA722 (86L9486)	12	0	1:0			
Generación F₁ (susceptible x susceptible)						
D6 x D10	0	10	0:1			
IR14 x Manapal	0	12	0:1			
Walter x Manapal	0	10	0:1			
Walter x D10	0	10	0:1			
Walter x D6						
Generación F₂						
	O	E	O	E		
IR3R3 x D10	80	88	28	20	3:1	3.44
I3R3 x D6	79	81	29	27	3:1	0.11
I3R3 x IR14	70	78	34	26	3:1	2.88
I3R3 x Manapal	103	105	37	35	3:1	0.09
I3R3 x Walter	80	78	24	26	3:1	1.40
<i>Solanum pimpinellifolium</i> LA722 (86L9486) x Manapal	70	66	24	28	3:1	0.64
<i>Solanum pimpinellifolium</i> LA722 (86L9486) x D6	67	72	22	17	3:1	0.71
<i>Solanum pimpinellifolium</i> LA722 (86L9486) x IR14	76	80	21	17	3:1	0.83
F₁ x progenitor susceptible						
(I3R3 x Manapal) Manapal	50	44	38	44	1:1	1.37
(I3R3 x D10) D10	56	47	38	47	1:1	1.37
(I3R3 x IR14) IR14	38	36	34	36	1:1	0.77
(I3R3 x Walter) Walter	46	41.5	37	41.5	1:1	0.77
(<i>Solanum pimpinellifolium</i> LA722 (86L9486) x Manapal) x Manapal	23	21.5	30	21.5	1:1	0.90

R: resistente; S: susceptible; O: observados; E: esperados; PE: proporción esperada; χ²: valor calculado de Ji cuadrada; P: probabilidad de un valor mayor de χ². Nivel de significancia = 0.05.

de estos materiales a la inoculación se evaluó de la misma manera que para la identificación de fuentes de resistencia.

Para el análisis de las proporciones fenotípicas de las generaciones F₁ y F₂, se realizaron pruebas de ajuste, considerando diferentes relaciones teóricas de segregación de genes para resistencia a la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, aceptando la relación de segregación hipotética con el mejor ajuste entre las proporciones esperadas y las observadas (Gardner, 1988) con un nivel de probabilidad (p≤0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 25 materiales evaluados por resistencia a las razas 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, seis mostraron resistencia a la raza 2 y cuatro a la raza 3 y sólo uno (I3R3) observó resistencia a las dos razas. *Solanum esculentum* LA477 (86L9441), *Solanum esculentum* LA404 (90L335), *Solanum cheesmanii* LA317 (82L2446), *Solanum L. chilense* LA1958 (89L2835), *Solanum L. chilense* LA1959 (89L2836) y Walter mostraron resistencia a la raza 2 y susceptibilidad a la raza 3; *Solanum peruvianum* LA462 (79L4445-4449), *Solanum pimpinellifolium* LA722 (86L9486), *Solanum pimpinellifolium* LA2184 (87L0413), *S. esculentum* cv. Motelle LA 2823 (87L0382) mostraron resistencia a la raza 3 y susceptibilidad a la raza 2. Los cultivares D1, D6, D10, IR13, IR14, Bony Best, Manapal, *Solanum esculentum* LA473 (90L3543), *Solanum esculentum* LA468 (83L4649), *Solanum esculentum* LA134C (90L3516), *Solanum esculentum* LA409 (90L3536), *S. esculentum* LA.473 (90L3543), *S. esculentum* LA.1162 (89L2530) y *S. esculentum* LA 358 (90L3531) resultaron susceptibles a las dos razas, estos resultados coinciden con lo descrito por Ascencio-Álvarez (2008).

Las generaciones F₂ derivadas de las cruzas de progenitores resistentes por susceptibles, mostraron una proporción de plantas resistentes a susceptibles de 3:1 en todos los casos, lo cual indica que la resistencia en estos materiales resistentes obedece a proporciones mendelianas de herencia simple, controlada por un gen en condición homocigota dominante. Ascencio-Álvarez (2008) también determinó que la herencia de la resistencia a la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en seis cultivares de tomate fue de tipo mendeliano, con una proporción fenotípica en las generaciones F₂ de plantas resistentes a susceptibles de 3:1.

Las retrocruzas de las generaciones F₁ entre progenitores resistentes por susceptibles a progenitores susceptibles mostraron en todos los casos una segregación en proporción de 1:1, lo cual confirma la hipótesis de que la resistencia en los progenitores resistentes está controlada por un gen en condición homocigota y dominante.

McGrath y Gillespie (1987) a partir del cultivar *Lycopersicon pennellii*, PI414773, resistente a la raza 2 y 3 de Fol, realizaron cruzamientos con el cultivar Rouge de Marmande, susceptible a las razas 2 y 3, y el cultivar Contender resistente a la raza 2. La segregación de la F₂ de los cruces de Rouge de Marmande x PI414773 y PI414773 x Contender reveló que la resistencia a la raza 2 en PI414773 fue controlada por dos genes dominantes independientes, uno de los cuales es alélica con el gen I-2. Las segregaciones en F₂ y retrocruzas derivadas de Contender x PI414773 indicaron que un solo gen dominante confiere resistencia a la raza 3.

CONCLUSIONES

De los 25 genotipos evaluados por su respuesta a la inoculación de razas 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, sólo uno presentó resistencia a las dos razas, seis resultaron resistentes a la raza 2, cuatro a la raza 3 y 14 genotipos resultaron susceptibles a las dos razas. El análisis genético de la reacción de las generaciones F₂ de las cruzas de progenitores resistentes por susceptibles y de las retrocruzas a la inoculación de la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* indicó la validez de la hipótesis de un gen dominante segregando en proporción fenotípica de plantas resistentes a plantas susceptibles de 3:1.

LITERATURA CITADA

- AGRIOS, G.N. 2004. Plant Pathology (5th ed.). Academic Press. San Diego, California, USA. 948 p.
- ALEXANDER, L. and C.Tucker. 1945. Physiological specialization in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Agric. Res. (70: 303-313).
- ALEXANDER, L.J. and M. Hoover. 1955. Disease resistance in wild species of tomato. Agricultural Experimental Station Research Bulletin, 76 p.
- APODACA-SÁNCHEZ, M.A., M.E. Zavaleta, E.R. García, K.S. Osada y U.J.G. Valenzuela. 2004. Hospedantes asintomáticos de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f.

- sp. *radicis-lycopersici* W.R. Jarvis y Shoemaker en Sinaloa, México. Rev. Mex. Fitopatol. 22(1): 7-13.
- ASCENCIO-ÁLVAREZ, A., A. López-Benítez, F. Borrego-Escalante, S. Rodríguez-Herrera, A. Flores-Olivas, F. Jiménez-Díaz y A.J. Gámez-Vázquez. 2008. Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Rev. Mex. Fitopatol. 26(2): 114-120.
- ASCENCIO-ÁLVAREZ, A., A. López-Benítez, F. Borrego-Escalante, S. Rodríguez-Herrera, A. Flores-Olivas, F. Jiménez-Díaz y A.J. Gámez-Vázquez. 2008. Marchitez vascular del tomate: II. Herencia de la resistencia a la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en tres especies del género *Lycopersicon*. Rev. Mex. Fitopatol 26(2): 180-183.
- FAO. 2012. FAOSTAT: Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y Alimentación (agosto de 2013). <http://faostat.fao.org>
- GARDNER, E. 1988. Principios de Genética (Limusa, Ed.) (4th ed.,). México, D.F. 716 p.
- GONZÁLEZ, P. 2006. Enfermedades del tomate. Marchitamiento vascular del tomate. Facultad de Agronomía, Unidad de Fitopatología. Montevideo, Uruguay. http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html
- GRATTIDGE, R. and R. Brien. 1982. Occurrence of a third race of *Fusarium* wilt tomatoes in Queensland. Plant Disease 66(2): 165-166.
- MARLATT, M., J. Correll and P. Kaufman. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. Plant Disease 80(12): 1336-1342.
- MCGRATH, D.J., D. Gillespie and L. Vawdrey. 1987. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 2 and 3 in *Lycopersicon pennellii*. Aust. J. Agric. Res. 38(4): 729-733.
- SUMMERELL, B.A., R. Botanic, G. Sydney, N.S. Wales and J.F. Leslie. 2003. A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. Plant Disease 87(2): 117-128.
- VALENZUELA-Ureta, J.G., D.A. Lawn, R.F. Heisey and V. Zamudio-Guzman. 1996. First report of *Fusarium* wilt race 3, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* of tomato in Mexico. Plant Disease 80: 105.
- WILLIAM, P.H. 1981. *Fusarium* Yellows, pp. 124-129. In Scening Crucifers for Multiple Disease Resistance. P. H. Williams, Ed. University of Wisconsin.