

Respuesta de la Fresa a Dos Métodos de Inoculación de
Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae* e Identificación de
Fuentes de Resistencia

Pedro Antonio Bávalos González

T e s i s

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Grado de:

Maestro en Ciencias
en Fitomejoramiento



Universidad Autónoma Agraria
"Antonio Narro"
Programa de Graduados
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Enero de 1990

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

Comité Particular

Asesor principal:


Dr. Alfonso López Benítez

Asesor:


M.C. Gustavo Olivares Salazar

Asesor:

Dr. Jesús Castro Franco

Dr. Eleuterio López Pérez
Subdirector de Asuntos de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.

Enero de 1990

.. 18041

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme otorgado la beca para los estudios de maestría.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias por su apoyo económico.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme brindado la oportunidad de realizar estudios de postgrado.

A mi Comité Particular de Tesis, integrado por el C. Dr. Alfonso López Benítez, Dr. Jesús Castro F. y M.C. Gustavo Olivares Salazar, por sus valiosas contribuciones para el desarrollo de la investigación.

Al Dr. R.S. Bringhurst de la Universidad de California y al Sr. Dan Sakuma del Nor-Cal por su generosa colaboración para la recolección de los clones de *F. chiloensis* en la Costa de California, USA.

Al M.C. Regino Morones R. por su asesoría en el análisis estadístico de la investigación.

Al Instituto Mexicano del Maíz Dr. Mario Castro Gil por haberme permitido usar el Laboratorio de Cultivo de Tejidos.

Al Lic. Gilberto Garza por todas las facilidades otorgadas para la propagación de los clones.

A la Asociación de Productores de Fresas y Hortalizas de Irapuato, Gto. por haberme financiado los gastos para la obtención de los clones de *F. chiloensis*.

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre: *

Ausencio Dávalos Ortiz (QEPD)

A mi madre y hermanos.

A mi esposa:

María Isabel

A mis hijos:

Rocío Vanesa, Pedro Antonio y
Fernando Alberto.

COMPENDIO

Respuesta de la Fresa a Dos Métodos de Inoculación de
Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae* e Identificación de
Fuentes de Resistencia

POR

PEDRO ANTONIO DAVALOS GONZALEZ

MAESTRIA
FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. DICIEMBRE DE 1989

Dr. Alfonso López Benítez -Asesor-

Palabras clave: *Fragaria x ananassa*, *Fragaria*
chiloensis, métodos de inoculación,
resistencia genética.

El desarrollo de la presente investigación, se efectuó con 97 genotipos de fresa, evaluados bajo condiciones de invernadero, con la finalidad de lograr los siguientes objetivos:

- a) Estimar la dosis óptima de inóculo de *Fusarium* para inducir un nivel alto de enfermedad,
- b) Determinar si ese patógeno produce sustancias tóxicas a la planta.
- c) Identificar fuentes de resistencia en clones de fresa.

El índice de daño ocasionado por *Fusarium oxysporum* a la fresa, aumentó progresivamente, en la medida que se incrementó la dosis del inóculo. Sin embargo se encontró que los mayores incrementos proporcionales de la enfermedad se tuvieron con las dosis más bajas y menores incrementos con las dosis más altas. Con distintos tamaños de maceta, pero con los mismos porcentajes por volumen de suelo a inóculo, se tuvieron semejantes índices de enfermedad. Los porcentajes óptimos de suelo a inóculo de *Fusarium* para causar la enfermedad en los cultivares fueron 92 a 8 y 84 a 16. Para los clones de *Fragaria chiloensis* fueron 88 a 12.

La inoculación *in vitro* con el filtrado tóxico de *Fusarium oxysporum* provocó parcialmente los síntomas de la enfermedad en las plántulas de fresa.

Entre los 31 cultivares de fresa evaluados los siguientes fueron tolerantes a *Fusarium*: "SN", Sunrise,

Brighton, Guardian y Sparkle. Del grupo de 66 clones de *Fragaria chiloensis*, 14 genotipos fueron resistentes (21 por ciento).

En cinco de las ocho localidades de California, hubo plantas resistentes en porcentajes del 17.4 al 35.7. Las de mayores porcentajes por orden decreciente fueron: Scott's Creek, Franklin Dune's Road, Montara, Pigeon Point y Franklin Dune's.

ABSTRACT

Response of Strawberry Plants to Two Methods of
Inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* and
Identification Resistance Sources

BY

PEDRO ANTONIO DAVALOS GONZALEZ

MASTER OF SCIENCE
PLANT BREEDING

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MEXICO. JANUARY 1990

Dr. Alfonso López Benítez -Advisor-

Key words: *Fragaria x ananassa*, *Fragaria chiloensis*
inoculation methods and genetic resistance.

Ninety-seven strawberry genotypes were evaluated
for reaction to *Fusarium oxysporum* under greenhouse
conditions. The main objectives of this study were:

- a) To estimate the amount of inoculum required to induce a high level of disease.
- b) To determine whether or not this pathogen produces toxic substances to strawberry plants.
- c) Identification of resistant sources, in strawberry clones.

The index of damage caused by *Fusarium oxysporum* on strawberry plants increased proportionally to the increment of inoculum up to certain limit, however the greatest increments of the disease were reached with the smaller increments of inoculum, where as the smallest increments of the disease were obtained with larger amounts of inoculum.

In order to induce the disease, the best percentage of inoculum to soil were 92 to 8 and 84 to 16 for strawberry cultivars and 88 to 12 for *Fragaria chiloensis*.

Inoculation *in vitro* toxic filtrate of *Fusarium oxysporum* induced symptoms partially on strawberry plants.

Out of the 31 strawberry cultivars evaluated in pots only "SN", Sunrise, Brighton, Guardian and Sparkle were resistant to *Fusarium oxysporum* and 14 out of 66 clones of *Fragaria chiloensis* resistant .

There were found resistant plants in five out of eight locations explored in California. The percentage of resistant plants found varied from 17.4 to 35.7. The order of importance of the locations were Scotts Creek, Franklin Dunes Road, Montara, Pigeon Point and Franklin Dunes.

INDICE DE CONTENIDO

Página

INDICE DE CUADROS	xv
INDICE DE FIGURAS	xiv
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	5
El Patógeno.....	5
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> . Identificación y Clasificación.....	5
Sintomatología Causada por <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i>	6
Ciclo de la Enfermedad.....	7
Epidemiología.....	9
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> Su Distribución en el Mundo.....	11
El Hospedero.....	12
Morfología y Fisiología del Sistema Radical de la Fresa.....	12
Morfología de la Corona de la Fresa.....	15
Fuentes de Resistencia a <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i>	15
Mecanismos de Resistencia a <i>Fusarium</i> sp.....	16

	Página
Métodos para Inducir la Enfermedad.....	18
Inoculación al Suelo.....	18
Inoculación con Suspensión de Esporas.....	20
Inoculación con Filtrado Tóxico.....	22
 MATERIALES Y METODOS	 25
Determinación de la Dosis de <i>Fusarium</i>	25
Cultivares y Clones	25
Aislamiento y Purificación de <i>Fusarium</i>	26
Producción del Inóculo.....	26
Inoculación.....	27
Descripción de Tratamientos y Procedimiento Experimental.....	28
Variables Consideradas.....	29
Análisis Estadísticos.....	31
 Inoculación con Filtrado Tóxico <i>in vitro</i>	 32
Cultivar.....	32
Producción del Filtrado Tóxico.....	33
Inoculación con el Filtrado Tóxico.....	34
Descripción de Tratamientos y Procedimiento Experimental.....	35
Variable Considerada	35
Análisis Estadístico.....	35
 Búsqueda de Fuentes de Resistencia a <i>Fusarium</i>	 36

	Página
Cultivares y Clones.....	36
Inoculación y Procedimiento Experimental.....	37
Variables Consideradas.....	37
Análisis Estadístico.....	38
RESULTADOS.....	39
Respuesta a la Dosis de <i>Fusarium</i>	39
Experimento 1.....	39
Experimento 2.....	49
Experimentos 3, 4 y 5.....	50
Respuesta al Filtrado Tóxico.....	53
Identificación de Fuentes de Resistencia.....	58
Búsqueda en Cultivares de Fresa.....	58
Búsqueda en Clones de <i>Fragaria chiloensis</i>	62
DISCUSION.....	70
CONCLUSIONES.....	77
RESUMEN.....	79
LITERATURA CITADA.....	81
APENDICE A.....	90
APENDICE B.....	102

INDICE DE CUADROS

Cuadro No.		Página
1.	Cuadrados medios de las variables correspondientes al experimento 1.....	40
2.	Cuadrados medios obtenidos a través de polinomios ortogonales para el porcentaje de raíces dañadas.....	43
3.	Análisis de la interacción cultivar por dosis de inóculo y estimación de los cuadrados medios para el porcentaje de daño en corona.....	43
4.	Cuadrados medios obtenidos a través de polinomios ortogonales para el porcentaje de daño en corona.....	46
5.	Cuadrados medios para el índice de enfermedad del experimento 2.....	49
6.	Cuadrados medios obtenidos a través de polinomios ortogonales para el	

	índice de enfermedad con tres tamaños de maceta.....	52
7.	Índice promedio de enfermedad en 66 clones de <i>Fragaria chiloensis</i> y en el cultivar Chandler inoculados con tres dosis de <i>Fusarium oxysporum</i> en invernadero.....	54
8.	Cuadrados medios para el índice de enfermedad causado por el filtrado tóxico de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i>	57
9.	Índice de enfermedad en plántulas de fresa del cultivar Tioga, inoculadas con el filtrado tóxico de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i>	57
10.	Cuadrados medios de los análisis de varianza del índice de enfermedad de los experimentos 7 y 8.....	59
11.	Índice promedio de enfermedad en 17 cultivares de fresa inoculados con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> (Experimento 7).....	60

12. Índice promedio de enfermedad, en 16 cultivares de fresa inoculados con *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* (Experimento 8)..... 61
13. Índice promedio de enfermedad en 66 clones de *F. chiloensis* en comparación con Chandler..... 63
14. Análisis de varianza y contrastes para el índice de enfermedad promedio, en 66 clones de fresa de *Fragaria chiloensis*..... 65
15. Cantidad de clones de *F. chiloensis* de las diferentes localidades que resultaron resistentes a *F. Oxysporum* f. sp. *fragariae*..... 69
- A.1 Origen de los cultivares evaluados para resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*..... 91
- A.2. Comparación a través de contrastes del índice de enfermedad de algunos clones o grupo de clones de *F. chiloensis* en relación al cultivar

Chandler.....

A.3. Algunas características agronómicas sobresalientes en los 66 clones de *Fragaria chiloensis* evaluados para resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*..... 99

INDICE DE FIGURAS

Figura No.		Página
1.	Respuesta del sistema radical de seis cultivares de fresa a la inoculación al suelo con diferentes dosis del sustrato conteniendo <i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. fragariae</i>	41
2.	Por ciento de raíces dañadas con varias dosis de <i>F. oxysporum</i> f. <i>sp. fragariae</i> . (Promedio de seis cultivares).....	44
3.	Relación entre la dosis de <i>Fusarium</i> y el grado de daño en la corona en seis cultivares de fresa (CV Brighton).....	47
4.	Relación entre la dosis de <i>Fusarium</i> y el grado de daño en la	

	corona en seis cultivares de fresa (CV. Tioga).....	47
5.	Relación entre la dosis de <i>Fusarium</i> y el grado de daño en la corona en seis cultivares de fresa (CV. Douglas).....	47
6.	Relación entre la dosis de <i>Fusarium</i> y el grado de daño en la corona en seis cultivares de fresa (CV. Pajaro).....	47
7.	Relación entre la dosis de <i>Fusarium</i> y el grado de daño en la corona en seis cultivares de fresa (CV. Chandler).....	47
8.	Relación entre la dosis de <i>Fusarium</i> y el grado de daño en la corona en seis cultivares de fresa (CV. Solana).....	47
9.	Relación entre la dosis de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> y la cantidad de	

	plantas muertas (promedio de seis cultivares).....	48
10.	Indice de enfermedad con diferentes dosis de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> en tres tamaños de maceta (900 cc).....	51
11.	Indice de enfermedad con diferentes dosis de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> en tres tamaños de maceta (600 cc).....	51
12.	Indice de enfermedad con diferentes dosis de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i> en tres tamaños de maceta (300 cc).....	51
13.	Variación temporal en el índice de enfermedad de tres clones de <i>Fragaria chiloensis</i> resistentes a <i>F. oxysporum</i> y el cultivar susceptible Chandler.....	51
B.1.	Situación Geográfica de las localidades	

de la Costa Central de California,
donde se colectaron los clones de *F.*
chiloensis 103

B.2. Pedigrí de cuatro cultivares de
fresa con posible tolerancia a *F.*
oxysporum f. sp. *fragariae*..... 104

INTRODUCCION

La "secadera" es el síndrome de una enfermedad que ataca la raíz y corona de la fresa cuyo principal agente causal es *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. Esta enfermedad es el más importante problema fitopatológico del cultivo y la mayor limitante del rendimiento en las zonas productoras de fresa de los estados de Michoacán y Guanajuato. En ambas entidades se siembran aproximadamente 5000 ha de fresa que representan el 90 por ciento de la superficie nacional de este cultivo.

La incidencia de *Fusarium* es más alta en la región de Irapuato que en la de Zamora, Mich. Sin embargo en ambas zonas, el daño causado por dicho patógeno puede variar de severidad según el lugar muestreado. Esta enfermedad en condiciones de alta incidencia puede provocar pérdidas hasta del 50 por ciento de la producción, además de disminuir la calidad de la fruta.

Aunque la presencia de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* en fresa en México es relativamente reciente, ya que en 1975 se reportó a nivel de *Fusarium* sp., esta enfermedad ha adquirido importancia rápidamente porque los daños causados se han incrementado año con año debido a los factores

siguientes:

- a). Uso de cultivares extranjeros susceptibles.
- b). Prácticas culturales inadecuadas entre las que se incluye el manejo deficiente de viveros para la producción de "planta verde".
- c). El material vegetativo utilizado para establecer los viveros generalmente viene contaminado con *Fusarium*.
- d). Control químico inadecuado.
- e). Falta o inadecuada rotación de cultivos.

Ante la carencia de cultivares de fresa con las características agronómicas deseables y resistentes a *Fusarium* se han encontrado alternativas de control cultural y químico que reducen el daño. Sin embargo, su principal desventaja, sobre todo del control químico, es que resultan costosos.

Por las características particulares del cultivo de la fresa en México y para evitar la dependencia del extranjero respecto a variedades mejoradas, así como por la importancia socioeconómica de la fresa en el Bajío, se

justifica la necesidad de generar en nuestro país, cultivares resistentes a *Fusarium* con mayor potencial de rendimiento que las variedades importadas.

El éxito en un programa de mejoramiento genético para resistencia a *Fusarium* dependerá de una selección adecuada de las fuentes de resistencia. Para tener un criterio confiable y poder discriminar entre germoplasma susceptible y resistente, debe tenerse una técnica de inoculación segura para inducir la enfermedad en situaciones controladas. Debido a que se cuenta con la información preliminar respecto al método de inoculación mas adecuado el presente trabajo tiene los objetivos siguientes:

- a). Afinar el método de inoculación al suelo, así como la dosis de inóculo que permita clasificar el germoplasma en susceptible y resistente.
- b). Determinar si *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* produce sustancias tóxicas a la fresa.
- c). Buscar fuentes de resistencia a *Fusarium*.

HIPOTESIS

- a). Hay un nivel crítico de inóculo de *Fusarium*, con el cual se pueden diferenciar los genotipos resistentes y susceptibles.

- b). El daño causado por *Fusarium* es debido a la colonización del hongo y a la secreción de la toxina.

- c). En el germoplasma a evaluar hay diferente grado de resistencia a *Fusarium*.

REVISION DE LITERATURA

El Patógeno

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae*. Identificación y Clasificación

En Australia, Winks y Williams (1965) fueron los primeros en establecer la patogenicidad de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* hacia la fresa. Ellos determinaron que dicho hongo ataca a ese cultivo pero no a otros.

F. oxysporum f. sp. *fragariae* está clasificado como hongo imperfecto dentro del orden de los moniliales. *Fusarium oxysporum* es la especie económicamente más importante dentro del género *Fusarium*, por su amplia distribución mundial, por la diversidad de cultivos que ataca y por la cantidad de formas especiales que comprende (Booth, 1971). Las características principales de *Fusarium oxysporum* en medio PSA son: los cultivos presentan coloración rosa oscuro a violeta pálido en medio de pH 6.5-7. El micelio es hialino y septado, hay ausencia de reproducción sexual, produce macroconidios, microconidios y clamidosporas. Los macroconidios tienen generalmente, de tres a cinco septas, los microconidios son unicelulares o

bicelulares. Las clamidosporas son localizadas en el micelio en forma intercalar o terminal (Booth, 1971 y Takeuchi et al., 1985).

Sintomatología causada por *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*

La incidencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* en el campo puede presentarse atacando plantas que están distribuídas al azar o también infectando plantas que están localizadas dentro del mismo surco (Winks y Williams, 1965). Dicho patógeno puede invadir la raíz y la corona de la fresa (Dávalos et al., 1985).

Los síntomas más característicos de la enfermedad ocurren en el verano y consisten en un marchitamiento de todas las hojas, las cuales mueren rápidamente, sin mostrar síntomas de clorosis (Winks y Williams, 1965). En algunos casos puede haber clorosis (Maas, 1984). Se ha observado que las plantas infestadas por *Fusarium* se marchitan durante las horas calurosas del día y se recuperan por la tarde (Dávalos et al. 1985).

Durante los meses más fríos, las plantas infectadas por *Fusarium* manifiestan síntomas menos obvios, sin embargo, las plantas enfermas pueden reconocerse porque producen pocas hojas nuevas y éstas muestran enrollamiento, clorosis y poco crecimiento (Winks y Williams, 1965).

Las coronas de las plantas infectadas por *Fusarium* tienen una coloración café-rojiza, cuya extensión está relacionada directamente con el grado de daño. Cuando la planta muestra síntomas avanzados de marchitez, la base de la corona está invadida por una pudrición seca que avanza de abajo hacia arriba (Winks y Williams, 1965).

Las raíces invadidas por *Fusarium* son de color negro. El grado de daño depende del avance del patógeno. En estado primarios, la mayoría de las raíces secundarias están muertas, pero las raíces primarias aun son funcionales, aunque tenga zonas dañadas. En la fase final, tanto las raíces primarias como secundarias están muertas (Dávalos et al., 1965).

Ciclo de la Enfermedad

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae* es un patógeno exclusivo de la fresa, ya que en inoculaciones artificiales no ha causado la enfermedad en cultivos como jitomate, repollo, sandía, rábano, frijol, que también son atacados por otras formas especiales de *Fusarium oxysporum* (Cho y Moon, 1984; Kodama, 1974; Winks y Williams, 1965 y Yoshino y Hashimoto, 1978).

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae* sobrevive en el suelo en ausencia del hospedero mediante las clamidosporas y

micelio (Yoshino y Hashimoto, 1978). Probablemente también pueda sobrevivir parasitando otras especies de plantas cultivadas y silvestres que sean asintomáticas a la invasión del hongo. Esta forma de sobrevivencia ha sido demostrada en el caso de *F. oxysporum* f. sp. *licopersici* (Katan, 1971).

La mayor cantidad de inóculo de *Fusarium* se encuentra en los primeros 20 cm de profundidad, aunque se llega a localizar hasta a 40 cm. La mayor concentración de inóculo está en los primeros 5 cm (Kodama, 1974 y Yoshino y Hashimoto, 1978).

Se ha determinado que dicho patógeno puede sobrevivir en ausencia del hospedero por lo menos 18 meses en el suelo. La humedad de éste, aparentemente no es un factor importante que influya en su longevidad (Yoshino y Hashimoto, 1978). Ese hongo es introducido a suelos sanos mediante plantas infectadas (Winks y Williams, 1965 y Yoshino y Hashimoto, 1978) también por suelo contaminado (Yoshino y Hashimoto 1978) y por algunas prácticas culturales (Winks y Williams, 1965).

Los resultados encontrados en algunas investigaciones en Irapuato, Gto. indicaron que el inóculo primario de *Fusarium* está presente durante todo el ciclo de cultivo, por lo tanto la infección puede ocurrir en cualquier época del año. En todo caso el desarrollo o no del

patógeno está limitado mas por las condiciones ambientales (Castro y Dávalos, 1984).

Epidemiología

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae* requiere temperaturas relativamente altas para su óptimo desarrollo, siendo esta la causa de que la mayor incidencia de la enfermedad se presente en la temporada de verano en Australia (Winks y Williams, 1965) y Japón (Yoshino y Hashimoto, 1978) y en el período de primavera en Irapuato, Gto. (Castro y Dávalos, 1984). En investigaciones efectuadas en condiciones de laboratorio se encontró que el crecimiento del micelio de *Fusarium* fue óptimo a 28° C y mínimo a temperaturas entre 5-12° C o arriba de 36° C. Asimismo, la temperatura del suelo mas propicia para la incidencia de *Fusarium* en la fresa, fue de 26 a 30° C (Yoshino y Hashimoto, 1978).

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* dependerá de la temperatura. Esta es la razón por la que en invierno los síntomas de dicha enfermedad no se observan claramente (Winks y Williams, 1965).

El contenido de humedad en el suelo, cuando es superior al 22 por ciento, incrementa severamente el daño ocasionado por *Fusarium*. Pero si dicho porcentaje es inferior al 12.1 por ciento no hay brotes de la enfermedad (Yoshino y Hashimoto, 1978).

La diseminación de la enfermedad es propiciada por el uso de variedades susceptibles (Yoshino y Hashimoto, 1978 y Kim *et al.*, 1982) por utilizar planta madre infectada (Yoshino y Hashimoto, 1978) y también por utilizar suelos contaminados con *Fusarium* para los viveros y huertas comerciales (Dávalos *et al.*, 1985). Sin embargo, la diseminación es mas eficiente cuando se usan suelos infestados, que cuando se usa material de propagación infectado (Yoshino y Hashimoto, 1978).

Otra condición del hospedero que puede influir en la incidencia de *Fusarium*, es el desbalance nutricional. En la fresa esto ocurre después de un período de alta producción, que a la vez coincide con las altas temperaturas propicias para el desarrollo del patógeno. Estas circunstancias parecen aumentar la severidad del daño (Castro y Dávalos, 1984). Se encontró que la edad de la planta utilizada para el transplante no es un factor importante en el desarrollo de la enfermedad (Yoshino y Hashimoto, 1978).

El sustrato donde se siembra la fresa puede influir en el desarrollo de *Fusarium*. A este respecto se observó en Japón que las plantas cultivadas en suelos originados de cenizas volcánicas presentaron menos daño por *Fusarium*. En cambio en suelos arenosos, limo arenosos o limo arcillosos de origen aluvial, se incrementó notablemente el daño de ese hongo (Yoshino y Hashimoto, 1978).

La nutrición de la fresa puede afectar también el desarrollo de *Fusarium* de acuerdo con Yoshino y Hashimoto (1978), altos niveles de potasio en el suelo o bajas cantidades de nitrógeno pueden reducir la incidencia de dicha enfermedad.

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae*. Su Distribución en el Mundo

Entre las enfermedades de raíz y corona que atacan a la fresa a nivel mundial, *Fusarium* es una enfermedad relativamente nueva y menos importante que *Verticillium* y *Phytophthora* (Maas, 1984).

La importancia económica de *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* fue debidamente documentada por primera vez por Winks y Williams (1965). Estas investigadoras encontraron dicho hongo en la región de Brisbane, Australia, en 1962, causando serias pérdidas en las variedades Phenomenal y Majestic. Posteriormente el mismo patógeno se

localizó en Japón en las prefecturas de Nara en 1966 (Kodama, 1974) y Saitama en 1970 (Yoshino y Hashimoto, 1978). En Corea (Kim *et al.*, 1982 y Cho y Moon, 1984). En México lo encontraron Castro y Dávalos (1984). En nuestro país se informó de la incidencia de *Fusarium* en las zonas freseras de Zamora, Mich. e Irapuato, Gto. en 1975 y 1977 respectivamente, pero no se identificó la especie (Martínez A. y Del Río, 1975 y Flores, 1977).

El Hospedero

Morfología y Fisiología del Sistema Radical de la Fresa

Las raíces de la fresa pueden crecer en diversas texturas de suelo. El sistema radical está formado por raíces primarias y secundarias. Las primeras son producidas en una sucesión acrópeta en los nudos que se forman en la corona y éstas raíces son de naturaleza fibrosa. En plantas adultas se encuentran un promedio de 20 a 35 raíces primarias. Sin embargo en ocasiones pueden ser hasta 100 (Dana, 1981 y Darrow, 1966). Las raíces primarias en ciertas circunstancias alcanzan profundidades de 2-3 m en suelos de textura gruesa (Wilhelm y Nelson 1984), aunque por lo general mas del 50 por ciento de ellas están confinadas a los primeros 30 cm de profundidad (Dana, 1981). Estas tienen una duración aproximada de uno a dos años (Darrow, 1966). Las raíces primarias además de servir para conducir el agua,

nutrientes y dar protección, funcionan como órganos para almacenar carbohidratos en el invierno (Nelson y Wilhelm, 1957; Wilhelm, 1984).

Las raíces secundarias se originan directamente en las primarias y son producidas abundantemente; de la cantidad y sanidad de estas, depende, en gran medida la productividad de la planta (Wilhelm, 1984). Las raíces secundarias tienen un período de vida corto, aproximadamente de dos semanas, muriendo naturalmente, después de ese lapso y siendo reemplazadas rápidamente por nuevas raicillas originadas en el mismo sitio que las senescentes (Nelson y Wilhelm, 1957 y Wilhelm, 1984).

El sistema radical de la fresa presenta diferencias tanto entre las diversas especies existentes como entre las variedades. A ello se debe en gran medida, la alta adaptación de la fresa, (Darrow, 1966). Así tenemos que en la especie *F. chiloensis*, las raíces primarias pueden durar más de dos años y en contraste con *F. virginiana*, sólo uno o dos años. Esta duración es la observada en las variedades comerciales (*Fragaria x ananassa*) (Darrow, 1966).

Dentro de ciertos límites el sistema radical de la fresa puede ser modificado o influido tanto por prácticas de cultivo (densidad, sistema de plantación) y nutrición, (Darrow, 1966). Por otra parte se ha observado que el mayor

desarrollo de las raíces ocurre durante el período de inactividad vegetativa y reproductiva (otoño e invierno) para las variedades de día corto. Sin embargo, en variedades de día neutro, las cuales si presentan actividad en aquel período, no hay acumulación de carbohidratos en las raíces y ello repercute en falta de vigor y poco desarrollo del sistema radical. Consecuentemente dichas variedades son mas fácilmente dañadas por los patógenos (Wilhelm, 1984).

Cualquier condición que afecte el crecimiento de las raíces como: suelos pesados, exceso de humedad, poca cantidad de oxígeno en el suelo, temperaturas muy bajas en el suelo en invierno, así como la presencia de altas temperaturas en primavera, además de provocar estrés a las plantas, propician las condiciones favorables para el ataque de patógenos (Nelson y Wilhelm, 1957 y Wilhelm, 1984).

Las raíces de la fresa en su rizósfera permiten el crecimiento de numerosas bacterias y hongos, de los cuales muchos pueden ser patogénicos bajo ciertas circunstancias pero otros, como las micorrizas, no son perjudiciales y al contrario ayudan a mejorar la absorción de nutrientes (Darrow, 1966 y Wilhelm y Nelson, 1981)

Morfología de la Corona de la Fresa

Se le llama corona al órgano de la fresa, que botánicamente es un tallo, de tamaño muy corto generalmente (2-3 cm); aunque en la especie *F. chiloensis* se han encontrado clones en las costas de California cuyas coronas miden 60 cm. (Darrow, 1966).

La corona está compuesta de tejido leñoso y vascular. La parte central (médula) está constituida por células alargadas, las cuales son muy sensibles al daño provocado por bajas temperaturas en el otoño e invierno (Darrow, 1966).

La corona puede ser invadida por hongos patógenos, mismos que ocasionan un patrón característico de daño ya que pueden atacar la zona cortical, vascular o medular y provocar cambios en la coloración interna de dicho órgano. Sin embargo, la corona cuando está sana, al ser cortada longitudinalmente debe mostrar un color blanco típico (Wilhelm, 1984).

Fuentes de Resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*

Una alternativa para el control de *Fusarium* en fresa es la resistencia genética de los cultivares. A este respecto en Japón y Corea se han identificado fuentes de

resistencia en cultivares comerciales originarios de Alemania, Japón y Corea (Cho y Moon, 1984; Honda et al., 1981; Kim et al., 1982; Kodama, 1974 y Yoshino y Hashimoto, 1978). En la mayoría de estos casos la resistencia fue introducida de manera fortuita mas que deliberadamente.

Los cultivares Fukuba, Fogyoku, Yachiyo, Senga Sengana, Senga Gigana, America (Marshall), Shikinari y Terunoka fueron resistentes a *Fusarium* en Japón (Honda et al., 1981; Kodama, 1974 y Yoshino y Hashimoto, 1978). En Corea también presentaron resistencia a *Fusarium* Yachiyo, Senga Sengana, Senga Gigana, ademas de Daehak 1, línea 10-2, Kurume 38 e Himiko (Cho y Moon, 1984 y Kim et al., 1982).

En las evaluaciones para resistencia a *Fusarium* se ha visto que el ambiente puede influir en la resistencia o susceptibilidad de algunos clones. Como un ejemplo de ello los cultivares Donner, Harunoka y Berry Star, dan una reacción moderadamente resistente a susceptibles, dependiendo de las condiciones ambientales (Kodama, 1974 y Yoshino y Hashimoto, 1978).

Mecanismos de Resistencia a *Fusarium* sp.

El modo en que las plantas se defienden de los patógenos depende de 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 (Agris, 1988).

Se han propuesto varias explicaciones en torno a la resistencia presentada por diversos hospederos a las enfermedades causadas por *Fusarium* (Agris, 1988 y Beckman, 1968) algunas de ellas son:

- a). Escaso crecimiento del parásito por falta de algún nutriente en el hospedero o una inhibición provocada directamente por este.
- b). Insensitividad a la toxina del hongo por inactivación de esta por el hospedero.
- c). Restricción física del patógeno.

La restricción física del patógeno como forma de resistencia involucra la producción de barreras mediante cualquiera de las siguientes respuestas: formación de depósitos gomosos y tilosas (Beckman, 1968). Este investigador encontró que la resistencia en brócoli, algodón y tomate a *Fusarium* spp. se debió a la restricción física del hongo e igualmente identificó el mismo mecanismo de resistencia en tomate.

Métodos para Inducir la Enfermedad

Las técnicas de inoculación de *Fusarium* sp. para inducir la enfermedad en varios hospederos han consistido básicamente en cultivar las plantas en suelos infestados con el patógeno (inoculación natural), o provocar la enfermedad inoculando artificialmente.

Esta última técnica es la más empleada actualmente porque permite tener una mejor uniformidad en la cantidad de inóculo aplicada y se reducen los riesgos de escape (Russell, 1978).

La inoculación artificial de *Fusarium* sp. difiere tanto por el sitio en la planta a inocular (raíz, pecíolo, tallo, meristemo) como por la forma en que se aplique el inóculo (infestando el suelo, inmersión temporal antes de plantar, inmersión permanente, aspersion) y hasta por la aplicación de sus metabolitas (toxinas). La combinación entre el sitio inoculado y como se aplicó el patógeno, es conocido como método de inoculación. Los siguientes son los métodos principalmente utilizados.

Inoculación al Suelo

En algunas especies de plantas este método de inoculación ha sido el más efectivo para inducir las

enfermedades por *Fusarium* sp. (Awuah et al., 1986; Hart y Endo, 1978, 1981 e Hida y Ashizawa, 1985)

En referencia a lo anterior Hart y Endo (1981) realizaron la inoculación al suelo, aplicando directamente una suspensión de macroconidios y microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *apii* en proporción de una caja Petri a 2 kg de suelo. Posteriormente se sembró el apio. Este método de inoculación propició un 99 por ciento de plantas enfermas y síntomas severos a la vez. En base a ello dichos investigadores concluyeron que ese método fue superior al método de inmersión en suspensión de esporas. A similares resultados con la infestación en el suelo con solución de esporas han llegado Hida y Ashizawa (1985) al inocular *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* en rábano.

Otra manera de inocular el suelo con esporas de *Fusarium* sp. es mezclar éste con un sustrato previamente utilizado para la multiplicación del hongo. (Awuah et al., 1986; Scott y Futrell, 1970 y Stephens et al., 1989).

Investigadores como Awuah et al. (1986) y Stephens et al. (1989) utilizaron este método de inoculación exitosamente para buscar fuentes de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *apii* y *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* en apio

y espárrago respectivamente. La metodología usada por Awuah *et al.* (1986) fue la siguiente:

- a). Se inocularon con una suspensión de micelio y conidios, 30 g de semilla de avena triturada más 40 ml de papa y dextrosa al 1.2 por ciento.
- b). Después de siete días de crecimiento del patógeno en el medio anterior. Este se mezcló con 250 g de suelo esterilizado y se colocó en una caja de plástico de 20x13x10 cm. Se dejó una semana en incubación y el suelo se removió continuamente.
- c). Finalmente, en este suelo así inoculado, se sembraron 12 plantas de apio por caja.

Inoculación con Suspensión de Esporas

El método de inoculación sumergiendo las raíces de la planta hospedera en una solución de esporas, ha sido empleado con éxito para inducir la enfermedad provocada por diversas formas especiales de *F. oxysporum*. (Hida y Ashizawa, 1985 y Winks y Williams, 1965).

Dicho método es usado comúnmente en especies como chícharo, jitomate y rábano. La inoculación se efectúa exponiendo las raíces temporalmente en una suspensión de macroconidios de *Fusarium* sp. (Hart y Endo, 1981 e Hida y Ashizawa, 1985). En la fresa Winks y Williams (1965) usaron este método para comprobar la patogenicidad de *Fusarium*.

Con esta técnica, especialmente importantes en la severidad de la enfermedad son la concentración de esporas y duración de la exposición (Hida y Ashizawa, 1985). Sin embargo, en apio Hart y Endo (1978, 1981) establecieron que el mencionado método dió resultados parcialmente satisfactorios, puesto que del 25 al 50 por ciento de las plantas inoculadas escaparon a la infección y las plantas infectadas desarrollaron síntomas poco severos de la enfermedad.

Otros investigadores en cambio, modificaron el método, usando un medio líquido que contiene la suspensión de esporas y en el cual se siembra el hospedero (Nene y Haware, 1980 y Roberts y Kraft, 1971).

Esta inoculación permanente supera las desventajas de la inoculación temporal. En relación a ello, Roberts y Kraf (1971) informaron que al usar dicho método, inocularon exitosamente a *F. oxysporum* f. sp *pisi* raza 5, obteniendo resultados similares que con la inoculación al suelo, pero

con la ventaja de que el primer método requiere menos tiempo (10 días) y poco espacio para la evaluación.

En la india Nene y Haware (1980) confirmaron la bondad del método anterior, al inocular *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* en garbanzo y obtener resultados semejantes a la inoculación al suelo en invernadero y en campo.

Inoculación con Filtrado Tóxico

Algunas especies de *Fusarium* entre ellos *F. oxysporum* producen sustancias llamadas toxinas, mismas que contribuyen a causar parcial o totalmente el síndrome de la enfermedad en el hospedero. (Agrios, 1988 y Gaumann, 1957).

Las toxinas son compuestos bioquímicos, extremadamente venenosos, que aun a concentraciones muy bajas son capaces de dañar a la planta (Agrios, 1988). Su modo de acción no está aun completamente comprendido. Se cree que es mediante cualquiera de las siguientes vías (Agrios, 1988 y Williams, 1979):

- a). Afectando la permeabilidad de la membrana celular.

b). Inactivando o inhibiendo a las enzimas y perturbando por lo tanto las reacciones enzimáticas.

c). Actuando como antimetabolito y propiciando la carencia de algún factor esencial.

Según Gaumann (1957) *F. oxysporum* f. sp. *licopersici* así como otras especies de *Fusarium* producen más de una toxina, siendo el ácido fusárico uno de los más importantes (compuesto aislado por Yabuta *et al.*) (Gaumann, 1957).

Las toxinas son producidas en corto tiempo, por *Fusarium*, como lo revelan los estudios hechos por Gaumann (1957) quien detectó la licomarasmina a concentraciones de 10 mg/l después del séptimo día de sembrado el *F. oxysporum* f. sp. *licopersici* y la concentración aumentó de 200 a 300 mg/l después de 44 días.

Información presentada por diversos autores sugieren que las toxinas producidas por la mayoría de las especies del género *Fusarium* son de naturaleza no específica. (Agrios, 1988 y Gaumann, 1957).

La inoculación de las toxinas de *Fusarium* sp. son una técnica de reciente aplicación, en la investigación para

buscar resistencia genética. En este sentido Scott y Futrell (1970) observaron que cultivando plántulas de maíz en un medio conteniendo el filtrado tóxico de *F. moniliforme*, ocasionó los mismos síntomas de la enfermedad, que cuando se inoculó con el hongo. A las mismas conclusiones llegaron Escobedo y Olivares (1987) cuando inocularon la toxina de *F. moniliforme in vitro* a embriones de maíz.

Por otro lado Scott y Futrell (1970) postularon que la toxina de *F. moniliforme* es soluble en agua y termoestable.

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo de investigación constó de tres fases, que son las siguientes:

1. Determinación de dosis óptimas de inóculo de *Fusarium*, que permitan separar diferentes niveles de resistencia.
2. Inoculación con filtrado tóxico *in vitro*.
3. Búsqueda de fuentes de resistencia a *Fusarium*.

Determinación de la Dosis de *Fusarium*

Cultivares y Clones

Para esta primera etapa del trabajo se usaron en total siete cultivares de fresa introducidos de California, mismos que previamente fueron seleccionados por haber mostrado diferente grado de susceptibilidad a *Fusarium*, en condiciones de campo. también se trabajó con 66 clones de *F. chiloensis*. Los cuales también procedieron de la costa de

California. En el Cuadro A.1. se indica el origen de los cultivares. En la Figura B.1. está la situación geográfica de las localidades donde se obtuvieron los clones de *F. chiloensis*.

Aislamiento y Purificación de *Fusarium*

Las plantas de fresa con síntomas de *Fusarium* se colectaron en Irapuato, Gto., durante febrero de 1988. Se seleccionaron partes del tejido infectado de la corona, que se desinfectaron con hipoclorito de calcio al 1 por ciento durante 3 min. Enseguida se lavaron con agua destilada estéril y se sembraron en medio de cultivo PDA, al que se le agregó estreptomycin a dosis de 100 ppm. Las cajas Petri se colocaron en iluminación artificial con fotoperíodo de 12 h y a temperatura ambiente de aproximadamente 25°C. Después de cinco días de la siembra, se escogió una caja que presentó crecimiento característico de *Fusarium* y se procedió a transferirlo a PDA, mediante la técnica del rallado superficial para hacer su purificación.

Producción del Inóculo

Una vez purificado *Fusarium*, este se sometió a una primera incrementación masiva, en el medio de cultivo y con la técnica descrita anteriormente. Se dejó crecer el hongo por aproximadamente 15 días, hasta que se cubrió la caja Petri.

Después de la primera incrementación del *Fusarium*, el contenido de cada caja se licuó por 20 seg en 200 cc de agua destilada estéril y se distribuyó en bolsas de polietileno que contuvieron 600 g de sustrato. Así se realizó la segunda incrementación del hongo. El sustrato se formó con una mezcla de maíz molido más harinolina en la proporción por peso de 3:1. Antes de la inoculación del sustrato este se mezcló uniformemente, colocando en costales de tela 450 gramos de maíz y 150 g de harinolina. En esos recipientes se llevaron a la autoclave, donde se esterilizaron a 120°C por 20 min. Posteriormente los costales esterilizados con el sustrato se colocaron en una cámara de flujo laminar y cada uno de ellos se vació en bolsas de polietileno transparente, las que se cerraron herméticamente. Después de enfriado el sustrato, se aplicó el *Fusarium*. Las bolsas se colocaron bajo fotoperíodo natural y a la temperatura ambiente del laboratorio (24-26°C) donde permanecieron de 2 a 4 meses, para permitir que el hongo colonizara el sustrato. Transcurrido ese tiempo, aquel se utilizó para los diversos ensayos en que se inoculó al suelo.

Inoculación

Antes de proceder a la aplicación del inóculo, la cantidad requerida de ese para un determinado experimento, fue vaciado en una bolsa grande y mezclado cuidadosamente

para homogeneizar el hongo. Después el inóculo se distribuyó alrededor del cepellón de las plantas o en su caso de las raíces desnudas, para asegurar que el *Fusarium* entrara en contacto con el hospedero. Las plantas de los cultivares se sembraron en tierra de hojarasca y los clones de *F. chiloensis* en arena. En ambos casos ese suelo se esterilizó previamente con bromuro de metilo al 98 por ciento.

Descripción de Tratamientos y Procedimiento Experimental

Para analizar la respuesta a las dosis de *Fusarium*, fue necesario sembrar cinco experimentos. En el ensayo uno, se tuvo un arreglo factorial de tratamientos, donde el factor A correspondió a seis cultivares. El factor B se adjudicó a 0, 100 y 200 g de inóculo de *Fusarium* por maceta de 900 cc. Antes de ser inoculada la planta, se sembró en macetas de 300 cc y se dejó enraizar cuatro meses.

En el ensayo dos, también se tuvo un arreglo factorial. El factor A fueron los cultivares Chandler y Fresno, el factor B se asignó al tamaño de la maceta: 900, 600 y 300 cc de capacidad, y el factor C fueron las dosis de inóculo de 0, 50, 100 y 150 g por maceta de 900 cc; 0, 33, 66 y 99 g por maceta de 600 cc; y 0, 17, 34 y 51 g de inóculo por maceta de 300 cc. Para los tres tamaños, la dosis en gramos fue equivalente a la proporción por volumen de suelo a inóculo 100 a 0, 92 a 8, 84 a 16 y 75 a 25 por

ciento respectivamente. Las plantas utilizadas fueron de un vivero de Arteaga, Coah., y se inocularon al momento de la siembra.

En los experimentos tres, cuatro y cinco, se evaluaron las dosis de 17, 34 y 51 g de inóculo respectivamente. En estos ensayos se usó un mismo tamaño de maceta, que fue de 600 cc, en ellos se sembraron 66 clones de *F. chiloensis*, las plántulas se sembraron un mes antes de inocularlas, en vasos de 300 cc para que enraizaran. Posteriormente en agosto de 1989, se les aplicó el *Fusarium*.

En todos esos experimentos, se empleó diseño completamente al azar con dos repeticiones. La parcela experimental en los ensayos uno y dos fue de cuatro plantas. En los demás fueron dos plantas.

Variables Consideradas

El ensayo uno permaneció en observación cuatro meses, hasta esa fecha se hizo la lectura de las siguientes variables.

- a). Por ciento de daño de raíces.
- b). Por ciento de daño en corona.
- c). Promedio de plantas muertas.

En los experimentos dos a cinco se hizo una estimación del daño de *Fusarium*, mediante los síntomas observados en la parte aérea. El ensayo dos, duró 75 días y se hicieron tres lecturas. En los experimentos tres a cinco la evaluación duró dos meses y se tomaron cuatro lecturas a intervalos quincenales. El siguiente fue el índice usado, el cual se adaptó de Bringham *et al.* (1966) y Kim *et al.* (1982).

Valor	Descripción
0	Planta aparentemente sana
1	Las plantas muestran una ligera reducción del crecimiento, pero no hay marchitez. Puede haber o no amarillamiento del follaje.
2	Las plantas muestran un notorio achaparramiento. No hay marchitez. Puede haber o no amarillamiento.
3	Las plantas presentan marchitez. La corona aparentemente sigue produciendo hojas nuevas. Probabilidad de que la planta sobreviva.

4. Las plantas presentan marchitez general. La corona aparentemente ya no produce hojas nuevas. Probabilidad de que la planta muera.

5. Planta muerta.

Los valores descritos arriba se asignaron a los síntomas observados y la suma del total de las lecturas, fue el llamado índice de enfermedad. De esta manera se buscó detectar la rapidez con la cual se manifestaron los síntomas y la intensidad de éstos. Así tenemos que si una planta se secó a la primera lectura, su índice de enfermedad sería: 5×3 (lecturas) = 15. Este sería el máximo índice con tres lecturas. El mínimo serían $0 \times 3 = 0$.

Análisis Estadístico

En el experimento uno, los datos del porcentaje de daño en raíz y corona se sometieron a la prueba de Bartlett. Solamente para la primera variable se detectó heterogeneidad de varianzas, por lo que los datos originales se transformaron con el arco seno. Sin embargo, para el ajuste de la curva del por ciento de daño en raíz, se usaron los datos originales.

En los experimentos 1 y 2, los parámetros mencionados se sometieron al análisis de varianza. Donde éste resultó significativo, se hizo la prueba de rango múltiple de Duncan, si el factor fue cualitativo y para el factor cuantitativo se hizo un análisis de tendencia a través de la técnica de polinomios ortogonales. De acuerdo con esa metodología presentada por Snedecor y Cochran (1984) y Steele y Torrie (1986) se determinó el grado del polinomio y con ello se obtuvo la ecuación de predicción en base a eso se ajustó la curva de las observaciones originales.

Para las variables de los experimentos 3 a 5 solo se obtuvo la media del índice de enfermedad. Dados los objetivos del trabajo, no fue necesario realizar el análisis de varianza.

Inoculación con Filtrado Tóxico *in vitro*

Cultivar

Para este experimento se usó el cultivar Tioga el cual ha mostrado bastante susceptibilidad a *Fusarium* en la zona de Irapuato, Gto. (Dávalos *et al.* 1985). Esa susceptibilidad se ha confirmado con inoculaciones del patógeno en invernadero (Castro y Dávalos, 1984).

Los estolones de Tioga, se produjeron en el invernadero, al momento de utilizarlos se escogieron plántulas de aproximadamente un mes de edad. Se buscó que tuvieran un mismo grosor de corona y ausencia de raíces.

Producción del Filtrado Tóxico

Para la obtención del filtrado tóxico de *Fusarium oxysporum f. sp. fragariae*, se sembró un cultivo de ese en el medio líquido papa-dextrosa-sacarosa (PDS); el siguiente fue el procedimiento para producir 3 litros:

- a). 200 g de papas cortadas en trozos pequeños se pusieron a hervir en 1 l de agua destilada, durante 30 min. El agua perdida por evaporación posteriormente se restituyó.
- b). El extracto así obtenido se filtró en una manta limpia.
- c). La infusión filtrada se vació a un matraz de 4 l, se agregaron 2 l de agua destilada y se añadieron 20 g de dextrosa y 30 g de sacarosa.
- d). El medio se esterilizó en autoclave a 120°C por 20 min.

e). Después de esterilizado el medio y cuando estuvo a la temperatura ambiente, se inoculó la mitad de una caja Petri conteniendo *Fusarium*.

f). El matraz se cubrió con papel estroza, para mantener el medio en la oscuridad. Se colocó en un agitador magnético y ahí permaneció tres semanas.

g). Cumplido el período anterior el medio se filtró a través de una franela y después se esterilizó a 120°C por 20 min. El producto así obtenido se le llamó filtrado tóxico.

Inoculación con el Filtrado Tóxico

Las plántulas se sembraron en frascos de vidrio esterilizados, con 100 cc de capacidad. Se consideró como 100 por ciento de toxina al filtrado tóxico obtenido, de aquí se realizaron las diluciones respectivas para los tratamientos evaluados. Se usó agua destilada estéril para las diluciones; también para reponer el agua perdida durante el tiempo que las plantas permanecieron en los frascos. La inoculación se efectuó en condiciones de asepsia.

Descripción de Tratamientos y Procedimiento Experimental

En el ensayo (número seis) se evaluaron cinco niveles de concentración, éstos fueron: 0, 20, 40, 60 y 80 por ciento de filtrado tóxico. Así para preparar la dosis del 20 por ciento, se mezclaron 20 cc del filtrado tóxico con 80 cc de agua destilada estéril. Las demás dosis se prepararon de manera semejante. Se utilizó diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y una planta por repetición. Las plantas se colocaron a temperatura e iluminación ambiente.

Variable Considerada

Después de tres semanas de la inoculación, se hizo una lectura del índice de enfermedad, en base al procedimiento descrito anteriormente.

Análisis Estadístico

Los datos del índice de enfermedad se sometieron al análisis de varianza. La comparación de medias se efectuó a través de la prueba de rango múltiple de Duncan al 0.05 por ciento.

Búsqueda de Fuentes de Resistencia a *Fusarium*

Cultivares y Clones

Para estos ensayos se utilizaron 29 cultivares de fresa de Estados Unidos y dos de Canadá. Los cultivares de Estados Unidos abarcaron una muestra de los usados en diferentes regiones de ese país. En especial se incluyeron algunas de las variedades de California que son cultivadas en escalas comerciales en México. En el Cuadro A.1. aparece la lista de cultivares, su origen y año de introducción comercial (Bringhurst y Voth, 1958, 1961, 1979, 1980; Brooks y Olmo, 1972, 1983, 1984; Craig *et al.*, 1982; Darrow, 1966 y Draper *et al.*, 1981).

Los 66 clones de *F. chiloensis* se colectaron en siete localidades ubicadas entre Santa Cruz y San Francisco, en la costa de California, USA. Son clones silvestres, las plantas son bianuales, generalmente dióicas y su nivel cromosómico $8n$ es igual al de las variedades comerciales. Por su alta variabilidad genética y porque en ellas existen genes que confieren resistencia a muchas enfermedades importantes, esas poblaciones han sido estudiadas por numerosos investigadores (Bringhurst *et al.*, 1966, 1977; Bringhurst y Voth, 1984; Darrow, 1966; Scott *et al.*, 1984 y Wilhelm y Sagen, 1974).

Inoculación y Procedimiento Experimental

Los cultivares de fresa se inocularon con 67 g del sustrato conteniendo *Fusarium*; la producción del inóculo y el método de inoculación ya fueron descritos anteriormente.

En el ensayo siete se evaluaron 17 cultivares. La planta se sembró 60 días antes de la inoculación en macetas de 300 cc. Al inocularla se transplantó a macetas de 600 cc. En el ensayo ocho se sembraron 16 cultivares. Se utilizó planta de fresa refrigerada. Se sembró también en macetas de 600 cc donde se inocularon con 51 g del sustrato.

En los tres ensayos mencionados se usaron diseños completamente al azar y dos repeticiones. La parcela experimental constó de cuatro, cinco y dos plantas para los experimentos 7, 8 y 5 respectivamente.

Variables Consideradas

Esos experimentos permanecieron en observación durante dos meses. En ellos se consideró el índice de enfermedad, del que se tomaron tres lecturas para los ensayos siete y ocho; y cuatro lecturas para el experimento 5. Las lecturas se hicieron cada 15 a 20 días. El índice de enfermedad fue descrito anteriormente.

Análisis Estadístico

En los tres ensayos el índice de enfermedad se sometió al análisis de varianza. Las medias de los experimentos 7 y 8 se compararon con la prueba de Duncan. En el caso del ensayo cinco la comparación de algunas medias o de grupos escogidos de medias se efectuó a través de contrastes. La descripción de la metodología fue dada por Steel y Torrie (1986).

RESULTADOS

Respuesta a las Dosis de *Fusarium*

Experimento I

Los resultados del ANVA presentados en el Cuadro 1 mostraron que la variable índice de raíces dañadas fue altamente significativa entre tratamientos. La causa fundamental de esas diferencias fueron atribuidas a las dosis de inóculo de *F. oxysporum*. No se encontró efecto estadístico significativo de la interacción variedad por dosis.

Los cultivares de fresa reaccionaron de manera similar a las dosis de *F. oxysporum* evaluadas. De acuerdo con lo observado en la Figura 1, el mayor incremento proporcional de raíces dañadas de todas las variedades, ocurrió con la dosis de 100 g. Con esta cantidad el porcentaje de raíces dañadas por *F. oxysporum* fue aproximadamente del 90 por ciento. Con la dosis de 200 g el daño en las raíces fue aproximadamente del 100 por ciento.

Cuadro 1. Cuadrados medios de las variables correspondientes al experimento I.

F.V.	G.l. raíces dañadas	Índice de % de raíces dañadas	% de raíces dañadas en corona	% de daño en corona	\bar{X} plantas muertas
Tratamientos	17	3201.15**	3434.2059**	1298.3245**	4.5179741**
Variedades	5	107.278ns	30.34875ns	200.26576ns	0.161112ns
Dosis	2	15675.975**	28889.89**	9464.912**	33.694447**
Vxd	10	54.1922ns	44.998ns	214.03635**	0.8611107ns
Error	18	30.93	21.637	58.6268	0.4166666
C.V. (%)		9.4	6.97	10.9	34.68

*, ** Significativo al .05 y al .01 de probabilidad respectivamente.
 ns No significativo.

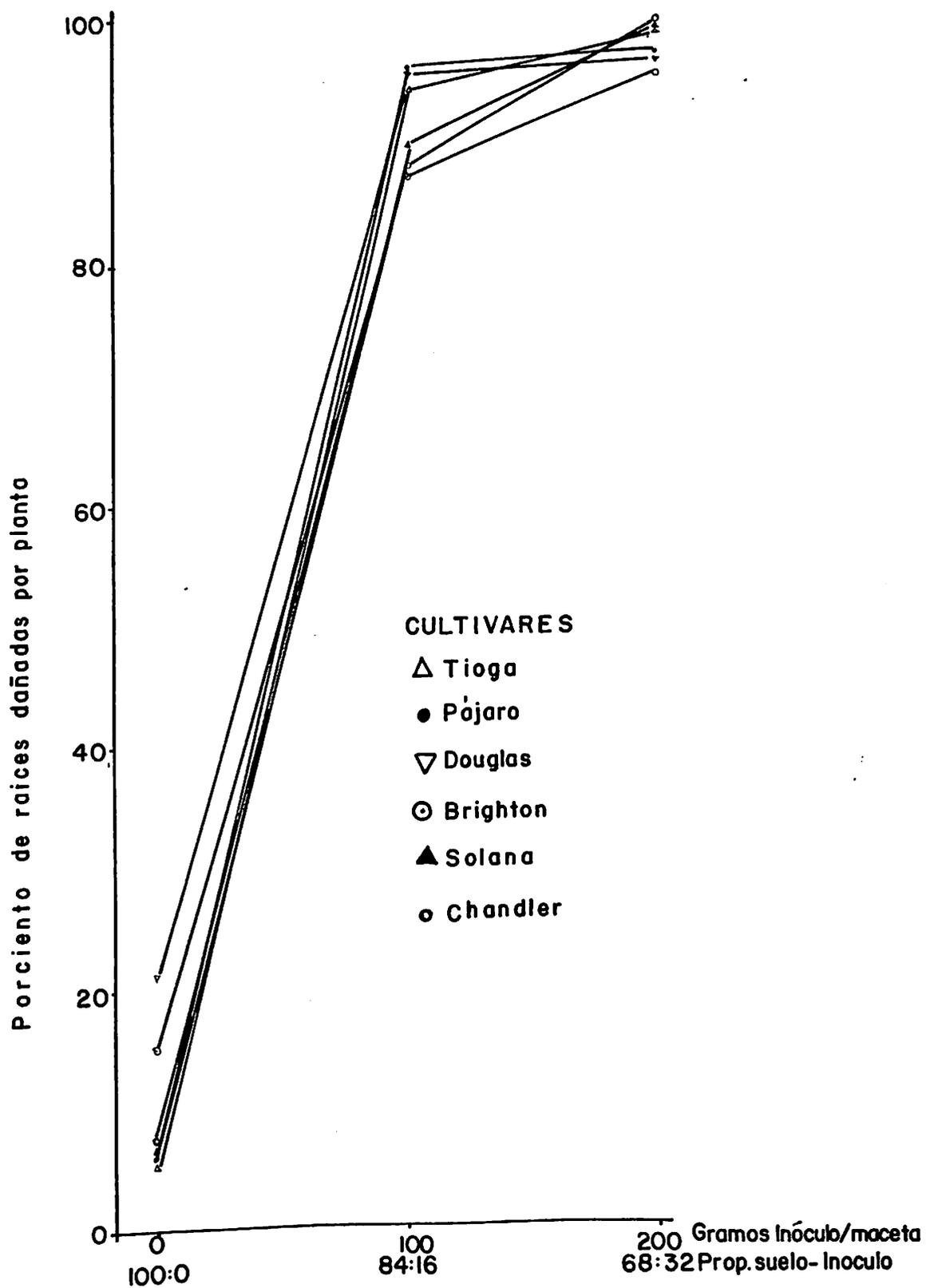


Figura 1. Respuesta del sistema radical de seis cultivares de fresa, a la inoculación al suelo, con diferentes dosis de sustrato conteniendo *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*.

18041

Con la respuesta media de los seis cultivares a las dosis de inóculo, se hizo el análisis estadístico a través de polinomios ortogonales. Como se podrá ver según los resultados del Cuadro 2 y Figura 2 hubo una respuesta cuadrática a la inoculación con *F. oxysporum*. La ecuación de predicción obtenida, misma que sirvió para la estimación del porcentaje de raíces dañadas fue la siguiente:

$$10.291278 + 1.1915624 X_1 - 0.0037572918 X_1^2$$

$$\text{para } 0 \leq X_1 \leq 200$$

El por ciento de daño en la corona de la planta, según el análisis de varianza, detectó diferencias estadísticamente significativas para tratamientos, dosis y la interacción tratamientos x dosis (Cuadro 1).

Una análisis más detallado de la interacción anteriormente mencionada es presentada a través del Cuadro 3. Aquí se puede notar que todas las fuentes de variación fueron significativas, excepto variedades dentro de las dosis de 100 g de inóculo.

Todos los cultivares excepto "Pájaro" aumentaron el por ciento de daño en la corona a medida que se incrementó la dosis de inóculo. Con 200 g el daño a corona fue casi completo. (Figuras 3, 4, 5, 6, 7 y 8).

Cuadro 2. Cuadrados medios obtenidos a través de polinomios ortogonales para el porcentaje de raíces dañadas.

Efecto	Dosis de inóculo			$\Sigma cm_j y_{ij}$	$ar \Sigma cm_j^2$	SC Efecto
	0	100	200			
Lineal	-1	0	1	1056.25	$6 \times 2 \times 2 = 24$	46486.003**
Cuadrático	1	-2	1	-901.75	$6 \times 2 \times 6 = 72$	11293.793**

Cuadro 3. Análisis de la interacción cultivar por dosis de inóculo y estimación de los cuadrados medios para el porcentaje de daño en la corona.

F.V.	G.L.	C.M.
Dosis/Brighton	2	1289.844**
Dosis/Tioga	2	3496.875**
Dosis/Douglas	2	619.531**
Dosis/Pájaro	2	1413.281**
Dosis/Chandler	2	1642.907**
Dosis/Solana	2	2072.656**
Variedades/dosis 0	5	332.708**
Variedades/dosis 100	5	121.567ns
Variedades/dosis 200	5	174.063*
E.E.	18	58.6268

*, **; Significativo al .05 y .01 de probabilidad respectivamente.

ns; No significativo.

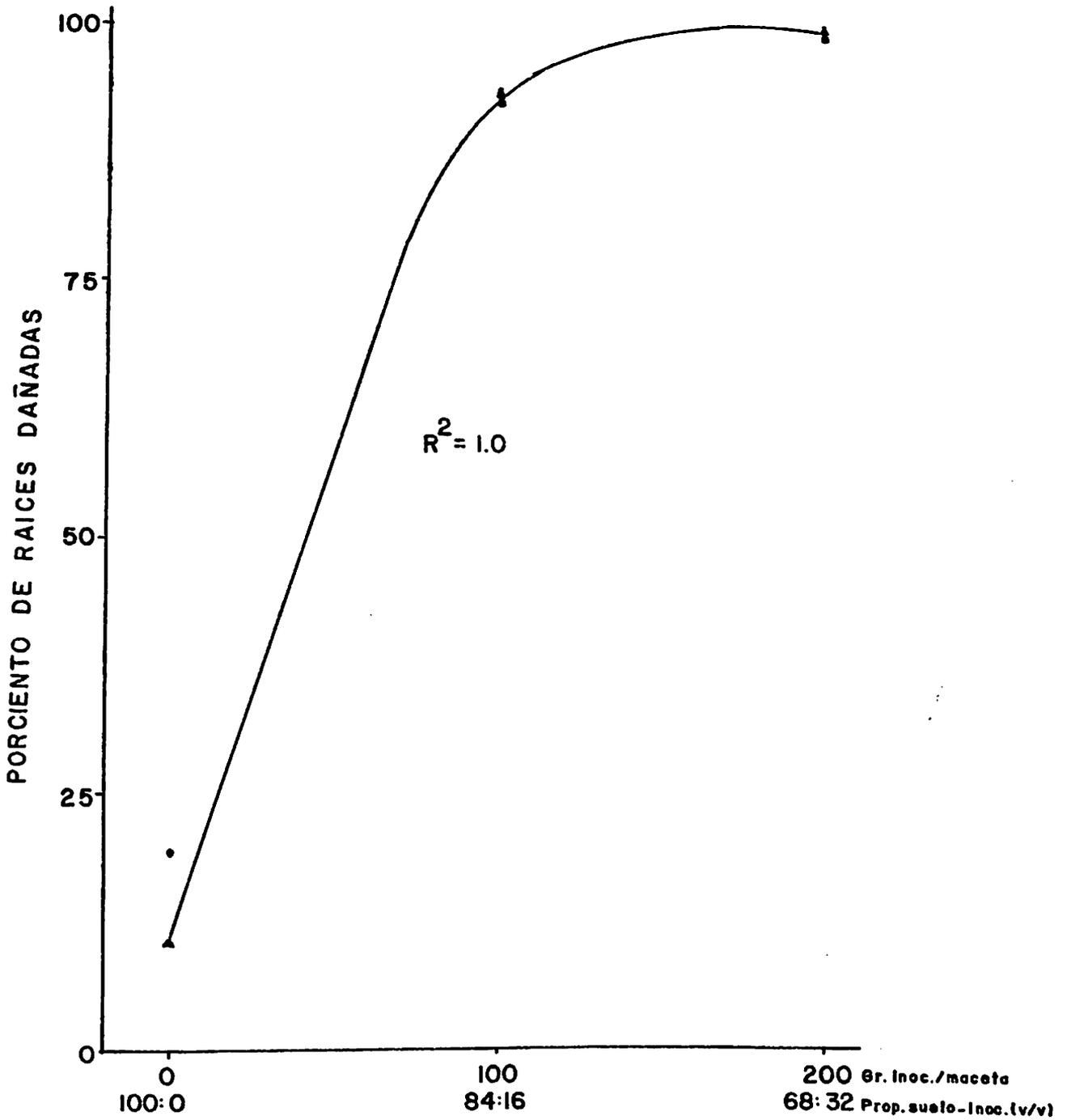


Figura 2. Por ciento de raíces dañadas con varias dosis de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* (promedio de seis cultivares).

El grado de daño en la corona de los cultivares Tioga, Brighton, Pájaro y Chandler, presentó una tendencia cuadrática en relación a la dosis aplicada de *Fusarium oxysporum*. Sin embargo, en Solana y Douglas la respuesta fue lineal (Cuadro 4 y Figuras 3, 4, 5, 6, 7 y 8). El cultivar Tioga tuvo el menor porcentaje de daño en la corona en las plantas testigo, mientras que con 100 y 200 gramos, el menor daño lo mostraron Solana y Pájaro respectivamente.

En el Cuadro 4 aparecen las ecuaciones de predicción para cada uno de los cultivares.

El porcentaje de las plantas muertas fue estadísticamente igual en todas las variedades con las diversas dosis de *Fusarium oxysporum* aplicadas (Cuadro 1). Con 100 g de inóculo se tuvieron porcentajes de plantas muertas superiores al 50 por ciento y ligeramente mayores al 75 por ciento con la dosis de 200 g (Figura 9). Hubo una respuesta cuadrática del por ciento de plantas muertas a la dosis de inóculo. La ecuación de predicción que establece esa relación es:

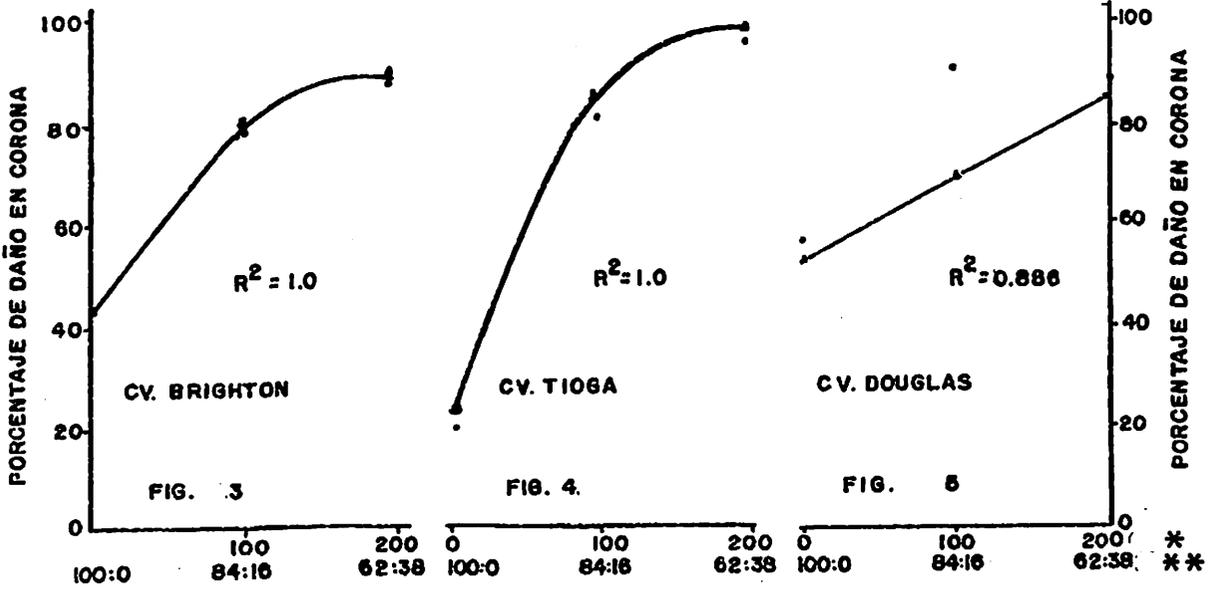
$$0.0001087 + 0.0304166 X_1 - 0.000070833333 X_1^2$$

Cuadro 4. Cuadrados medios obtenidos a través de polinomios ortogonales para el porcentaje de daño en la corona.

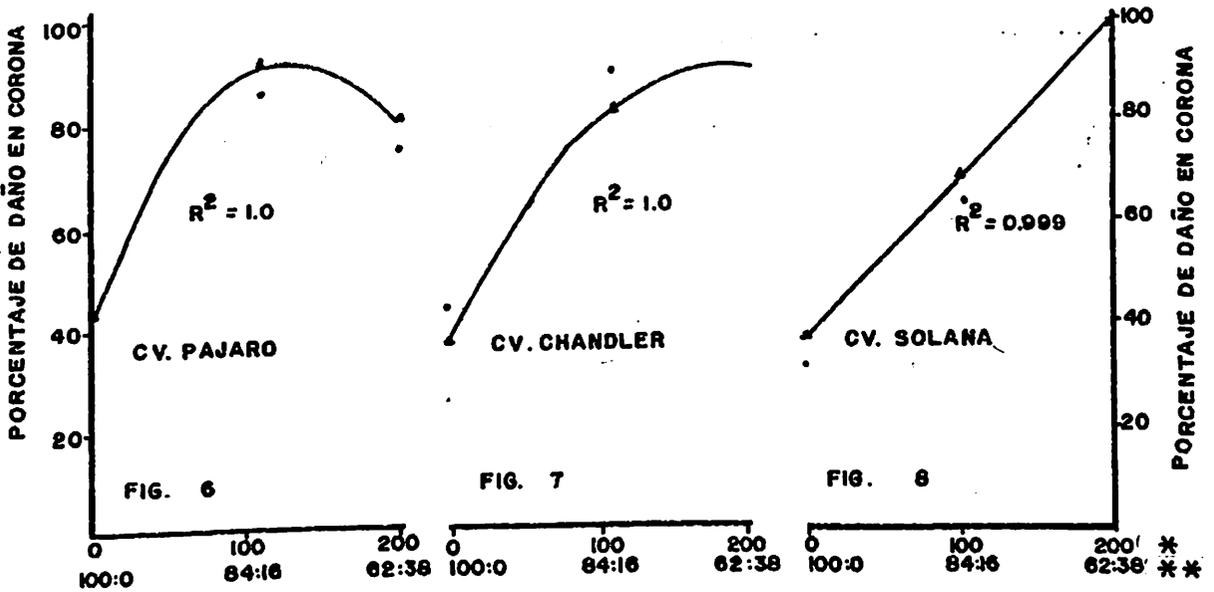
Cultivar	Suma de cuadrados		Ecuación de predicción para $0 \leq X_i \leq 200$
	Lineal	Cuadrático	
Brighton	2316**	264**	$41.479214 + 0.521875 X_i - 0.00140625 X_i^2$
Tioga	6202**	792**	$22.729248 + 0.68125 X_i - 0.0024375 X_i^2$
Douglas	1097**	142ns	$53.666667 + 0.1656625 X_i$
Pájaro	1550**	1276**	$40.22927 + 0.615625 X_i - 0.00309375 X_i^2$
Chandler	2889**	397*	$37.604225 + 0.61375 X_i - 0.001725 X_i^2$
Solana	4144**	1ns	$38.041667 + 0.321875 X_i$

*, **, significativo al .05 y 0.1 de probabilidad.

ns. No significativo.



* Grs. INOCULO POR MACETA ** PROP. SUELO - INOCULO (v/v).



Figuras 3 a 8. Relación entre la dosis de *Fusarium* y el grado de daño en la corona en seis cultivares de fresa.

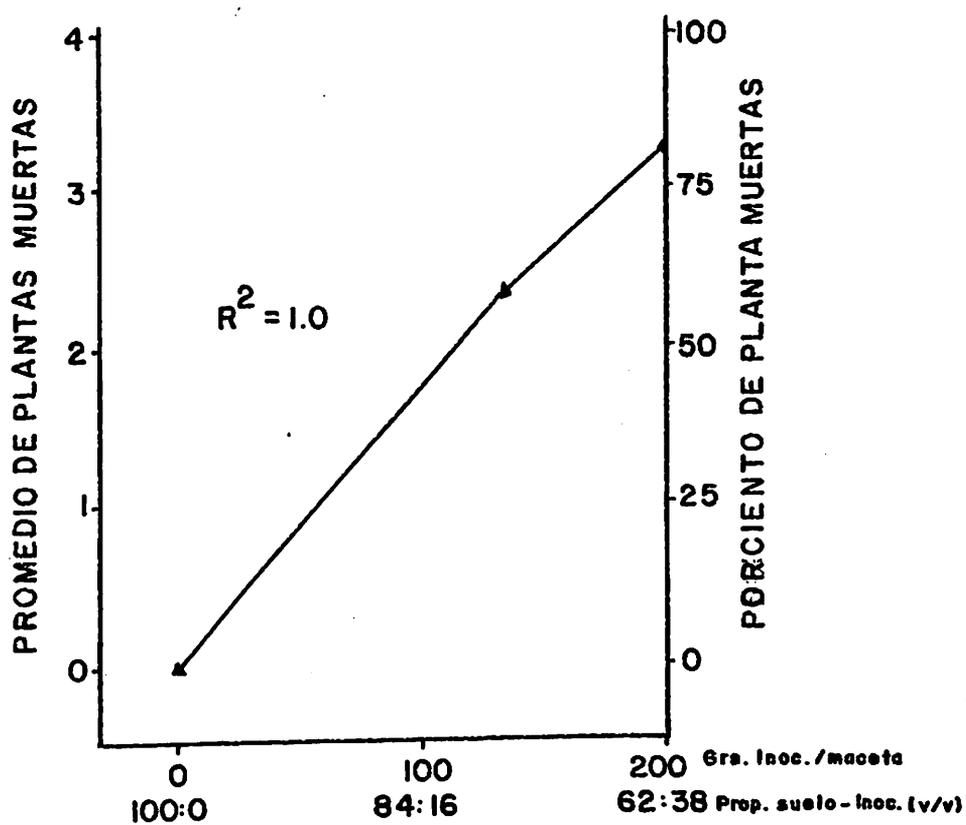


Figura 9. Relación entre la dosis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* y la cantidad de plantas muertas (promedio de los seis cultivares)

Experimento 2

El análisis de varianza para el índice de enfermedad presentó diferencias estadísticas altamente significativas debido a las dosis de *F. oxysporum*. No se encontró efecto de ningún otro factor solo o interacción (Cuadro 5.)

Cuadro 5. Cuadrados medios para el índice de enfermedad del experimento 2.

F.V.	G.l.	C.M.	
Tratamientos	23	67.75883**	
Variedades	1	0.2551833ns	
Tamaño de maceta	2	2.3945188ns	
Dosis	3	510.2795**	
V x tamaño maceta	2	1.3919ns	
V x dosis	3	1.9114722ns	
Tamaño x dosis	6	0.5750937ns	
VxTxD	6	1.7669202ns	
E.Exp.	24	1.4479167	C.V. = 12.46 %

*,**; Significativo al .05 y al .01 de probabilidad respectivamente.

ns; No significativo.

En lo referente a las dosis de inóculo, se observó que en los tres tamaños de maceta el índice de enfermedad aumentó progresivamente aunque no de manera proporcional,

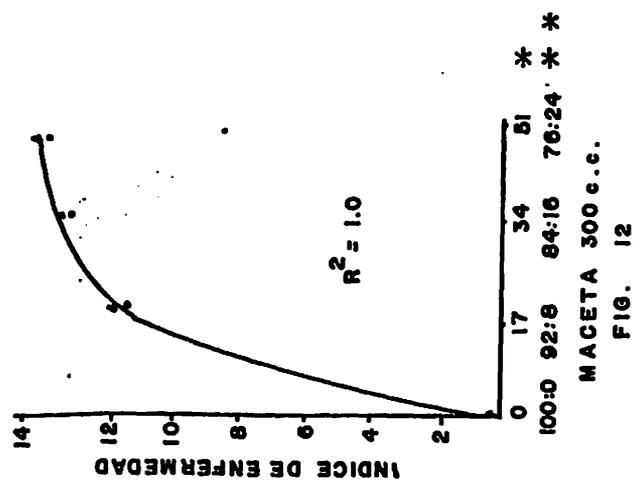
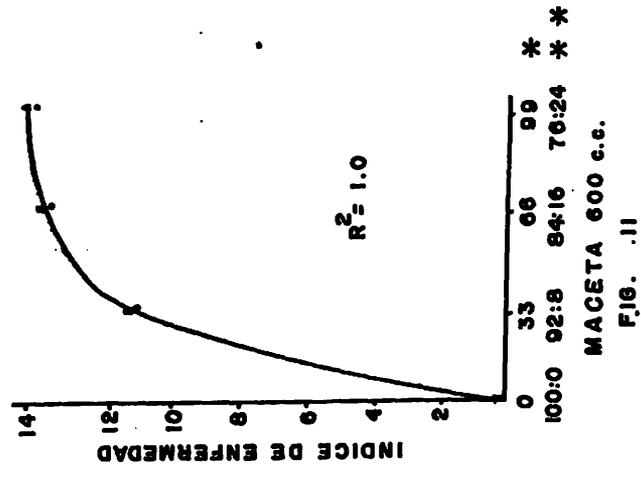
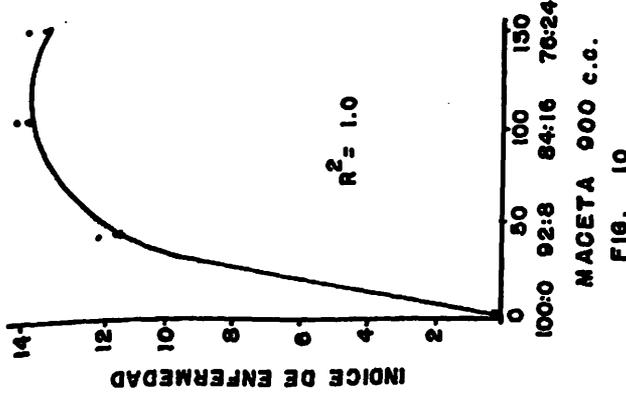
conforme se incrementó la dosis de *F. oxysporum* utilizada. Lo importante en este caso fue que independientemente del tamaño de la maceta se tuvo un índice de enfermedad similar con una misma proporción de inóculo. Así tenemos por ejemplo que la dosis de 50, 33 y 17 gramos por maceta de 900, 600 y 300 cc respectivamente, correspondió a la proporción por volumen de suelo-inóculo 92 a 8; y el índice de enfermedad observado fue 12.3, 11, y 10.9 para esos tamaños respectivamente. La misma tendencia en la respuesta fue observada para las otras dosis y proporciones (Figura 10, 11 y 12).

Con los tres tamaños de macetas utilizados, se obtuvieron respuestas cúbicas a la dosis de inóculo aplicado. Las curvas se ajustaron con las ecuaciones de predicción para cada tamaño de maceta; mismas que aparecen en el Cuadro 6.

Experimentos 3, 4 y 5

En estos tres ensayos se evaluaron 66 clones de *Fragaria chiloensis*, los cuales fueron inoculados en cada uno de los experimentos con 17, 34 y 51 g del sustrato infectado con *F. oxysporum*. El propósito fue determinar la dosis adecuada para discriminar entre material susceptible y resistente. Por el otro lado, utilizar la información del experimento con la dosis que haya resultado apropiada, para

* Grs. INOCULO POR MACETA ** PROP. SUELO - INOCULO (v/v).



Figuras 10 a 12. Indice de enfermedad con diferentes dosis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ragariae*, en tres tamaños de maceta (promedio de dos cultivares).

Cuadro 6. Cuadrados medios obtenidos a través de polinomios ortogonales para el índice de enfermedad con tres tamaños de maceta.

Capacidad de la maceta cc	Suma de cuadrados		Ecuación de predicción para $0 \leq X_i \leq 200$		
	Lineal	Cuadrático	Cúbico		
900	381**	156**	15**	-0.4375 + 0.407916666 X_i - 0.0038 X_i^2 + 0.000011333333 X_i^3	
600	380**	112**	9*	0.140625 + 0.5337746 X_i - 0.0071166067 X_i^2 + 0.000031594549 X_i^3	
300	367**	104**	12**	0.296875 + 1.061272 X_i - 0.0290873078 X_i^2 + 0.00026502775 X_i^3	

** , Significativo al . 01 de probabilidad

detectar las fuentes de resistencia. Para los objetivos de esta fase del trabajo, solo se presenta el índice de enfermedad registrado por los clones con las tres dosis.

Según los resultados presentados en el Cuadro 7 la dosis de 17 g, fue insuficiente para causar la enfermedad, puesto que los síntomas se presentaron ocasionalmente y erráticos aun en el cultivar Chandler, que es susceptible. En la dosis de 34 gramos se notó una diferenciación entre los clones, de los cuales 29 mostraron cierta resistencia. Sin embargo, fue con 51 g donde se pudieron definir claramente las distintas clases de susceptibilidad y resistencia a *F. oxysporum*. Por consiguiente dicha dosis se consideró apropiada, para identificar la resistencia en clones de *Fragaria chiloensis*. En párrafos posteriores se presentará el análisis de varianza para la dosis de 51 g.

Inoculación con el Filtrado Tóxico

Experimento 6

La toxina de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* mostró ser capaz de afectar el crecimiento de las plántulas de fresa. Los tratamientos inoculados, empezaron a mostrar una marchitez, aproximadamente una semana después de la aplicación de la toxina. Simultáneamente mostraron baja

Cuadro 7. Índice promedio de enfermedad en 66 clones de *Fragaria chiloensis* y en el cultivar Chandler, inoculados con tres dosis de *Fusarium oxysporum* en invernadero.

Localidad	Clones	Dosis de inóculo (g)		
		17	34	51
Montara	6-1	1.5	8.5	15.5
	6-5	4.75	12.0	12.75
	6-7	0	3.0	8.25
	6-11	0	6.25	2.25
Pilar Point	8-5	0	7.50	7.50
	8-8	0.5	7.50	7.50
Bean Hollow	10-1	0.75	5.50	17.75
	10-5	0	9.0	11.0
	10-6	0	7.0	6.75
	10.7	0.75	3.75	9.50
	10-10	1	5.0	11.0
	10-13	1	6.25	8.75
	10-15	0	7.25	5.0
Winemill	11-6	12.25	6.25	13.0
	11-8	0	7.25	8.75
Pigeon Point	12-16	10.25	15.5	15.75
	12-14	7.25	10.0	17.75
	12-15	0	11.0	12.75
	12-16	0.5	2.25	3.50
	12-17	3.0	2.75	10.0
Franklin Dune's	13-2	0.5	--	9.75
	13-7	0	2.75	4.25
	13-9	0	1.25	8.25

Cuadro 7.Continuación.

Localidad	Clones	Dosis de inóculo (g)		
		17	34	51
Franklin Dune's	13-10	0	3.75	7.25
	13-12	0	8.50	10.75
	13-14	0	5.75	10.0
	13-16	2.75	1.50	9.25
	13-18	0	2.25	7.25
	13-21	0	1.00	7.50
	13-26	0	2.00	3.25
	13-32	0	7.5	8.50
	13-36	1	8.0	10.50
	13-39	0	2.25	9.25
	13-40	0	8.5	6.0
	13-41	0	3.5	8.0
	13-42	0	4.25	9.25
	13-43	4.5	7.25	10.50
	13-44	0.75	5.5	2.75
	13-49	5.75	5.0	7.25
	13-51	0	4.0	4.25
	13-52	0	3.25	8.25
	13-53	5.5	8.25	13.25
13-65	0	2.0	8.0	
Franklin Dune's Road	14-1	2.0	4.0	11.25
	14-2	0	0	1.25
	14-3	0	0.5	1.0
	14-4	0	3.0	1.0
	14-6	2.5	2.0	13.0
	14-8	0	3.5	12.25
	14-9	1.5	11.5	12.25
	14-15	0	0.75	5.25
	14-18	0	6.75	6.25

Cuadro 7.Continuación.

Localidad	Clones	Dosis de inóculo (g)		
		17	34	51
Scott's Creek	15-1	0	2.0	6.50
	15-2	0	6.0	7.50
	15-3	0	0.5	2.50
	15-4	0	0	10.25
	15-5	2.0	2.50	4.50
	15-6	0	5.5	10.50
	15-7	0	1.0	5.50
	15-8	0	6.25	8.50
	15-10	0.0	2.75	3.25
	15-11	0	0.5	4.25
	15-12	0	1.25	7.25
	15-13	0	5.75	7.50
	15-14	0	2.0	1.50
	15-15	0.75	10.0	12.0
	Chandler (T)		3.25	16.0
\bar{X}		1.14	5.04	8.33

producción de raíces y éstas de poca longitud. A los 23 días después de la inoculación con el filtrado tóxico, las plantas presentaron un índice de enfermedad entre 3.5 y 4.0. Estas diferencias resultaron ser significativas respecto al testigo pero no hubo diferencias estadísticas entre las dosis evaluadas. Cuadros 8 y 9.

Cuadro 8. Cuadros medios para el índice de enfermedad causado por el filtrado tóxico de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*.

F.V.	G.l.	C.M.
Tratamiento	4	11.375**
Error	15	1.3666667
Total	19	
C.V. (%)	38.97	

** Significativo al .01 de probabilidad.

Cuadro 9. Índice de enfermedad en plantas de fresa del cultivar Tioga inoculadas con el filtrado tóxico de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*.

Tratamiento	Índice de enfermedad	Prueba de Duncan al 0.05%
Testigo	0	a
20 % filtrado tóxico	4.0	b
40% filtrado tóxico	3.75	b
60% filtrado tóxico	3.75	b
80% filtrado tóxico	3.50	b

Aunque el filtrado tóxico detuvo el crecimiento y causó la marchitez de la planta, estos síntomas sólo correspondieron parcialmente a los manifestados cuando se inoculó al suelo con el hongo. Con esta última técnica, además de todos los síntomas descritos anteriormente, también es común observar un amarillamiento de las plantas infectadas.

Búsqueda de Fuentes de Resistencia

Evaluación de Cultivares de Fresa

Entre el conjunto de cultivares de fresa, inoculados con *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*, la mayoría fue susceptible al patógeno. El método de inoculación al suelo provocó una rápida y consistente manifestación de la enfermedad, a tal grado que 15 días después de la aplicación del hongo, (primer conteo) fue notable la diferencia entre los tratamientos (Cuadro 10, 11 y 12).

Los cultivares que presentaron menor índice de daño fueron "SN" y Sunrise (Cuadro 11) y Guardian Brighton y Sparkle (Cuadro 12). Una característica fundamental de esos materiales fueron los índices bajos de enfermedad en la primera lectura y síntomas pocos severos en las lecturas posteriores. La muerte de las plantas no fue muy frecuente y

cuando ocurrió fue aproximadamente a los dos meses. El amarillamiento de las hojas, especialmente de los brotes producidos después de la inoculación, fue la excepción más que la regla, en los genotipos menos susceptibles. Lo opuesto es el caso común en los cultivares de mayor susceptibilidad.

Cuadro 10. Cuadrados medios de los análisis de varianza del índice de enfermedad de los experimentos 7 y 8.

F.V.	G.l.	C.M.
<u>Experimento 7</u>		
Tratamientos	16	10.281019**
Error Exp.	17	2.1875
		C.V. = 13.39%
<u>Experimento 8</u>		
Tratamientos	15	141.325*
Error Exp.	16	52.625
		C.V. = 21.94%
**,*; Significativo al .05 y .01 de probabilidad respectivamente.		

Entre el grupo de cultivares con mayores índices de enfermedad, estuvieron algunos de los que son o fueron comercialmente importantes en México como Tioga, Douglas Fresno, Fern, Pájaro, Solana, Selva y Chandler (Cuadros 11 y

Cuadro 11. Índice promedio de enfermedad en 17 cultivares de fresa, inoculados con *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* (Experimento 7).

Cultivar ¹	Índice de enfermedad ²	
SN	6.125	a ³
Sunrise	6.375	a
Apolo	9.625	b
Florida 90	9.875	b
Soquel	10.125	b
Titan	10.250	b
Honeoye	10.375	b
Tioga	11.000	bc
Douglas	11.375	bc
Fresno	12.000	bc
Sequoia	12.125	bc
Catskill	12.375	bc
Fern	12.500	bc
Pájaro	12.500	bc
Solana	12.750	bc
Florida Belle	14.000	bc
Earliglow	14.375	bc

1 El material vegetativo se sembró en vasos de 300 cc, 85 días antes de la inoculación.

2 Este valor es la suma de tres lecturas. Por ejemplo si la planta estuvo muerta en la primera lectura su índice sería $5+5+5=15$. El ensayo duró dos meses.

3 Prueba de rango múltiple de Duncan al 0.05%

Cuadro 12. Índice promedio de enfermedad en 16 cultivares de fresa inoculados con *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* (Experimento 8).

Cultivar ¹	Índice de enfermedad ²	
Guardian	4.0	a ³
Brighton	4.2	a
Sparkle	4.4	ab
Kent	5.3	abc
Redchief	5.7	abc
Sequoia	5.8	abc
Hood	5.9	abc
Redcoat	6.2	abc
Chandler	6.8	abc
Honeoye	7.3	abc
Selva	7.8	bc
Tribute	8.0	c
Totem	8.1	c
Surecrop	8.1	c
Midway	8.5	c
Tristar	8.7	c

1 El material vegetativo fue planta refrigerada, calidad certificada, importada de California, USA. Se inoculo al momento de sembrarla.

2 Este valor es la suma de tres lecturas. Por ejemplo si la planta estuvo muerta en la primera lectura su índice seria 5+5+5=15. El ensayo duro dos meses.

3 Prueba de rango multiple de Duncan al 0.05%.

12). En dichos genotipos, la enfermedad causó daños severos rápidamente (primer mes de la inoculación) y ello se reflejó en índices de enfermedad de 11 o más de un total posible de 15 (Cuadro 11.).

Aparentemente hubo índices mayores de enfermedad en el ensayo siete. Esto puede ser ilustrado con los valores alcanzados en dicho trabajo, por Sequoia y Honeoye. Esos resultaron mayores y particularmente en Sequoia, más del doble respecto al experimento 8 (Cuadro 11 y 12).

Inoculación en Clones de *Fragaria chiloensis*

Para fines de interpretación de los resultados, los clones se formaron en cinco grupos, de acuerdo con su índice de enfermedad. Estos grupos arbitrarios se compararon mediante contrastes y de esta manera se discriminó estadísticamente entre genotipos susceptibles y resistentes (Cuadro 13 y 14).

Así se estableció que los clones de *Fragaria chiloensis* tuvieron en general un mayor grado de tolerancia a *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*, que el cultivar Chandler (testigo) un indicativo de ello fue que de 66 clones inoculados, 54 presentaron un índice de enfermedad significativamente inferior al testigo. El índice de enfermedad límite, que fue menor al testigo, llegó hasta parte del grupo cuatro. Esto se demostró con el contraste c_1

Cuadro 13. Índice promedio de enfermedad en 66 clones de *F. chilensis* en comparación con Chandler.

Clones	Índice de enfermedad	Clones	Índice de enfermedad	Clones	Índice de enfermedad
<u>Grupo 1</u>		<u>Grupo 2</u>		<u>Grupo 3</u>	
14-3	2.0	10-15	10.0	13-65	16.0
14-4	2.0	14-15	10.5	13-41	16.0
14-2	2.5	15-7	11.0	13-9	16.5
15-14	3.0	13-40	12.0	6-7	16.5
6-11	4.5	14-18	12.5	13-52	16.5
15-3	5.0	15-1	13.0	13-32	17.0
13-44	5.5	10-6	13.5	15-8	17.0
13-26	6.5	13-18	14.5	11-8	17.5
15-10	6.5	13-10	14.5	10-13	17.5
12-16	7.0	15-12	14.5	13-39	18.5
13-51	8.5	13-49	14.5	13-16	18.5
15-11	8.5	15-2	15	13-42	18.5
13-7	8.5	8-5	15	10-7	19.0
15-5	9.0	8-8	15	13-2	19.5
		13-21	15	13-14	20.0
		15-13	15	12-17	20.0
				15-4	20.5
				13-43	21.0
				13-36	21.0
				15.6	21.0
				13-12	21.5

Cuadro 13.Continuación.

Clones	Indice de enfermedad	Clones	Indice de enfermedad	Clones	Indice de enfermedad
<u>Grupo 4</u>			<u>Grupo 5</u>		
10-15	22.0			Chandler	29.5
10-10	22.0			6-1	31.0
14-1	22.5			12-6	31.5
15-15	24.0			10-1	35.5
14-8	24.5			12-14	35.5
14-9	24.5				
6-5	25.5				
12-15	25.5				
14-6	26.0				
11-6	26.0				
13-53	26.5				

Cuadro 14. Análisis de varianza y contrastes para el índice de enfermedad promedio en 66 clones de fresa *Fragaria chiloensis*.

F.V.	G.l.	S.C.	C.M.	F. cal.	F _α
					0.05 0.01
Clones	66	2066.0522	31.303821	12.410**	1.54 1.84
C ₁ ¹	1	12.250	12.250	4.857*	3.99 7.04
C ₂	1	7.563	7.563	2.998ns	3.99 7.04
C ₃	1	228.647	228.647	90.647**	3.99 7.04
C ₄	1	12.000	12.000	4.757*	3.99 7.04
E.E.	67	169.0	2.5223881		
Total	133	2235.0522			

C.V. = 19.07%

1 Contrastes:

C₁ = Clon 14-1 vs Chandler

C₂ = Clon 15-15 vs Chandler

C₃ = Clones 14-3, 14-4, 14-2, 15-14, 6-11, 15-3, 13-44, 13-26, 15-10, 12-16, 13-31, 15-11, 13-7 y 15-5 vs Chandler.

C₄ = Clones 10-1, 12-14 vs Chandler

donde el clon 14-1 fue inferior al testigo; pero no así el clon 15-15 en el contraste c_2 que fue estadísticamente igual a Chandler. (Cuadro 13 y 14).

Con el mismo procedimiento anterior se analizaron los mejores 54 clones. De aquí se encontró que el grupo uno, formado por 14 clones podría contener a los genotipos más resistentes a *F. oxysporum* F. sp. *fragariae*. La superioridad estadística de ese grupo, respecto a los 40 clones y sobre el grupo cinco es inferida con el contraste tres (Cuadros 13 y 14). De igual manera se determinó que los clones 10-1 y 12-4 fueron más susceptibles a Chandler. Contraste cuatro (Cuadros 13 y 14).

Unas características comunes presentadas por los 14 clones resistentes fue el nulo o bajo índice de enfermedad en las primeras lecturas, generalmente ausencia de marchitez, poca reducción del crecimiento, amarillamientos ligeros o ausentes de las hojas. Adicionalmente ciertos clones como 14-3, después de haber manifestado síntomas de la enfermedad en determinada fecha, en la siguiente lectura se mostró asintomático. Estas variaciones temporales en el índice de enfermedad son ilustradas en la Figura 13.

De las ocho localidades de la costa de California de donde se colectaron muestras de clones de *F. chiloensis*, en cinco de ellas se identificaron clones resistentes. El

porcentaje de genotipos resistentes entre las localidades varió del 17.4 al 35.7 por ciento. En Franklin Dune's Road y en Scott's Creek se encontraron los mayores porcentajes de plantas resistentes. En Pilar Point, Bean Hollow y Winemill no hubo ningún material resistente. Finalmente tenemos que de 66 clones de *F. chiloensis* inoculados con *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*, 14 fueron resistentes, lo que equivale al 21.21 por ciento (Cuadro 15).

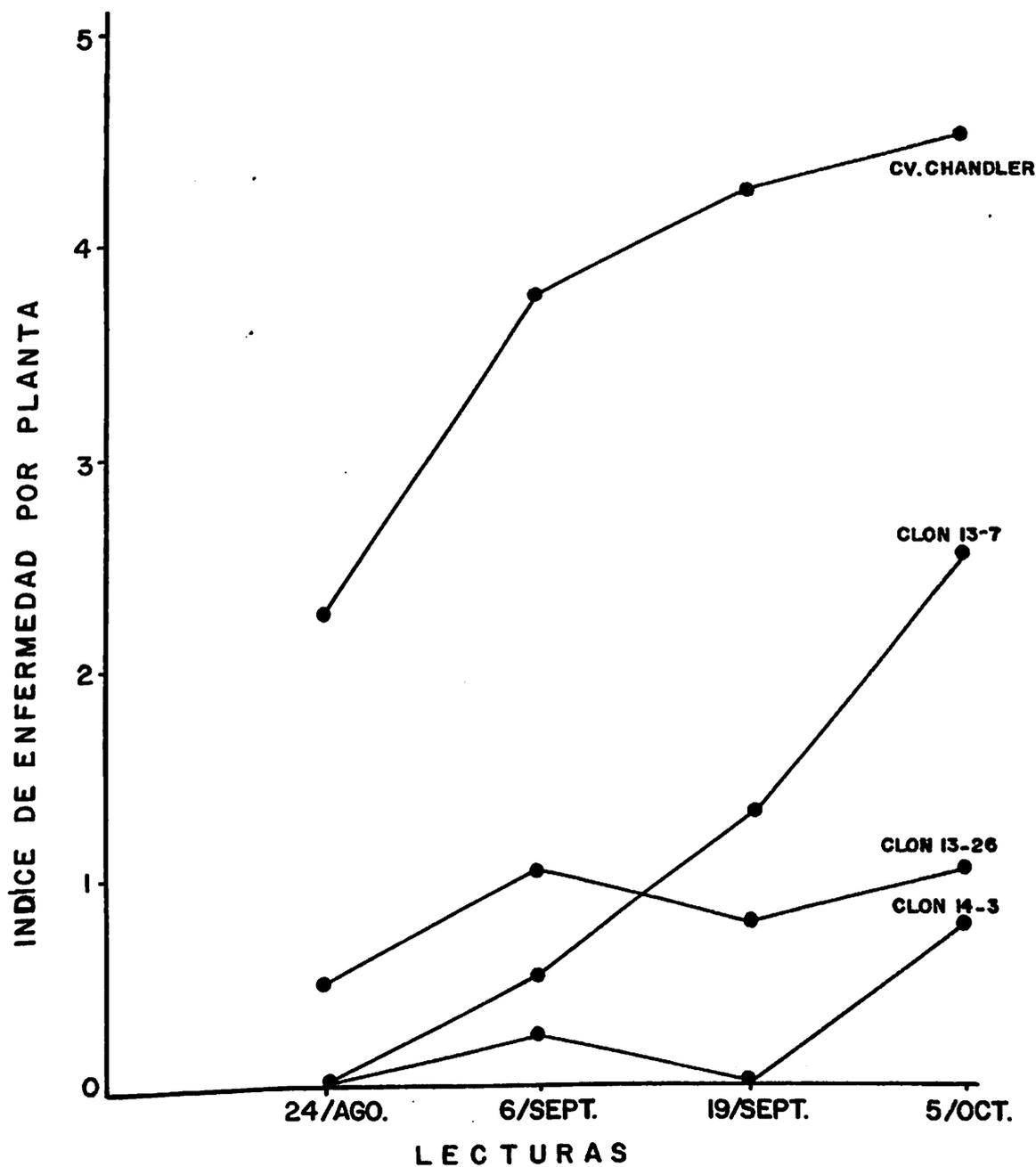


Figura 13. Variación temporal en el índice de enfermedad de tres clones de *Fragaria chiloensis* resistentes a *F. oxysporum* y el cultivar susceptible Chandler.

Cuadro 15. Cantidad de clones de *F. chiloensis* de las distintas localidades que resultaron resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*.

Localidades	Clones evaluados	Clones resistentes	% de clones resistentes
Montara (6) ¹	4	1	25
Pilar Point (8)	2	0	0
Bean Hollow (10)	7	0	0
Winemill (11)	2	0	0
Pigeon Point (12)	5	1	20
Franklin Dune's (13)	23	4	17.4
Franklin Dune's Road (14)	9	3	33.0
Scott's Creek (15)	14	5	35.7
Total de clones	66	14	21.21%

¹ Numero usado para identificar a las localidades

DISCUSION

En condiciones similares de cultivar (Chandler) y dosis (100 g) la severidad de *F. oxysporum* fue mayor en el experimento dos. Respecto a los ensayos uno y ocho. Si bien entre ellos hubo diferencias en fechas de plantación y condiciones ambientales, probablemente su contribución a la variación observada no fue importante. Una posible causa sería el grado de madurez de la planta utilizada. En este sentido las plantas de mayor a menor madurez fueron las de los experimentos 8, 1 y 2. En ese mismo orden la severidad de *Fusarium* fue de menor a mayor. Al respecto Kodama (1974) observó una mayor y más frecuente tasa de infección con *F. oxysporum* con plantas de fresa con poca madurez. Dodd (1980) mencionó que el bajo contenido de carbohidratos en el tallo del maíz favoreció la invasión por *Fusarium moniliforme*.

Si la anterior hipótesis es correcta, la dosis de inóculo de *F. oxysporum* para inducir un determinado nivel de enfermedad, dependerá de la madurez de la planta. De no considerarse esta situación, podrían considerarse los siguientes riesgos:

a). Estimación incorrecta de la dosis para buscar fuentes de resistencia.

b). Si las fuentes de resistencia se buscan en plantas maduras, su detección probablemente se dificultará y quedará la duda de si los materiales resistentes realmente lo serán cuando su contenido de carbohidratos sea bajo.

Los clones de *F. chilensis* fueron evaluados con plantas inmaduras. Esta es la principal característica del sistema de plantación "Directa Verde", usado en México. En esas condiciones los genotipos resistentes de *F. chilensis* soportaron hasta 51 gramos de inóculo. Consecuentemente es razonable suponer que si en un futuro se pretende afinar la dosis, aquel sería el límite del rango a evaluar.

En las macetas de distinto tamaño, pero con una misma proporción de suelo a inóculo, el índice de enfermedad fue semejante. Esto sugiere que lo importante es mantener esa relación crítica para inducir la enfermedad. Por consiguiente desde el punto de vista de trabajo, es mas conveniente utilizar macetas de 600 cc. Con ese tamaño se hace un uso mas eficiente del inóculo y es posible trabajar con una cantidad grande de genotipos. Con la maceta de 300 cc se incrementa la eficiencia en el uso del inóculo sin embargo, es un tanto riesgoso ese tamaño, ya que por su poca

capacidad para almacenar humedad las plantas están expuestas a mayor estrés de agua.

Los seis cultivares del ensayo uno presentaron el mismo porcentaje de daño en las raíces, a cada una de las dosis de inóculo, pero no fue así con el daño en la corona. Esto podría indicar que el sistema radical en todas, fue igualmente susceptible. En cambio podría haber diferencias en susceptibilidad en la corona. Factores de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, en la raíz y el tallo del algodón han sido señaladas por Bugbee y Sappenfield (1968).

En el transcurso de los experimentos se observó que aun en las plantas testigos se presentó *Fusarium* en la corona y casi nada en las raíces. A pesar de eso las plantas no tuvieron síntomas externos de la enfermedad, de ahí se podría deducir que, para la manifestación de la enfermedad es mas importante el daño en la raíz que en la corona.

Aun en las variedades susceptibles, con las dosis de inóculo mas altas (150-200 g por maceta) hubo plantas que sobrevivieron. Una probabilidad es que hubieran escapado al hongo, otra que algún factor las haya hecho menos susceptibles. Sobre el particular Michail *et al.* (1980) encontraron que las plantas de fresa infectadas con *F. oxysporum* revelaron la falta de aminoácidos como la cisteína, ácido aspártico y otro compuesto no identificado.

En plantas sanas si se encontraron esos aminácidos. Concluyeron que dichos compuestos son consumidos durante la infección ya que podrían ayudar al desarrollo del hongo.

Los metabolitos producidos por *F. oxysporum*, f. sp. *fragariae* aplicados *in vitro* a plántulas de fresa, reprodujeron parcialmente los síntomas característicos de la enfermedad. No obstante que los resultados fueron de un solo cultivar se puede inferir que dicho hongo produce toxinas que perturban la fisiología de la planta. A la fecha se desconoce si hay información que mencione lo antes dicho para el caso particular de la fresa. En otros cultivos como algodón y jitomate (Gaumann, 1957) y maíz (Scott y Futrell, 1970) se ha comprobado el papel que desempeñan las toxinas de *Fusarium* en el desarrollo de la enfermedad. Según Gaumann (1957) en el jitomate, tanto las variedades resistentes y susceptibles a *Fusarium* son susceptibles *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.

Como el filtrado tóxico fue incapaz de causar completamente los síntomas de la enfermedad se puede suponer que el hongo también tiene un papel en la expresión de la sintomatología. Información que apoya esta hipótesis fue presentada por Moon y Chung (1986). Ellos señalaron que la obstrucción del xilema por las hifas y los conidios fueron

un factor importante en la inducción de la enfermedad.

A la fecha se dispone de información que mencionan fuentes de resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* en cultivares de fresa (*Fragaria x ananassa*) (Cho y Moon, 1984; Kim et al., 1982; Kodama, 1974 y Yoshino y Hashimoto, 1978). Pero no en clones de *F. chiloensis*.

Entre los 31 cultivares de fresa evaluados para resistencia a *Fusarium* la mayoría resultaron susceptibles, inclusive la colección de cultivares de California, excepto, probablemente, Brighton. Algunas de las más susceptibles fueron Tioga y Catskill. Estas mismas así las caracterizaron Cho y Moon (1984) en Corea. De 22 cultivares americanos sometidos a pruebas de resistencia a *Fusarium* por diversos investigadores en Japón y Corea solamente Empire y America (Marshall) han sido resistentes o moderadamente resistentes (Cho y Moon, 1984; Kim et al., 1982, Kodama, 1974 y Yoshino y Hashimoto, 1978).

A reserva de comprobarlo en ensayos posteriores se considera que los genotipos "SN", Sunrise, Guardian, Brighton y Sparkle, tienen cierta tolerancia a *Fusarium*. Porque los cultivares reúnen algunas ventajas agronómicas si en ellos se encontraran fuentes de resistencia, entonces su incorporación a los cultivares susceptibles presentaría menos dificultades especialmente si el tipo de herencia

fuera poligénico. Por consiguiente se comprende la importancia de evaluar una mayor cantidad de cultivares .

Por su respuesta a *Fusarium* los clones silvestres de *F. chiloensis* demostraron una alta variabilidad genética. Hubo distintos grados de enfermedad, desde resistentes hasta susceptibles entre el germoplasma de las localidades como dentro de ellas. En algunos de esos sitios se han identificado plantas resistentes a *verticillium* (Bringhurst et al., 1966, 1977).

En las localidades de Franklin Dune's Road y Scott's Creek, Cal. USA, se tuvieron los mayores porcentajes de clones resistentes, no obstante en algunos también se detectaron susceptibles.

Del grupo de clones de *F. chiloensis* resistentes a *Fusarium*, destacaron por su más bajo índice de enfermedad los de Franklin Dune's Road. Adicionalmente todos los genotipos resistentes así como algunos susceptibles, presentaron bastante resistencia a deficiencia de fierro en el vivero . Este es un problema serio, cuando los cultivares introducidos de California se cultivan en ciertas zonas de Irapuato, Gto. (Dávalos et al., 1985).

En los cultivares de California se han incorporado genes de *F. chiloensis* de la costa del mismo estado. Se

introdujeron a partir de los híbridos interespecíficos producidos por Albert F. Etter, con la finalidad de transferir resistencia a ciertos virus y mejorar la adaptación (Bringhurst *et al.*, 1977; Bringhurst y Voth, 1984 y Wilhelm y Sagen, 1974). Por los resultados observados en los clones usados no había resistencia a *F. oxysporum* o fue excluida en el proceso del mejoramiento.

Como plantas silvestres que son, los clones de *F. chiloensis* tienen muchas desventajas agronómicas, por consiguiente al usarlos en mejoramiento se requiere mucho tiempo y una selección cuidadosa a fin de generar cultivares con características aceptables. Scott *et al.*, 1984, mencionaron un lapso mínimo de tres generaciones para obtener cultivares de fresa resistentes a *Phytophthora fragariae*.

CONCLUSIONES

El método de inoculación al suelo fue eficiente para inducir la enfermedad causada por *F. oxysporum* en la fresa.

El daño causado por *Fusarium* fue mayor con las dosis más altas, no obstante la curva de daño de la enfermedad mostró mayores incrementos proporcionales con las dosis más bajas y una tendencia a menores incrementos con las dosis mayores.

La severidad de *Fusarium* varió según la madurez de la planta inoculada. En plántulas de mediana madurez se necesitaron dosis de 100 g de inóculo (porcentaje por volumen 84 a 16) para secar a más del 50 por ciento de las plantas. En cambio con plantas de menos madurez se ocuparon dosis de 50 g (porcentaje 92 a 8)

Con tres diferentes tamaños de maceta se obtuvieron índices similares de enfermedad con la condición de que se mantuviera el mismo porcentaje de inóculo por volumen de suelo.

En plántulas inmaduras de *F. chiloensis* la dosis adecuada para discriminar entre genotipos resistentes y susceptibles fueron 51 g de inóculo (porcentaje 88 a 12).

El hongo *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* produce metabolitos que causan parcialmente los síntomas de la enfermedad.

En 21 cultivares de fresa evaluados para resistencia a *Fusarium* se identificaron, preliminarmente, cinco cultivares tolerantes.

En 66 clones de *F. chiloensis* sometidos a inoculaciones con *Fusarium*, 14 de ellos se consideraron resistentes.

El mayor porcentaje de clones de *F. chiloensis* resistentes a *Fusarium* se encontraron en las muestras procedentes de las localidades de Scott's Creek y Franklin Dune's Road.

RESUMEN

Durante los años de 1988 a 1989 se efectuaron experimentos en cultivares y clones de fresa para investigar: a) La dosis óptima de *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* para diferenciar entre germoplasma resistente y susceptible, b) establecer si dicho hongo produce metabolitos tóxicos a la planta y c) identificar fuentes de resistencia en cultivares y clones silvestres.

En los siete cultivares evaluados las dosis de *Fusarium* para inducir un alto nivel de enfermedad, fluctuaron en los porcentajes 92 a 8 y 84 a 16 por volumen de tierra e inóculo de *Fusarium* respectivamente. Esta variación en la dosis se atribuyó a que hubo diferencia en la madurez de la planta inoculada. Para los clones de *Fragaria chiloensis* la dosis adecuada fue el porcentaje 88 a 12, tierra a inóculo respectivamente.

En un ensayo realizado con los cultivares Chandler y Fresno, donde se compararon diferentes tamaños de maceta para la inoculación, se encontró que diferentes dosis por peso, pero equivalentes en porcentaje de acuerdo con el tamaño de la maceta, resultaron en índices de enfermedad

semejantes.

El filtrado tóxico de *Fusarium* al inocularlo *in vitro* a plantas de fresa del cultivar Tioga, reprodujo, parcialmente, los síntomas de la enfermedad.

De los 31 cultivares inoculados con el hongo, con el porcentaje de 84 a 16, los siguientes se clasificaron preliminarmente como tolerantes: "SN", Sunrise, Brighton, Guardian y Sparkle.

Entre los 66 clones de *F. chiloensis*, 54 tuvieron un índice de enfermedad inferior al cultivar Chandler. Sin embargo el grupo de clones resistentes fueron 14, lo cual correspondió al 21.21 por ciento del total. De las ocho localidades de California, de las que se colectaron clones de *F. chiloensis*, en cinco de ellos hubo plantas resistentes, en porcentajes que variaron del 17.4 al 35.7. Las localidades que tuvieron mayor porcentaje de clones resistentes, por orden decreciente fueron: Scott's, Creek, Franklin Dune's Road, Montara, Pigeon Point y Franklin Dune's.

Sin embargo del grupo de 14 clones resistentes, los procedentes de Franklin Dune's Road, fueron los de mayor resistencia.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 1988. *Fitopatología*. Limusa. México p. 756.
- Awuah, R. T., J. W. Lorbeer and L. A. Ellerbrock. 1986. Occurrence of *Fusarium* yellows of celery caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* race 2 in New York and its control. *Plant Disease* 70(12): 1154-1158 USA.
- Beckman, C. H. 1968. An evaluation of possible resistance mechanisms in broccoli, cotton and tomato to vascular infection by *Fusarium oxysporum*. *Phytopatology* 58: 429-433. USA.
- Booth C. 1971. *The Genus Fusarium*. C. M. I. Kew, Surrey, England. 237 p.
- Bringhurst, R. S. and V. Voth. 1958. Solana strawberry. *California Agriculture* 12(1): 13. USA.
-
1961. New strawberry varieties, Fresno, Torrey, Wiltguard. *California Agriculture* 15(6): 11-12. USA.

1979. California
strawberry cultivars. Past, present and prospects.
Fruit Varieties Journal 33(2): 45-48. USA.

1980. Six new strawberry
varieties released. California Agriculture 34(2)
12-15 USA.

.1984. Breeding octoploid
strawberries. Iowa State Journal of Research
58(4):371-381. USA.

Bringhurst, R. S., J. F. Hancock and V. Voth. 1977. The
beach strawberry, an important natural resource.
Calif. Agr. 31(9):10. USA.

Bringhurst, R. S., S. Wilhelm and V. Voth. 1966.
Verticillium wilt resistance in natural populations
of *fragariae chiloensis* in California. Phytopathology
56: 219-222. USA.

Brooks, R.M. and H.P. Olmo. 1972. Register of new fruit and
nut varieties. 2nd. Edition. University of California
Press. USA. 708 p.

. 1983. Register of new fruit and
nut varieties. List 33. HortScience 18(2):160-161.
USA.

_____ . 1984. Register of new fruit and nut varieties. List 34. HortScience 19(3):362. USA.

Bugbee, M. W. and W.P. Sappenfield. 1968. Varietal reaction of cotton after stem or root inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Phytopathology 58:212-214. USA.

Castro F., J. y P.A. Davalos G. 1984. Etiología de la "secadera" de la fresa en el área de Irapuato, Gto. Memorias XII Congreso Nacional de Fitopatología. Resumen 21. Guanajuato, Gto. México.

Cho, C.T. and B.J. Moon. 1984. Studies on the wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in Korea. Korean J. Plant. Prot 23(2): 74-81. Korea.

Craig, D.L., L.E. Alders and G.W. Bishop. 1982. Kent strawberry. Can. J. Plant Sci. 62:819-822. Canada.

Dana, M.N. 1981. Strawberry plant and its environment in: Childers, N.F. (Ed.) The strawberry; cultivars to marketing. Horticultural Publications. Gainesville, Fl. USA. 514 P.

- Darrow, G.M. 1966. The strawberry. Holt, Rinehart and Winston. NY. USA. 445 p.
- Dávalos G., P.A., J.A. González M., J. Castro F., G. Díaz C. y A. Arévalo V. 1985. Guía para cultivar fresa en Irapuato. Folleto para productores Num. 14. SARH-INIA-CIAB-CAEB. Celaya, Gto., México. 26 p.
- Dodd, J.L. 1980. The role of plant stresses in development of corn stalk rots. Plant Disease. 64(6):533-537. USA.
- Draper, A.D., G.J. Galleta and H.J. Swartz. 1981. Tribute and tristar everbearing strawberries. HortScience 16(6):794-795. USA.
- Escobedo B., L. y G. Olivares S. 1987. Metodología para evaluar *in vitro* genotipos en base a su resistencia a *Fusarium moniliforme*. Agraria 3(2):171-186. México.
- Flores P., A. 1977. Principales enfermedades fungosas bacterianas en el cultivo de las fresas en Irapuato, Guanajuato. Tesis Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. México. 49 p.
- Gäumann, E. 1957. Fusaric acid as a wilt toxin. Phytopathology. 47:342-357. USA.

Hart, L.P. and R.M. Endo. 1978. The reappearance of *Fusarium* yellows of celery in California. Plant Disease Reporter. 62(2):138-142. USA.

_____ . 1981. The effect of time of exposure to inoculum, plant age, root development, and root wounding on *Fusarium* yellows of celery. Phytopathology. 71(1):77-79. USA.

Hida, K. and M. Ashizawa. 1985. Breeding of radishes for *Fusarium* resistance. Jarq. 19(3):190-195. Japan.

Honda, F., T. Matsuda, M. Morishita, Y. Iwanaga and H. Fushihara. 1981. Studies on the breeding of new strawberry variety "Terunoka". Bull Vegetable and ornamental crops Research No. 5:1-13. Japan.

Katan, J. 1971. Symptomless carriers of the tomato *Fusarium* wilt pathogen. Phytopathology. 61:1213-1217 p. USA.

Kim, C.H., H.D. Seo. W.D. Cho and S.B. Kim. 1982. Studies on varietal resistance and chemical control to the wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum*. Korean J. Plant Prot. 21(2):61-67. Korea.

Kodama, T. 1974. Characters of strawberry yellows caused by *Fusarium* and difference of its effect on the grown

varieties. Bull. Nara Agric. Exp. Stn. No. 6:68-75.
Japan.

Maas, J.L. 1984. Compendium of strawberries diseases.
American Phytopathological Society. USA. 138 p.

Martínez A., J. y A.O. del Río M. 1975. Principales
enfermedades de la fresa en el Valle de Zamora, Mich.
Folleto Misceláneo No. 27. CIAB-INIA-SAG. 22 p.
México.

Michail, S.H., A.M. Tarabeih, M.A. Madkour and M.H. Aly.
1980. Fungi associated with strawberry root-rot and
the role of certain amino acid in their
pathogenicity. Egypt. J. Phytopathol.
12(1-2):107-112. Egypt.

Moon, B.J. and H.S. Chung. 1986. Histopathology of
strawberry plant infected with *Fusarium oxysporum* f.
sp. *fragariae*. Korean J. Plant Pathol. 2(3):158-164.
Korea.

Nelson, P.E. and S. Wilhelm. 1957. Some anatomic aspects of
the strawberry root. Hilgardia. 26(15):631-642. USA.

Nene, Y.L. and M.P. Haware. 1980. Screening chickpea for
resistance to wilt. Plant Disease. 64(4):379-380.
USA.

- Roberts, D.D. and J.M. Kraft. 1971. A rapid technique for studying *Fusarium* wilt of peas. *Phytopathology*. 61:342-343. USA.
- Russell, G.E. 1978. Plant breeding for pest and disease resistance. Butterworths. England. 485 p.
- Scott, D.H., A.D. Draper and G.J. Galleta. 1984. Breeding strawberries for red stele resistance. *Plant Breeding Reviews*. 2:195-214. USA.
- Scott, G.E. and M.C. Futrell. 1970. Response of maize seedlings to *Fusarium moniliforme* and a toxic material extracted from this fungus. *Plant Disease Reporter*. 54(6):483-486. USA.
- Snedecor, G.W. y W.G. Cochran. 1984. *Métodos Estadísticos*. CECSA. México. 703 p.
- Steel R., G.D. y J.H. Torrie. 1986. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2 ed. Mc Graw Hill. México. 622 p.
- Stephens, C.T., R.M. de Vries and K.C. Sink. 1989. Evaluation of asparagus species for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* and *F. moniliforme*. *HortScience*. 24(2):365-368. USA.

- Takeuchi, S., Y. Okamoto, T. Yokoyama and H. Hagiwara. 1985. Condiogenous cells of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. Trans. Mycol. Soc. Japan. 26:343-348. Japan.
- Wilhelm, S. 1984. Fungal diseases of the root and crown. In: Mass J.L. (ed.) Compendium of strawberry Disease. The Amer. Phytopathological Society. USA. 138 P.
- Wilhelm, S. and R.D. Nelson. 1981. Fungal diseases of strawberry in: Childers N. F. (Ed.) The strawberry; cultivars to marketing. Horticultural Publications, Gainesville Fl. USA. 514 P.
- Wilhelm, S. and J.E. Sagen. 1974. A history of the strawberry. University of California. USA. 298 p.
- Williams, P.H. 1979. How fungi induce disease in: Horsfall J.G. and E. B. Cowling (Eds.). Plant Disease, an advanced treatise, Vol. 4. Academic Press, New York. USA. 466 p.
- Winks, B.L. and Y.N. Williams. 1965. A Wilt of strawberry caused by a new form of *Fusarium oxysporum*. Queensland Journal of Agricultural and Animal Science. 22:475-479. Australia.

Yoshino, M. and K. Hashimoto. 1978. Studies on ecology of strawberry yellows and its control. Bull Saitama Hort. Exp. Stn No. 7:13-34. Japan.

APENDICE A

Cuadro A.1. Origen de los cultivares evaluados para resistencia a *F. Oxysporum f. sp. fragariae*.

Cultivar (origen)	Año de introducción	Progenitores
Apolo (NC, USA)	1970	N.C. 1759 x N.C. 1729
Atlas (NC, USA)	1970	N.C. 1759 x Albrition
Brighton (Cal. USA)	1979	Cal. 65.65-601 x Tufts
Catskill (NY, USA)	1934	Marshall x Howard 17
Douglas (Cal. USA)	1979	64.57-108 (Tioga x Sequoia) x Tufts
Earliglow (MD, USA)	1975	Md-US 2359 x Md-US 2713
Florida Belle (Fl, USA)	1952	Missionary x ?
Fresno (Cal, USA)	1961	Lassen x Cal 42.8-16
Guardian (MD, USA)	1969	N.C. 1768 x Surecrop
Honeoye (NY, USA)	1979	Vibrant x Holiday
Hood (OR, USA)	1965	US-ORE 2315 x Puget Beauty
Kent (N.S, CAN)	1981	K68-58 (Redgauntlet x Tioga) x Raritan
Midway (MD, USA)	1960	Dixieland x Temple
Pajaro (Cal, USA)	1979	Sequoia x 63.7-101
Redchief (MD, USA)	1968	N.C. 1768 x Surecrop
Redcoat (ONT, CAN)	1957	Sparkle x Valentine
Selva (Cal, USA)	1983	Cal 70.3-117 x Cal 71.98-605
Sequoia (Cal, USA)	1968	Cal 52.16-15 x 51s1-1
Solana (Cal, USA)	1957	Cal 177.19 x Cal 103.22
Soquel (Cal, USA)	1983	Cruz x Aiko
Sparkle (NJ, USA)	1942	Fairfax x Aberdeen
Sunrise (MD, USA)	1964	US-4152 x Stelemaster

Cuadro A.1. Continuación.

Cultivar (origen)	Año de introducción	Progenitores
Sparkle (NJ, USA)	1942	Fairfax x Aberdeen
Sunrise (MD, USA)	1964	US-4152 x Stelemaster
Surecrop (MD, USA)	1956	Fairland x Md-US-1972
Tioga (Cal, USA)	1963	Lassen x Cal 42.8-16
Titan (NC, USA)	1972	N.C. 1767 x Albritton
Totem (BC, CAN)	1971	Puget Beauty x Northwest
Tribute (MD, USA)	1981	E.B. 18 x MD-US 4258
Tristar (MD, USA)	1981	E.B. 18 x MD-US 4258
SN	?	?

Cuadro A.2. Comparación a través de contrastes del índice de enfermedad de algunos clones o grupos de clones de *F. chiloensis* en relación al cultivar Chandler.

Contrastes	31.0=6-1	25.5=6.5	16.5=6.7	4.5=6-11	15.0=8-5	15.0=8-8	35.5=10-1	22.0=10-5
C ₁ = 14-1 vs Chandler	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₂ = 15-5 vs Chandler	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₃ = 14-3, 14-4...15,5 vs 10-15, 10, 5...15-13	0	0	0	16	-14	-14	0	-
C ₄ = 10-1, 12-4 vs Chandler	0	0	0	0	0	0	1	0
C ₅ = 14-3, 14-4, 14-2, 15-14 vs Chandler	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₆ = 6-11, 15-3, 13,44, 13-26, 15-10, 12-16, 13-51, 15-11, 13-7, 15-5 vs Chandler	0	0	0	1	0	0	0	0
C ₇ = 13-65, 13-41, 13-9, 6-7, 13-52...13-36, 15-6 y 13-12 vs Chandler	0	0	1	0	0	0	0	0

*,**, Significativo al .05 y .01 de probabilidad respectivamente
ns, No significativo.

Cuadro A.2.Continuación

Contrastes	13,5=10-6	19,0=10-7	22,0=10-10	17,5=10-13	10,0=10-15	26,0=11-6	17,5=11-8	31-5=12-6	35,5=12-14	25,9=12-17	17,0=12-16	20,0=12-17	19,5=13-2	8,5=13-7
C1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C3	-14	0	0	0	-14	0	0	0	0	0	16	0	0	16
C4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
C7	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0

Cuadro A.2.Continuación

Contraste	μ 16.5=13-9	14.5=13-10	21.5=12-12	20.0=13-14	18.5=13-16	14.5=13-18	15.0=13-21	6.5=13-26	17.0=13-32	21.0=13-36	18.5=13.39	12.0=13-40	16.0=13-41	18.5=13-42
C ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₃	0	-14	0	0	0	-14	-14	16	0	0	0	-14	0	0
C ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₅	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₆	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
C ₇	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1

Cuadro A.2.Continuación.

Contrastes	21.0=13-43	5.5=13-44	14.5=13.49	8.5=13.51	16.5=13-52	26.5=13-53	16.0=13-65	22.5=14-1	2.5=14-2	2.0=14-3	2.0=14-4	26.0=14-6	24.5=14-8	24.5=14.9
C ₁	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
C ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₃	0	16	-14	16	0	0	0	0	16	16	16	0	0	0
C ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₅	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
C ₆	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₇	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Cuadro A.2.Continuación.

Contrastes	10.5=14-15	12.5=14-18	13.0=15-1	15.0=15-2	5.0=15-3	20.5=15-4	9.0=15-5	21.0=15-6	11.0=15-7	17.0=15-8	6.5=15-10	8.5=15-11	14.5=15-12	15.0=15-13
C ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₃	-14	-14	-14	-14	16	0	16	0	-14	0	16	16	-14	-14
C ₄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₅	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C ₆	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0
C ₇	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0

Cuadro A.2.Continuación.

	3.0=15-14	24.0=15-15	29.5=Chandler	$\Sigma CK_i Y_i.$	$r \Sigma CK_i^2$	$SCC_k = \frac{(\Sigma CK_i Y_i.)^2}{r \Sigma CK_i^2}$	$F_c = \frac{SCC_k}{CME}$
C ₁	0	0	-1	-7	2x2 = 4	12.250	4.857*
C ₂	0	1	-1	-5.5	2x2 = 4	7.563	2.998ns
C ₃	16	0	0	-1753	2x6720 = 13440	228.647	90.647**
C ₄	0	0	-2	12	2x6 = 12	12.000	4.757*
C ₅	1	0	-4	-108.5	2x20 = 40	294.306	116.677**
C ₆	0	-10		-225.5	2x10 = 220	231.138	91.634**
C ₇	0	0	-21	-230.0	2x462 = 924	57.251	22.697**

Cuadro A.3. Algunas características agronómicas sobresalientes en los 66 clones de *Fragaria chiloensis* evaluados para resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*.

Localidad y Clones	Indice de deficiencia		
	Fierro ¹	Bajas Temp. ²	Vigor ³
Montara			
6-1	0	1	3
6-5	1	2	3
6-7	1	2	3
6-11	0	1	3
Pilar Point			
8-5	2	1	2
8-8	0	2	3
Bean Hollow			
10-1	0	2	3
10-5	1	2	4
10-6	0	2	3
10-7	1	2	4
10-10	1	2	3
10-13	0	2	4
10-15	1	2	3
Winemill			
11-6	2	2	2
11-8	1	1	2
Pigeon Point			
12-6	1	2	3
12-14	2	2	3
12-15	1	2	3
12-16	0	1	2
12-17	1	2	2

Cuadro A.3.Continuación.

Localidad y Clones	Indice de deficiencia		
	Fierro ¹	Bajas Temp. ²	Vigor ³
Franklin Dune's			
13-2	3	1	3
13-7	0	2	4
13-9	0	1	2
13-10	1	1	1
13-12	0	0	2
13-14	0	2	3
13-16	1	2	2
13-18	1	2	1
13-21	0	1	3
13-26	1	1	3
13-32	2	1	2
13-36	0	2	3
13-39	1	1	2
13-40	0	1	3
13-41	0	1	3
13-42	1	2	2
13-43	3	-	3
13-44	2	3	2
13-49	1	2	3
13-51	4	1	1
13-52	0	2	3
13-53	3	1	2
13-65	0	1	1
Franklin Dune's Road			
14-1	1	2	2
14-2	1	1	3
14-3	0	1	3
14-4	1	1	4
14-6	0	1	2
14-8	0	2	3

Cuadro A.3.Continuación.

Localidad y Clones	Indice de deficiencia		
	Fierro ¹	Bajas Temp. ²	Vigor ³
Franklin Dune's Road			
14-9	1	2	3
14-15	1	1	4
14-18	1	1	1
Scott's Creek			
15-1	1	2	3
15-2	1	1	3
15-3	0	1	4
15-4	0	1	4
15-5	1	2	3
15-6	0	1	3
15-7	0	1	4
15-8	0	0	4
15-10	1	1	3
15-11	3	1	2
15-12	0	2	3
15-13	0	1	3
15-14	0	2	4
15-15	1	1	2

1. Indice de 0 a 4 = 0= Todas las hojas verdes
 1= Síntomas ligeros, menos del 25%
 2= Clorosis entre el 25 y 50 %
 3= Clorosis mayor del 50% y menos del 75%
 4= Clorosis mayor al 75%.

2. Indice de 0 a 4 = 0= Ausencia de daño
 1= Menos del 10% de las hojas quemadas
 2= Mas del 10% y menos del 50% de hojas quemadas
 3= Mas del 50% quemado, pero la planta aun esta viva
 4= Planta muerta

NOTA: LA TEMPERATURA FUE DE APROXIMADAMENTE DE -5°C.

APENDICE B

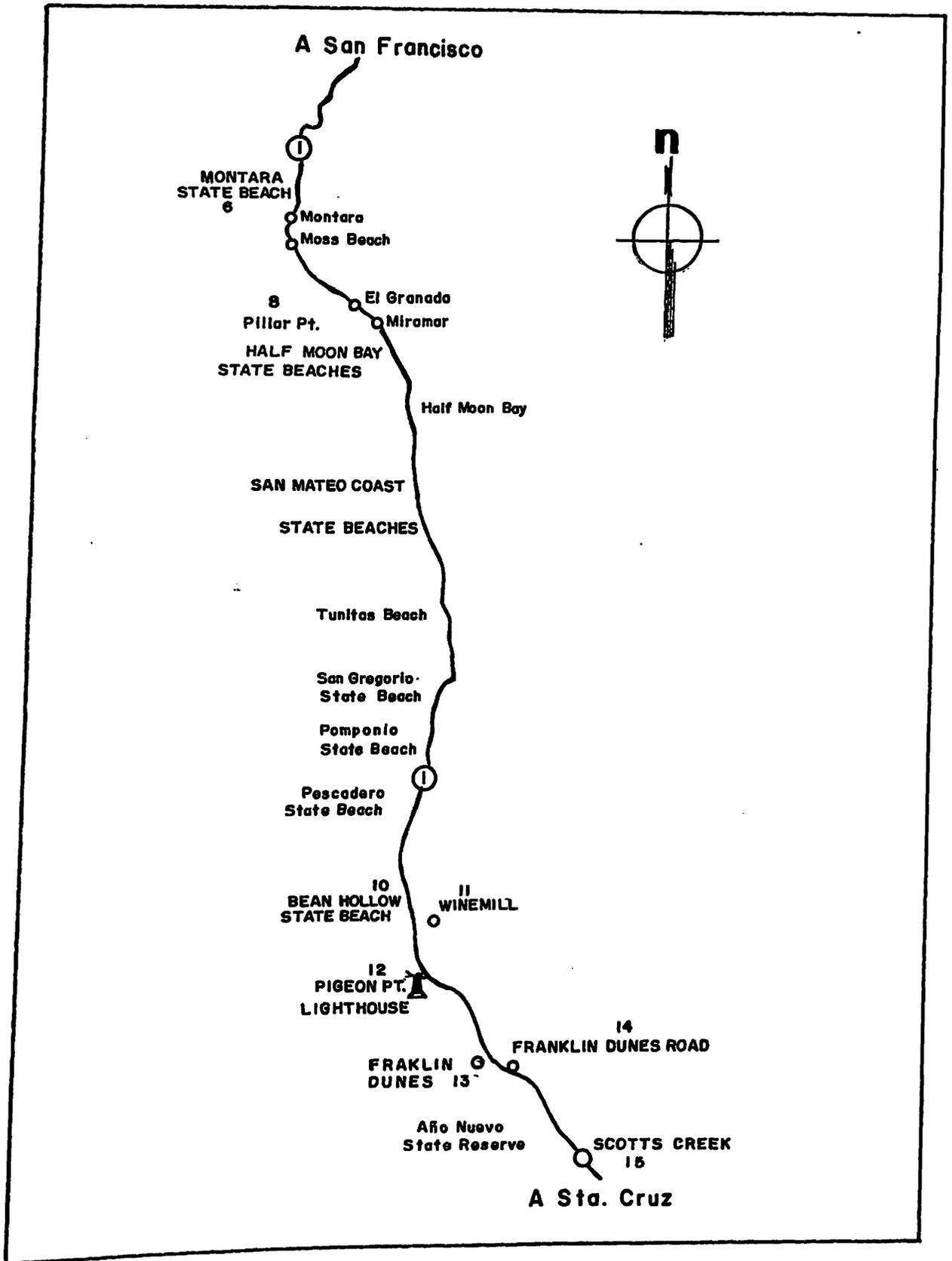


Figura B.1. Situación geográfica de las localidades de la costa central de California, donde se colectaron los clones de *F. chiloensis*.

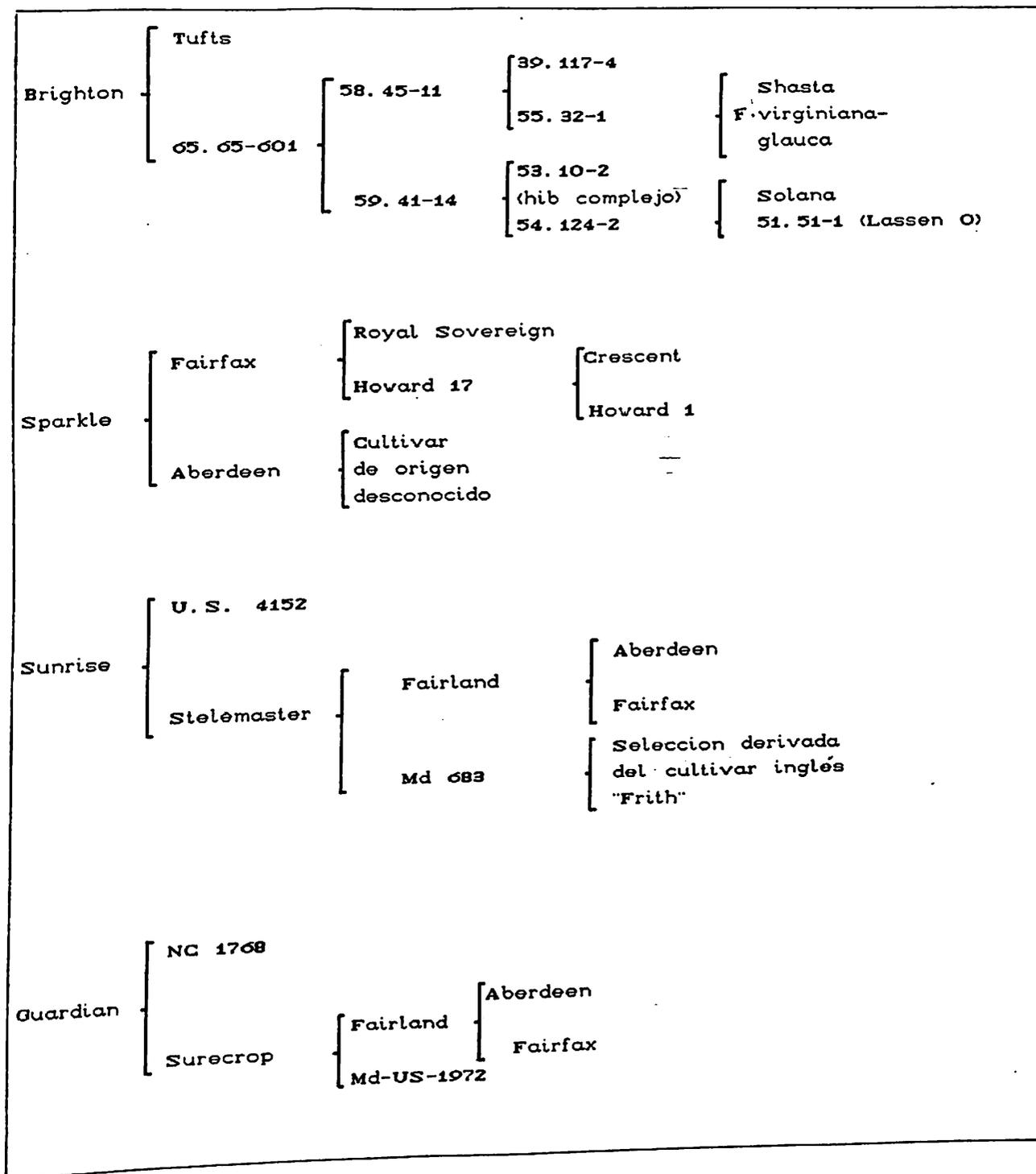


Figura B.2: Pedigrí de cuatro cultivares de fresa con posible tolerancia a *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*.