

Marchitez Vascular del Tomate: II. Herencia de la Resistencia a la Raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Tres Especies del Género *Lycopersicon*

Ada Ascencio-Álvarez*, **Alfonso López-Benítez**, **Fernando Borrego-Escalante**, **Sergio Alfredo Rodríguez-Herrera**, **Alberto Flores-Olivas**, **Florencio Jiménez-Díaz**, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Fitomejoramiento y Parasitología, Apdo. Postal 342, km 7.5 Carr. a Zacatecas, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México CP 25315 (*Dirección actual: INIFAP, Campo Experimental Valle de Culiacán, km 17.5 Carr. Culiacán-Eldorado, Culiacán, Sinaloa, México CP 80000); y **Alfredo Josué Gámez-Vázquez**, INIFAP, Campo Experimental Bajío, Apdo. Postal 112, km 6.5 Carr. Celaya-San Miguel Allende, Celaya. Correspondencia: adascencio@hotmail.com

(Recibido: Marzo 23, 2007 Aceptado: Julio 17, 2007)

Ascencio-Álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Rodríguez-Herrera, S.A., Flores-Olivas, A., Jiménez-Díaz, F. y Gámez-Vázquez, A.J. 2008. Marchitez vascular del tomate: II. Herencia de la resistencia a la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en tres especies del género *Lycopersicon*. Revista Mexicana de Fitopatología 26:180-183.

Resumen. En Sinaloa, San Luis Potosí y Nayarit, principales Estados productores de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en México, la producción está en riesgo debido al ataque de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, principalmente la raza 3 (Fol-3). Existen pocas variedades resistentes a esta raza, no obstante que este método de control es el más económico, efectivo e inocuo para el manejo de la enfermedad. La identificación de fuentes de resistencia en germoplasma silvestre ha cobrado importancia, por lo que este trabajo se realizó con la finalidad de determinar la herencia de la resistencia a la raza Fol-3 en las especies de tomate *Lycopersicon esculentum*, *L. peruvianum* y *L. pimpinellifolium* en invernadero. De cada una de las cruzas representativas a las tres especies se inocularon 300 plantas F_2 de tomate de 15-25 días mediante inmersión de sus raíces en una suspensión con 10^{-7} mL L⁻¹ conidios de Fol-3, y la evaluación se hizo a los 30 días de la siembra clasificando las plantas en resistentes y susceptibles. Se usó la prueba G cuya bondad de ajuste permitió determinar si las frecuencias observadas se ajustaban a no a las proporciones esperadas. En los seis genotipos de tomate evaluados, se determinó que la herencia de la resistencia fue de tipo mendeliano, con una proporción de tres plantas con resistencia completa dominante por una susceptible.

Palabras clave adicionales: Características cualitativas, herencia mendeliana, prueba G, *Lycopersicon esculentum*, *L.*

Abstract. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) production in the states of Sinaloa, San Luis Potosí, and Nayarit, Mexico, is at risk because of wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, particularly race Fol-3. There are few resistant cultivars despite that this control method is the most economic, effective, and innocuous to manage the disease. Identification of sources of resistance in wild germplasm has gained importance; therefore, the objective of this work was to determine the inheritance of resistance to race Fol-3 in three tomato species: *Lycopersicon esculentum*, *L. peruvianum*, and *L. pimpinellifolium* in the greenhouse. Three hundred F_2 tomato plants, 15-25 days old, from each cross were inoculated by root immersion in a 10^{-7} mL L⁻¹ conidial suspension of Fol-3; evaluation was carried out 30 days after planting, plants were classified as resistant or susceptible. The G test was used since its goodness of fit allowed to determine if the observed frequencies adjusted or not to the expected ratios. The inheritance of resistance in the six genotypes evaluated was mendelian, with a ratio of three resistant plants with complete dominance to one susceptible

Additional keywords: Qualitative characteristics, mendelian inheritance, G test, *Lycopersicon esculentum*, *L. peruvianum*, *L. pimpinellifolium*.

Abbreviated article.

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is cultivated in more than 100 countries with an annual production of two million ton. The main tomato-producing countries are: China, Turkey, the United States, India, Italy, Egypt, Spain, Iran, Brazil, and Mexico (SEGPyA, 2006). Vascular wilt is the most important fungal disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) (Sacc.) Snyder and Hansen, which reduces

peruvianum, *L. pimpinellifolium*.

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) se cultiva en más de cien países con una producción de dos millones de toneladas anuales, destinado para consumo en fresco como para la industria. Los principales productores son: China, Turquía, Estados Unidos, India, Italia, Egipto, España, Irán, Brasil y México (SEGPyA, 2006). La enfermedad fúngica más importante en tomate es la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) (Sacc.) Snyder y Hansen, la cual disminuye el rendimiento hasta en un 60% y afecta la calidad del producto (Agrios, 2004). Se han reportado tres razas de Fol, las cuales se distinguen por su virulencia a cultivares de tomate diferenciales como lo son: Bonny Best, sin genes de resistencia; Manapal, resistente sólo a la raza 1; Walter, resistente a las razas 1 y 2; e I3R3, resistente a la raza 3. La raza 1 se describió en 1886 y la 2 se reportó en 1945 en Ohio, EUA. La raza 3 se observó en Australia en 1978 y en California, Florida, Georgia, Arkansas, Carolina del Norte y Tennessee, EUA; mientras que en México se reportó en 1996 (Valenzuela-Ureta *et al.*, 1996). Actualmente hay pocas variedades comerciales disponibles con resistencia a esta raza (Cai *et al.*, 2003).

El género *Lycopersicon* es uno de los más estudiados genéticamente; sin embargo, existe poca información sobre la herencia de la resistencia lo cual es importante ya que existe gran diversidad de especies silvestres, fuentes potenciales de variabilidad genética (Pratta *et al.*, 2003). Para determinar el tipo de herencia en una resistencia se pueden considerar variables con una distribución continua (resistencia horizontal) o discreta (resistencia vertical). Las continuas son variables cuantitativas que pueden representarse a través de la curva de Gauss (Alexander, 1963), tienen una distribución normal y se analizan con herramientas genético estadísticas, como el diseño de cruzas dialélicas (Griffin, 1956) y medias generacionales (Hayman, 1958; Hayman y Mather 1955). Las variables cualitativas no presentan una variación continua; su respuesta se puede clasificar en categorías por lo que sólo pueden ser nominales u ordinales (Falconer y Mackay, 2001). Los caracteres que varían cualitativamente pueden estar presentes o ausentes; postulan la existencia de unidades discretas de herencia, y predicen la proporción de la descendencia que mostrará o no un carácter cualitativo, *i.e.* resistente (no se observa daño del patógeno) o susceptible (con síntomas de daño) (McDonald *et al.*, 1996). Para analizar variables discretas se usa la prueba de Ji cuadrada, X^2 y la prueba de G. Los datos observados se comparan con los esperados, por lo que ambas calculan una expectativa teórica. La prueba G es un cociente de verosimilitud o prueba estadística de máxima verosimilitud, cuyo uso se ha extendido cuando la prueba de X^2 ha sido recomendada (Sokal y Rohlf, 1994). La bondad de ajuste e independencia de las tablas de contingencia de la prueba de X^2 , son una aproximación a los cocientes del logaritmo de verosimilitud en los cuales está basada la prueba G. Sin embargo, la aproximación a la

yield up to 60% and affects the quality of the product (Agrios, 2004). Three races of Fol have been reported, they were identified by their virulence on differentials: Bonny Best, without genes for resistance; Manapal, resistant to only race 1; Walter, resistant to races 1 and 2; and I3R3, resistant to race 3. Race 1 was described in 1886 and race 2 was reported in 1945 in Ohio, USA. Race 3 was observed in Australia in 1978 and in California, Florida, Georgia, Arkansas, North Carolina, and Tennessee, USA; while in Mexico it was reported in 1996 (Valenzuela-Ureta *et al.*, 1996). *Lycopersicon* is one the most genetically studied genera of plants, however, there is little information about the inheritance of resistance which is important, since there is great diversity of wild species, potential sources of genetic variability (Pratta *et al.*, 2003). The objective of this work was to study the inheritance of resistance of *Lycopersicon* resistant genotypes to race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Lycopersicon esculentum cv. Motelle LA.2823 (87L0382); *L.e.* cv. Prim LA.473 (90L3543); *L. peruvianum* LA.462 (79L4445-4449); *L.e.* cv. Prim. LA.1162 (89L2530); *L. pimpinellifolium* LA.2184 (87L0413), and *L.e.* cv. Prim. LA.34C (90L3516) from the Conservation Genetic Resources Program, California State University, Davis, were used for the study. Three resistant genotypes to Fol race 3 were used as female parents for crosses with three susceptible ones which have desirable traits (yield, fruit size, flavor, etc.). F1 populations of each cross (Table 1) were raised in the greenhouse and selfed. The resulting F2 seed populations were grown out in the greenhouse for 15-25 days before being inoculated by root immersion in a conidial suspension of Fol race 3 at a concentration of 10^{-7} mL L⁻¹ (Ascencio-Álvarez *et al.* (2008), the roots having been previously wounded by hypodermic punctures. After inoculation, F2 plants were placed in individual containers of disinfected soil in a completely randomized design using 4 replications of 25 separate F2 plants per cross per replication. Temperature in the greenhouse was $25 \pm 1^\circ\text{C}$ during the whole day. The reaction of inoculated plants was recorded 30 days after inoculation. The evaluation was based on the typical reaction of vertical resistance through symptomatology (healthy or diseased plants). The statistical analysis was done through the G test G ($p < 0.05$) (McDonald *et al.*, 1996).

Analysis of these data show for the cultivars studied that *L. peruvianum*, *L. pimpinellifolium* and *L. esculentum* all have genes for vertical resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) race 3, and all appear to have a single, completely dominant gene for this resistance. *L. esculentum* cv. Motelle should be considered as an important source of resistance since it also features other characteristics useful in the market. *L. peruvianum* in addition to having resistance to Fol race 3 also has resistance to race 2 (data not shown), therefore, it would be a desirable source for tomato genetic breeding programs. Few studies have been done with this species, but Rick (1990) had already reported it as a source of genetic variability with major genes for resistance to different

Cuadro 1. Prueba G de frecuencias genéticas de los materiales evaluados de tres especies de *Lycopersicon* resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Table 1. Genetic frequency G test of evaluated materials of three *Lycopersicon* species resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

| Prog | Respuesta | Cruza | Prop | Obs | Esp | GL | G | Prob tab |
|---------|-------------|-------|------|-----|-----|----|------|----------|
| LA.2823 | Resistente | 1 | 3:1 | 160 | 150 | 1 | 2.80 | 0.09 |
| LA.473 | Susceptible | | 3:1 | 40 | 50 | 1 | 2.80 | 0.09 |
| LA.462 | Resistente | 2 | 3:1 | 155 | 150 | 1 | 0.68 | 0.40 |
| LA.1162 | Susceptible | | 3:1 | 45 | 50 | 1 | 0.68 | 0.40 |
| LA.2184 | Resistente | 3 | 3:1 | 149 | 150 | 1 | 0.02 | 0.87 |
| LA.34C | Susceptible | | 3:1 | 51 | 50 | 1 | 0.02 | 0.87 |

Prog = progenitores; Prop = proporciones; Obs = observados; Esp = esperados; GL = grados de libertad.

distribución teórica es mejor en la prueba G en comparación con la de χ^2 (Dunning, 1993; McDonald *et al.*, 1996). El presente trabajo se realizó con la finalidad de estudiar la genética de la resistencia a la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en los genotipos resistentes de *Lycopersicon*.

Materiales de utilizados. Se emplearon los materiales genéticos *Lycopersicon esculentum* cv. Motelle LA.2823 (87L0382); *L.e.* cv. Prim LA.473 (90L3543); *L. peruvianum* LA.462 (79L4445-4449); *L.e.* cv. Prim. LA.1162 (89L2530); *L. pimpinellifolium* LA.2184 (87L0413) y *L.e.* cv. Prim. LA.34C (90L3516) procedentes del Conservation Genetic Resources Program de California State University en Davis, California, EUA. De estos genotipos se emplearon tres resistentes a Fol como progenitores hembra, los cuales se seleccionaron por presentar resistencia a la raza 3 y tres susceptibles como progenitores machos; sin embargo, presentan características deseables para el productor (rendimiento, tamaño de fruto, y sabor entre otros). Las cruzas se realizaron en los invernaderos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Siembra. La semilla F_1 (25 plantas de cada material) de las cruzas entre materiales resistentes y susceptibles (Cuadro 1) se sembró en charolas de poliestireno con 200 cavidades, utilizando como sustrato una mezcla de peat moss y suelo de bosque estéril. Durante el desarrollo de las plántulas se emplearon las recomendaciones técnicas para este cultivo (INIFAP, 2005). Cuando las plantas (25 de cada material) comenzaron a presentar flores con estigmas receptivos y el polen maduro, se cubrieron los botones florales de cada planta con la finalidad de conseguir la autofecundación de la F_1 y obtener así la semilla de la población segregante F_2 , con la cual se evaluó la herencia de la resistencia a dicha enfermedad.

Inoculación de la F_2 . En el invernadero se inocularon plantas de cada material con un desarrollo de 15-25 días después de la siembra; se utilizó una suspensión conidial de la raza 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Ascencio-Álvarez *et al.* (2008) a una concentración de 10^{-7} mL L⁻¹, mediante una inmersión de raíces a las cuales previamente se les hicieron pequeñas heridas con una aguja hipodérmica. Las plantas

diseases, including Fol. *L. pimpinellifolium* also showed to have a major resistant gene to race 3. According to the literature (Bohn and Tucker 1939), *L. pimpinellifolium* has also vertical resistance against Fol race 1.

End of the abbreviated article.

inoculadas se colocaron de inmediato en recipientes de unicel de $\frac{1}{2}$ litro con suelo desinfectado y se les proporcionó agua según se necesitó durante el experimento. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones de 25 plantas cada una (100 plantas por material). La temperatura ambiente del invernadero fue de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante todo el día, tomándose los resultados el 30 de agosto de 2005. Se observó y se registró la respuesta de las plantas inoculadas 30 días después de la inoculación; la evaluación se basó en la respuesta típica de resistencia vertical a través de la observación de síntomas (plantas sanas o enfermas)

Análisis estadístico y determinación de la herencia de la resistencia. El análisis estadístico se realizó a través de la prueba G ($p < 0.05$), la cual se calculó obteniendo un valor observado (O), dividiéndolo entre uno esperado (E), para posteriormente calcular el logaritmo natural (ln) de dicho cociente. El logaritmo natural de 1 es 0; si el número observado es mayor que el esperado, el ln(O/E) es positivo, mientras que si O es menor que E, ln(O/E) es negativo. Cada logaritmo se multiplicó por el número observado; posteriormente estos productos se sumaron y se multiplicaron por dos. Para determinar la estadística de la prueba G se empleó el software propuesto por McDonald *et al.* (1996).

De acuerdo al análisis de la prueba G, *L. esculentum*, *peruvianum* y *pimpinellifolium* presentaron genes de resistencia vertical a la raza 3 (Cuadro 1), cada una de las cuales está representadas por los tres progenitores hembra. Para el caso de la primera población segregante se encontró que la variedad motelle de la especie *esculentum* debe considerarse como una importante fuente de resistencia a esta enfermedad, ya que además tendría características deseables para el mercado. En este sentido, McGrath (1988), encontró que una línea de *L. esculentum* (BHRS 2-3),

presentaba resistencia a la raza 1, 2 y 3 de Fol, además de que dicha resistencia está determinada por un gen dominante simple. Las frecuencias fenotípicas 3:1 de plantas resistentes y susceptibles para el caso de la segunda población segregante, fue similar a la anterior, ya que en ambos casos el valor G (2.8 y 0.68, respectivamente) tienen una $p > 0.05$, por lo que presentan una herencia mendeliana simple. Sin embargo, en este caso es importante señalar que la especie *peruvianum*, además de haber presentado genes de resistencia vertical a la raza 3, también presentó genes de resistencia a la raza 2 (datos no presentados), por lo que esta especie representa una buena opción para los programas de mejoramiento genético del tomate. Pocos estudios se han realizado en esta especie, sin embargo, Rick (1990), ya la había descrito como una fuente de variabilidad genética con genes mayores de resistencia a diferentes enfermedades entre las que destaca Fol. La tercera población segregante también presentó una proporción mendeliana determinada por genes mayores de resistencia a la raza 3, de herencia simple y al igual que en el caso de la primera población segregante, también se han reportado en estudios previos la presencia de genes de resistencia vertical para la raza 1 (Bohn y Tucker, 1939).

CONCLUSIONES

La resistencia vertical a la raza 3 en las tres cruzas se ajustó a una relación 3:1 de genotipos resistentes y susceptibles, lo que indica herencia monogénica con dominancia completa. *Lycopersicon esculentum* cv. motelle puede ser considerada como una fuente de resistencia importante a esta enfermedad, ya que además tendría características deseables para el mercado.

Agradecimientos. Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico al primer autor, becario de doctorado, para la realización del presente trabajo y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el apoyo para la realización del proyecto (02-03-0203-2509).

LITERATURACITADA

- Agrios, G.N., 2004. Plant Pathology. Fourth Ed. Academic Press. New York, USA 635 p.
- Alexander, L.J. 1963. Transfer of a dominant type of resistance to the four known Ohio pathogenic strains of TMV from *Lycopersicon peruvianum* to *L. Esculentum*. *Phytopathology* 53:869.
- Ascencio-Álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Rodríguez-Herrera, S.A., Flores-Olivas, A., Jiménez-Díaz, F. y Gámez-Vázquez, A.J. 2008. Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26: 114-120.
- Bohn, G.W., and Tucker, C.M. 1939. Immunity to *Fusarium* wilt in tomato. *Science* 89:603-604.
- Cai, G., Gale, I.R., Scheider, R.W., Kistler, H.C., Davis, R.M., Elias, K.S., and Miyao, E.M. 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. *Phytopathology* 93:1014-1022.
- Dunning, T. 1993. Accurate methods for the statistics of surprise and coincidence. *Computational Linguistics* 19:61-74.
- Falconer, D.S., and Mackay, T.F.C. 2001. Introducción a la Genética Cuantitativa 1^a Ed., Ed. Acribia. Barcelona, España. 470 p.
- Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences* 9: 463-493.
- Hayman B.I., and Mather, K. 1955. The description of genetic interaction in continuous variation. *Biometrics* 11:69-82.
- Hayman B.I. 1958. The separation of epistasis from additive and dominance variation in generation means. *Heredity* 12:371-390.
- INIFAP. 2005. Manejo integrado del cultivo del jitomate en el Estado de San Luis Potosí. Folleto Técnico No. 22, INIFAP, Campo Experimental San Luis. San Luis Potosí, México. 72 p.
- McDonald, J.H., Verrelli, B.C., and Geyer, L.B. 1996. Lack of geographic variation in anonymous nuclear polymorphisms in the american oyster, *Crassostrea virginica*. *Molecular Biology and Evolution* 13:1114-1118.
- McGrath, D.J. 1988. BHRS 2-3 *Fusarium* wilt-resistant tomato. *HortScience* 23:1093-1094.
- Pratta, Lauthier, J.J., López, M., Pereyra, V. y Sayate, E. 2003. Informe final de taller de genética. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Facultad de Ciencias Naturales, Cátedra de Genética . Ciudad de Arequipa, Perú. 24 p.
- Rick, C.M. 1990. Perspectives From Plant Genetics: The Tomato Genetics Stock Center. Genetic Resources at Risk; Scientific Issues, Technologies, and Funding Policies. Report No. 5. Published by the Genetic Resources Conservation Program. Division of Agriculture and Natural Resources. University of California. Davis, California, USA. 60 p.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (SEGPyA). 2006. http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/revistas/r_31/cadenas/tomate_indus.htm. República de Argentina. Fecha de consulta: Septiembre 25, 2006.
- Sokal, R.R., and Rohlf, F.J. 1994. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. Freeman, Third edition. New York, USA. 887 p.
- Valenzuela-Ureta, J.G., Lawn, D.A., Heisey, R.F., and Zamudio-Guzman, V. 1996. First report of *Fusarium* wilt race 3, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, of tomato in Mexico. *Plant Disease* 80:105.