

EVALUACIÓN DE DOSIS DE INÓCULO DE *Fusarium oxysporum* EN FRESA EN TRES DIFERENTES TAMAÑOS DE MACETA

Pedro A. Dávalos González¹
Alfonso López Benítez²
Jesús Castro Franco³
Gustavo Olivares Salazar⁴

RESUMEN

En condiciones de invernadero se evaluó la respuesta de los cultivares de fresa Chandler y Fresno (sembrados en tres tamaños de maceta), a la inoculación con *Fusarium oxysporum* f sp. *fragariae*, con las siguientes concentraciones de suelo e inóculo del patógeno, respectivamente: 100:0, 92:8, 84:16 y 76:24.

Ambos cultivares fueron susceptibles a *F. oxysporum*. El índice de enfermedad promedio aumentó, pero no proporcionalmente, en la medida que se incrementó la concentración del hongo. A mayor concentración de éste, se tuvo mayor rapidez en la manifestación de la enfermedad.

Las plantas sembradas en diferentes tamaños de maceta, pero con igual concentración de inóculo, tuvieron índices de enfermedad similares. Ello sugiere, que en la expresión de la enfermedad es importante cierta concentración de inóculo, la que debe mantenerse constante, independientemente del tamaño de la maceta, para inducir el nivel de enfermedad deseado.

Palabras clave adicionales

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae*, Fresa, Inoculación, Resistencia.

1. Tesista Maestría

2 y 4. Ph. D. y M.C. Maestros-Investigadores del Depto. de Fitomejoramiento, Div. de Agronomía, UAAAN.

3. Investigador de Fitopatología en el CIFAP-Guanajuato.

INTRODUCCIÓN

La pudrición de la raíz y corona, causada por *Fusarium oxysporum*, es la principal enfermedad del cultivo de la fresa en México. Ocasiona bajas importantes del rendimiento, que pueden ser hasta del 50%; merma la calidad de la fresa y acorta el ciclo productivo de la huerta.

El control genético de *F. oxysporum*, mediante cultivares resistentes, sería la opción ideal; sin embargo, entre el germoplasma mundial hay poca probabilidad de encontrar algún cultivar de fresa resistente a ese patógeno y con posibilidades de adaptación a las áreas productoras de México.

Durante el proceso de mejoramiento para resistencia a determinada enfermedad, una técnica de inoculación artificial eficiente es fundamental.

Las técnicas de inoculación de *Fusarium* sp para inducir la enfermedad en diversos hospederos han consistido, básicamente, en cultivar las plantas en suelos infestados con el patógeno (inoculación natural), o provocar la enfermedad inoculando artificialmente. Esta última 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 con suspensión de esporas consiste en sumergir las raíces del hospedero en una solución de esporas y, después, sembrarlo en suelo estéril. Esta metodología ha sido empleada, con éxito, para inducir la enfermedad provocada por diversas formas especiales de *F. oxysporum* (Hida y Ashizawa, 1985 y Winks y Williams, 1985).

El método de inoculación al suelo ha sido el más efectivo para inducir la enfermedad por *Fusarium* sp., en algunas especies de plantas (Awuah et al., 1986 y Hart y Endo, 1978, 1981).

Cuando se usa el método anterior, una de las variantes usadas consiste en distribuir directamente al suelo una suspensión de macroconidios y microconidios de *Fusarium* sp.; inmediatamente después o luego de un período corto, se siembra el hospedero. Con esta metodología se han encontrado mayores grados de enfermedad en apio (Hart y Endo, 1981).

Otra variante cuando se inocula al suelo, es mezclarlo con un sustrato previamente utilizado para la multiplicación de *Fusarium* sp.; como sustratos, se han utilizado triturados de: maíz + harinolina, avena y mijo. (Awuah et al., 1986; Scott y Futrell, 1970 y Stephens et al., 1989).

Para el caso de *F. oxysporum* en fresa, existe información preliminar en México sobre el método de inoculación adecuado para inducir la enfermedad. En base a lo anterior, el presente trabajo tiene los objetivos siguientes:

1. Afinar el método de inoculación al suelo, así como la concentración de inóculo, que induzcan un índice de enfermedad alto.
2. Comparar la respuesta a la inoculación al usar tres tamaños de maceta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivares. Se seleccionaron los cultivares Chandler y Fresno, por haber mostrado diferente grado de susceptibilidad a *Fusarium*, en condiciones de campo.

Aislamiento y purificación de *Fusarium*. El patógeno se aisló de plantas de fresa con síntomas de la enfermedad, colectadas en Irapuato, Gto. El tejido infectado se sembró en medio de cultivo PDA, al que se le agregaron 100 ppm de estreptomicina. Después de cinco días de la siembra, se seleccionó una caja que presentó el crecimiento característico de *Fusarium* y para su purificación, se transfirió a PDA mediante la técnica del rallado superficial.

Producción de inóculo. El *Fusarium* ya purificado, se sometió a una primera incrementación masiva, en el medio de cultivo y con la técnica descrita anteriormente.

Después de la primera incrementación, el contenido de cada caja se licuó por 20 segundos en 200 cc de agua destilada estéril y se distribuyó en bolsas de polietileno que contenían 600 g de sustrato formado por 450 g de maíz molido + 150 g de harinolina. Después de que esas bolsas permanecieron por dos a cuatro meses, a temperatura ambiente de laboratorio (24 a 26°C), se utilizó el inóculo.

Inoculación. Antes de efectuar la inoculación, la cantidad total de inóculo se vació en una bolsa grande y se mezcló cuidadosamente para homogeneizar la concentración del hongo. Después, el inóculo se distribuyó alrededor de las raíces de las plantas y se mezcló con tierra de hojarasca esterilizada con bromuro de metilo.

Descripción de tratamientos y procedimiento experimental. En el ensayo se tuvo un arreglo factorial de tratamientos. 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 al porcentaje por volumen de suelo a inóculo: 100 a 0, 92 a 8, 84 a 16, y 76 a 24, 25% respectivamente.

Se usó un diseño completamente al azar, con dos repeticiones y parcela experimental de cuatro plantas. La estimación del daño de *Fusarium* se hizo mediante el siguiente índice, el cual se adaptó de Bringhurst *et al.* (1966) y Kim *et al.*, (1982):

Valor	Descripción
0	Planta aparentemente sana
1	Ligera reducción del crecimiento
2	Plantas con notorio achaparramiento
3	Planta marchita con probabilidad de sobrevivencia.
4	Planta marchita con probabilidad de muerte.
5	Planta muerta

Con el índice descrito se calificaron tres veces las plantas durante los 75 días que duró el ensayo. La suma de las tres lecturas fue el índice de enfermedad. El rango de enfermedad varió de $0 + 0 + 0 = 0$, es decir, ausencia de enfermedad en las tres lecturas, a $5 + 5 + 5 = 15$ que representaría la muerte de la planta desde la primera lectura.

Análisis Estadístico. El índice de enfermedad se sometió al análisis de varianza. Como sólo resultó significativo la concentración de inóculo, se hizo un análisis de tendencia a través de polinomios ortogonales. De acuerdo con esta metodología presentada por Snedecor y Cochran (1984) y Steel y Torrie (1986), se determinó el grado de polinomio y con ello se obtuvo la ecuación de predicción.

RESULTADOS

El análisis de varianza para el índice de enfermedad presentó diferencias estadísticas altamente significativas, debidas a la concentración de *F. oxysporum*. No hubo efecto de ningún otro factor solo o interacción (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrados medios para el índice de enfermedad del experimento dos.

F.V.	G.L.	C.M.
Tratamientos	23	67.75883**
Cultivares	1	0.2551833ns
Tamaño de maceta	2	2.3945188ns
Concentración	3	510.2795**
Cult. x tamaño maceta	2	1.3939ns
Cult. x Conc.	3	1.9114722ns
CxTxC	6	1.7669202 ns
E. Exp.	24	1.4479167
		C.V. = 12.46%

*; **; Significativo al. 05 y 0.1 de probabilidad, respectivamente.

En lo referente a las concentraciones 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 concentración de *Fusarium* utilizada.

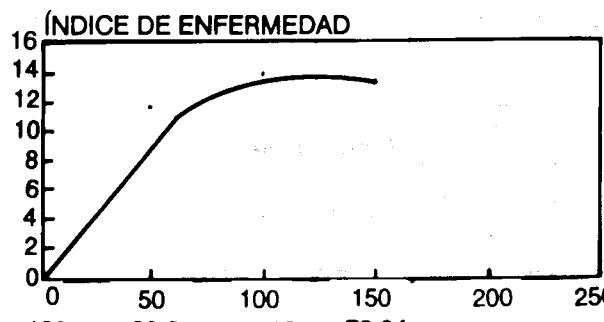
Lo importante de este caso fue que, independientemente del tamaño de la maceta, se tuvo un índice de enfermedad similar con un mismo porcentaje de inóculo. Así tenemos, por ejemplo, que las dosis de 50, 33 y 17 g por maceta, correspondió al porcentaje por volumen de suelo a inóculo 92:8, y el índice de enfermedad observada fue 12.3, 11.0 y 10.9 para esos tamaños, respectivamente. La misma tendencia en la respuesta fue observada para las otras dosis y porcentajes (Figuras a, b y c).

Con los tres tamaños de macetas utilizados se obtuvieron, desde el punto de vista matemático, respuestas cúbicas a las concentraciones de inóculo aplicado. Las curvas se ajustaron con las ecuaciones de predicción para cada tamaño de maceta, mismas que aparecen en el Cuadro 2.

DISCUSIÓN

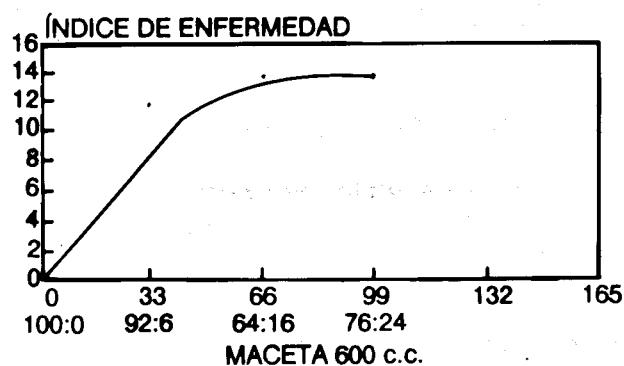
En todas las concentraciones de *Fusarium* se tuvieron altos índices de enfermedad, aun con la menor concentración. Esto difiere de lo observado en 1987 (Castro y Dávalos, 1987), cuando dicha concentración no secó a la planta. No obstante que fueron cultivares diferentes en ambos ensayos, en 1987 se usó Tioga, considerada más susceptible que Chandler y Fresno. Pero la diferencia fundamental entre ambos ensayos fue que las plantas usadas en 1987 tuvieron mayor contenido de carbohidratos que las inoculadas en 1989. Al respecto, Kodama (1974) observó una mayor infección con *F. oxysporum* en las 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*.

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 más conveniente utilizar macetas de 600 cc. Con ese tamaño se hace un uso más 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.



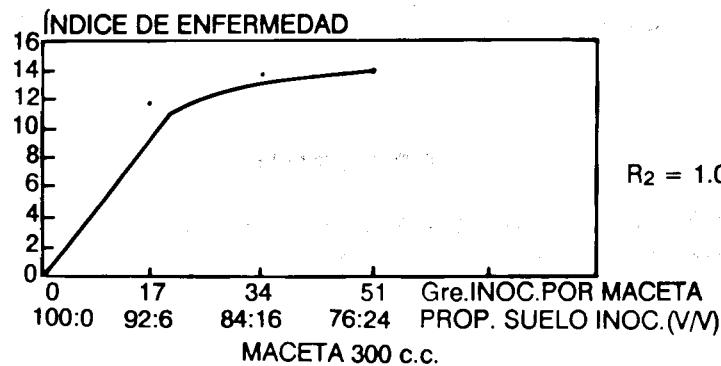
R₂ = 1.0

(a)



R₂ = 1.0

(b)



R₂ = 1.0

(c)

Figuras (a), (b) y (c). Índice de enfermedad con diferentes concentraciones de *F. oxysporum* f.sp. *fragariae* en tres tamaños de maceta (promedio de dos cultivares).

Cuadro 2. Cuadrados medios obtenidos a través de polinomios ortogonales para el índice de enfermedad con tres tamaños de maceta.

Capacidad de la maceta cc	Suma Lineal	de Cuadrático	Cuadrados Cúbico	Ecuación de predicción para $0 < XI < 200$
900	381**	156**	15**	-0.4375 + 0.407916666 XI - 0.0038 XI ² + 0.000011333333 XI ³
600	380**	112**	9*	0.140625 + 0.5337746 XI - 0.0071166067 XI ² + 0.000031594549 XI ³
300	367**	104**	12**	0.296875 + 1.061272 XI - 0.290873078 XI ² + 0.00026502775 XI ³

**, Significativo al .01 de probabilidad

CONCLUSIONES

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

- Con los tres diferentes tamaños de maceta, se obtuvieron índices similares de enfermedad, con la condición de que se mantuviera el mismo porcentaje de hongo por volumen de suelo.
- Los cultivares Chandler y Fresno fueron igualmente susceptibles a *F. oxysporum*.

BIBLIOGRAFÍA

- Awuah, R.T., J.W. Lorbeer y 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.
- Bringhurst, R.S., S. Wilhelm y V. Voth. 1986. *Verticillium* wilt resistance in natural populations of *Fragariae chiloensis* in California. Phytopathology. 56:219-222. USA.
- Castro, F.J. y P.A. Dávalos G. 1987. Etiología de la secadera o pudrición de la raíz y corona de la fresa en Irapuato, Gto. XV Congreso Soc. Mexicana de Fitopatología, Morelia, Mich., México (En prensa).

- 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.
- Hart, L.P. and R.M. Endo. 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. y M. Ashizawa. 1985. Breeding of radishes for *Fusarium* resistance. Jarq. 19(3): 190-195. Japan.
- Kim, C.H., H.D. Seo, W.D. Cho y S.B. Kim. 1982. Studies on varietal resistance and chemical control to the wili of strawberry caused by *Fusarium oxysporum*. Korean J. Plant Prot. 21 (2): 61-67. Korea.
- Russell. 1978. Plant breeding for pest and disease resistance. Butterworths. England. 485 p.
- Scott, G.E. y M.C. Futrell. 1970. Response of maize seedlings to *Fusarium moniliforme* and a toxic material extracter from this fungus. Plant Disease Reporter. 54 (6): 483-486. USA.
- Snedecor G.W. y W.G. Cochran. 1984. Statistical methods. The Iowa, University Press. Ames, Iowa, USA.
- Steel R., G.D. y J.H. Torrie. 1986. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2 Ed. McGraw Hill. México. 622 p.
- Stephens, C.T., R.M. de Urias y K.C. Sink. 1989. Evaluation of asparagus species for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* and *F. moniliforme*. Hort Science. 24 (2): 365-368. USA.
- Winks, B.L. y Y.N. Williams. 1965. A wili of strawberry caused by a new form of *Fusarium oxysporum*. Queensland Journal of Agricultural and Animal Science. 22:475-479. Australia.