

PRESENCIA EN LA ISLA DE TENERIFE DE LAS RAZAS FISIOLÓGICAS 1 y 2 DE *Fusarium oxysporum* (SCHL.) f. sp. *lycopersici* (SACC.) (**)

J. C. Tello Marquina (*)
María Angeles Pérez Boto

(*) Dirección actual: Dto. Protección Vegetal. CRIDA 07. Moncada (Valencia). INIA.

(**) Un extracto de este trabajo fue leído en la Reunión anual del Grupo Especializado de Fitopatología (Sociedad Española de Microbiología). E. T. S. I. A. Valencia. Diciembre 1978.

INTRODUCCION

No vamos a revelar nada nuevo, por señalar aquí la tradición del cultivo de tomate en las Islas Canarias. Tal vez, si lo sea, manifestar que esta publicación nace como una breve aportación al mejor conocimiento de aquel; y, puede constituir la iniciación del estudio de una "estrategia de genes" para el mejor control de los responsables de las "traqueomicosis".

De alguna manera, se recoge también, en estas páginas, el recuerdo emocionado de los autores por aquellas tierras.

MATERIALES Y METODOS

A favor de una mayor claridad, se agrupa este epígrafe en varios apartados.

1.— Aislamiento de hongos potógenos

1.1.— *Algunas características de las parcelas muestreadas.*

Un total de 5 parcelas se visitaron durante los días 30 y 31 de Enero y 28 de Febrero de 1977.

1. 1. 1.— *Término municipal de Guía de*

Isora

a) *Parcelas situadas a 300 m. s. n. m.:* dos campos con las variedades ALL-ROUND y SERVIA fueron prospectados. En ambos, el monocultivo de ALL-ROUND duraba ya 4 años. Un total de 9 plantas fueron analizadas.

b) *Parcela situada a 50 m.s.n.m.:* Con un monocultivo de 6 años, a base de ALL-ROUND, un total de 5 plantas de dicha variedad fueron analizadas.

1. 1. 2.— *Término municipal de Grاندilla de Abona*

Un invernadero situado a 650 m. s. n. m., fue prospectado. Aunque el cultivo de tomate, era alternado con pimiento, pepino y melón durante el verano, la variedad ALL-ROUND llevaba cuatro años dominando el cultivo de invierno. Aproximadamente, un 30 por ciento de las plantas estaban muertas, en el momento de recoger 5 plantas para su análisis.

1. 1. 3.— *Término municipal de Güimar*
Parcela desinfectada con bromuro de metilo. Sobre ella, el INIA, realizaba un ensayo

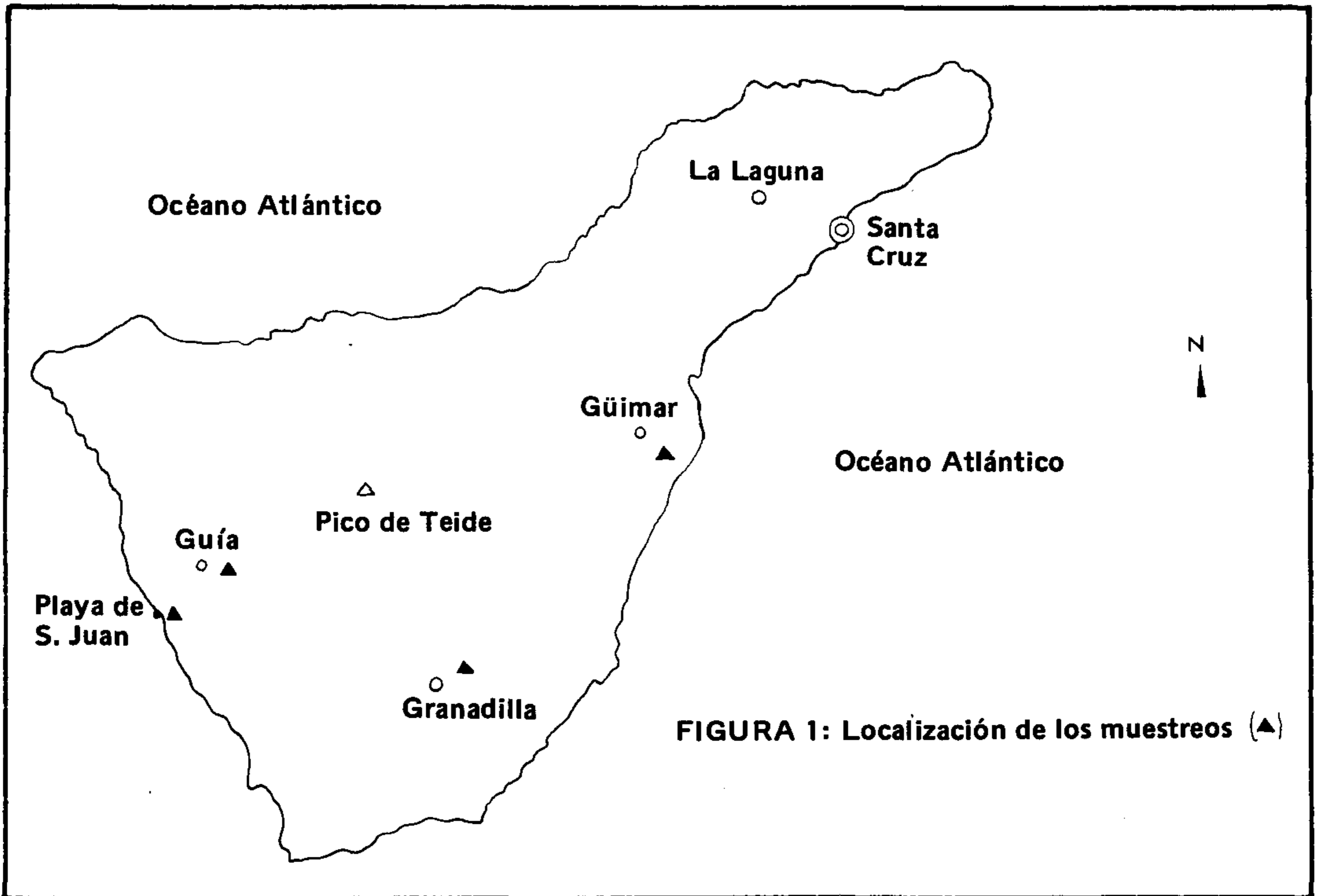


FIGURA 1: Localización de los muestreos (▲)

de variedades con diversas resistencias a TMV. Un total de 11 plantas fueron analizadas, de las cuales 6 eran de la variedad ALL-ROUND.

1. 2.— Toma de muestras.

Se recorrieron las parcelas siguiendo sus dos diagonales, recogiendo solo las plantas que presentaban síntomas de miosis vascular. De aquellas, se cortaron unos 25 cm. de tallo, a partir de una altura, sobre el suelo, de unos 30-40 cm.

1. 3.— Tratamiento de las muestras.

Se lavaron los tallos con agua del grifo, flameándolos con alcohol de 96°. Se cortan, por cada planta, tres rodajas de un espesor de 0,5 a 1 cm., que se siembran en Agar de papa glucosado (PDA) y medio S (MESSIAEN y LAFON, 1971). Se evita así, el antiguo y engorroso método de aislamiento, consistente en cultivar trozos del sistema vascular, previo levantamiento de la epidermis. (MC KEEN y THORPE, 1971; PINEAU, 1976).

1. 4.— Incubación y "lecturas" de los cultivos.

Se dejan crecer los cultivos sobre la bancada del laboratorio. El reconocimiento de los posibles patógenos, se hace con microscopio Wild-M20, a intervalos de 2, 4, 15 y 30 días.

2.— Inoculación de los posibles patógenos.

2. 1.— Variedades de tomates a inocular y su cultivo.

Las plantas de MARMANDE, ROMA VF y WALTER 742, se cultivan en una mezcla de turba (58 por ciento), arena (42 por ciento), Superfosfato de cal (0,742 Kg. por 500 l. de mezcla), esterilizada con vapor de agua (80°-90° C), durante 1 hora. Terrinas y macetas de plástico, sostienen las plantas durante un mes, a una temperatura de 22 – 26° C, una luminosidad de 2000 – 2500 lux —suministrados durante 14 horas/día— y una humedad de 50-55 por ciento durante 14 h/días. Las mismas condiciones son utilizadas para mantener las plantas inoculadas.

2. 2.— Preparación del inóculo

Durante 8 días, las cepas a inocular, se incuban en la bancada del laboratorio, creciendo en placas de Petri de 100 mm. de diametro. Cada placa contiene 15 ml. de medio PDA. Durante la incubación, cada aislamiento cubre toda la superficie de su placa de Petri.

La "unidad de inóculo", por cada 10 plantas a inocular, la constituye el contenido de una placa de Petri, triturado en 85 ml. de

agua destilada, con una batidora de cocina.

2. 3.— Preparación de las plantas para su inoculación.

Después de un mes de cultivo, las plantas de tomate tienen la 5ª hoja verdadera formada. Se arrancan, aquellas, cuidando conservar el máximo número de raíces, que son lavadas

hasta eliminar el sustrato de cultivo, cortando, después, sus puntas.

2. 4.— Inoculación.

Se sumergen las raíces de las plantas, en la "unidad de inóculo" durante media hora. Después son transplantadas a macetas de 1 litro de capacidad, llenadas con el sustrato anterior-

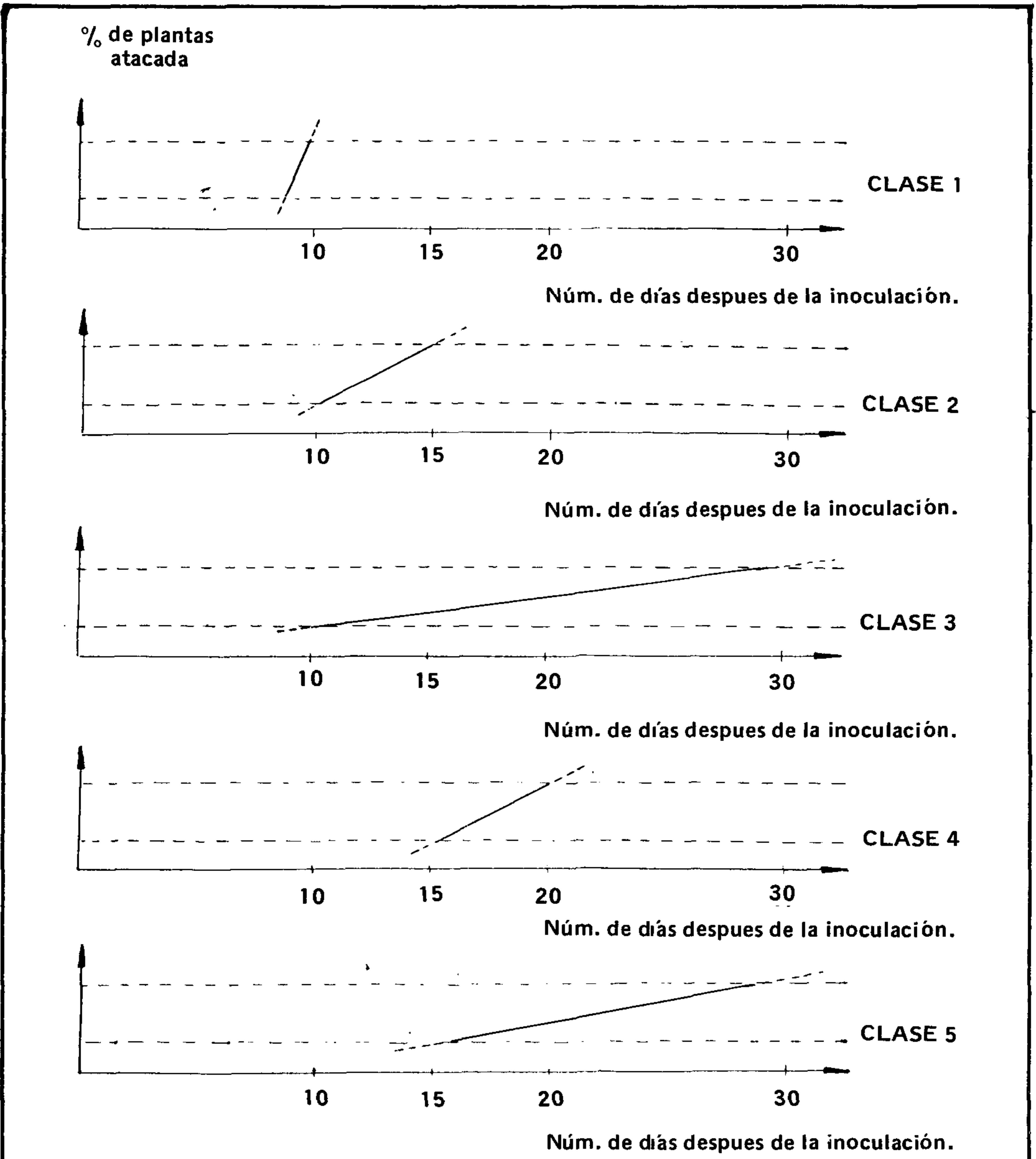


Figura 2

Tipos de desarrollo de la infección, utilizados para la clasificación de la agresividad de los aislamientos.

mente mencionado. En cada maceta se colocan cinco plantas. Los testigos son tratados de igual forma, pero el inóculo se ha sustituido por igual volumen de agua del grifo.

2. 5.— *Reaislamiento de cepas.*

Se sigue el procedimiento indicado en el apartado 1.3.

2. 6.— *Notación de las inoculaciones.*

Habiéndose observado diferencias en el tiempo empleado por las plantas para reaccionar a las infecciones artificiales, así como en la homogeneidad de esta reacción en una misma serie de plantas, se ha fundado el sistema de notación en el tiempo que tardan aquellas en manifestar síntomas inequívocos de ataque del hongo inoculado: muerte, epinastias bien marcadas, clorosis más o menos generalizadas, achaparramientos o enanismos.

Este sistema, tomado de PINEAU (1976), no contempla — a nuestro juicio— hecho, como el de que plantas con epinastias muy marcadas a los 5 y 10 días después de la inoculación, se han rehabilitado — hasta diluir todo síntoma externo — a pesar de presentar los vasos necrosados y reaislarse de ellas la

cepa previamente inoculada.

El método de clasificación de cepas, queda recogido en la *Figura 2*, donde falta la *CLASE 6*, que estaría definida por una proporción de plantas afectadas, inferior al 75 por ciento, un mes después de la inoculación.

3.— *Caracterización morfológica de los aislamientos*

Para *Fusarium oxysporum* se utiliza el método indicado por MESSIAEN y CASINI (1968), con algunos detalles inspirados en el trabajo de BOOTH (1971).

Para *Verticillium dahliae* KLEB se ha seguido a MARTINSON (1964). Su detalle se presentará en un futuro trabajo.

RESULTADOS

1.— *Repartición de los aislamientos.*

Su distribución geográfica puede observarse en la *Figura 1*. De igual forma el *Cuadro 1*, recoge los resultados de los análisis de laboratorio.

CUADRO 1: Repartición de los aislamientos

Situación de la parcela	Núm. de plantas analizadas	Núm. de plantas con <i>V. dahliae</i> .	Núm. de plantas con <i>F. oxysporum</i> .	Núm. de plantas con <i>V. dahliae</i> + <i>F. oxysporum</i>	Códigos de los aislamientos.
50 m. s.n. m. (Guía)	5	0	5	0	FOL 1, FOL 2 FOL 4, FOL 6 FOL 10, FOL 12 (*)
120 m. s. n. m. (Güimar)	7	3	1	3	FOL 13, FOL 14 FOL 15, FOL 16 FOL 17, FOL 18 (**)
300 m. s. n. m. (Guía)	9	6	0	0	— —
650 m. s. n. m. (Granadilla)	5	3	0	0	— —

(*) FOL 6 y FOL 12, proceden de la misma planta.

(**) FOL 13 y FOL 14, proceden de la misma planta.

CUADRO 2: Algunas características de las cepas estudiadas

CEPA	MACROCONIDIOS							TIPO MORFOLOGICO
	Longitud (*) (en micras)	Anchura (en micras)	Núm. Tabiques (en%) (**)					
			2	3	4	5	6	
FOL 1	(32,64 ± 0,64)	3,84	—	88	12	—	—	SPORODOCHIAL ("esporodoquial")
FOL 2	(34,25 ± 0,54)	3,84	2	68	16	8	6	COTTONY ALBA ("algodonoso")
FOL 4	(30,87 ± 0,69)	3,84	—	78	20	2	—	SLIMY PIONNOTAL ("pionnotal viscoso")
FOL 6	(31,56 ± 0,62)	3,84	6	74	20	—	—	SCLEROTIQUE ("esclerocial")
FOL 10	(37,78 ± 0,48)	3,84	—	96	2	2	—	SCLEROTIQUE ("esclerocial")
FOL 11	(29,03 ± 0,52)	3,84	—	98	2	—	—	SCREROTIQUE ("esclerocial")
FOL 12	(32,10 ± 0,74)	3,84	—	94	4	2	—	ROPY ("cordonoso")
FOL 13	(30,34 ± 0,56)	3,84	—	86	12	2	—	SLIMY PIONNOTAL ("pionnotal viscoso")
FOL 14	(36,56 ± 0,50)	3,84	—	48	40	2	—	SLIMY PIONNOTAL ("pionnotal viscoso")
FOL 15	(35,86 ± 0,76)	3,84	—	76	18	6	—	SLIMY PIONNOTAL ("pionnotal viscoso")
FOL 16	(32,95 ± 0,60)	3,84	—	82	16	2	—	SPORODOCHIAL ("esporodoquial")
FOL 17	(32,49 ± 0,53)	3,84	—	92	8	—	—	SPORODOCHIAL ("esporodoquial")
FOL 18	(37,40 ± 0,92)	3,84	—	78	20	2	—	SLIMY PIONNOTAL ("pionnotal viscoso")

(*) Se dá la media de 50 medidas y su error típico.

(**) El % se hace sobre 50 macroconidios.

2.— Estudio morfológico de las cepas

En la morfología de los aislamientos se han reconocido las antiguas especies del sistema de WOLLENWEBER (cf. VIENNOT — BOURGIN, 1949), "ORTHO CERAS" (micelio rosado, esporodoquios rosa—anaranjados y numerosos macronidios) y "BULBIGENUM" (pigmentación violeta del micelio y sustrato, macronidios escasos).

Se ha intentado recoger la variabilidad morfológica —macroscópicamente observable— que WAITE y STOVER (1960) y FOLLIN y LAVILLE (1966) estudiaron para *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* y que MESSIAEN y CASINI (1968) suponen válida para todas las formas especializadas del men-

cionado micromiceto. Aunque no de manera sistematizada, si podemos afirmar que las "formas morfológicas" observadas, nada tienen que ver con la virulencia de las cepas, y si con un posible proceso de *envejecimiento*.

Las características estudiadas se recogen en el CUADRO 2. Las medidas están hechas en base a 50 macroconidios. En cuanto a la terminología de los "tipos morfológicos" de las cepas, se mantiene la original de WAITE y STOVER (1960) y MESSIAEN y CASINI (1968), con una traducción libre —entre paréntesis— que puede ser un inicio de homologación de lenguaje, cuya labor corresponde a los especialistas.

3.— Estudios de patogeneidad: virulencia y

CUADRO 3: Patogenia de las cepas estudiadas

Núm. de inoculación	Clase de agresividad	F. oxysporum fsp. lycopersici		Cepas de F. oxysporum (no patógeno)
		Cepas de la raza 1	Cepas de la raza 2	
1 ^a (*)	1	FOL 4, FOL 6, FOL 12,	--	FOL 13, FOL 14, FOL 15, FOL 16, FOL 17, FOL 18,
	2	--	--	
	3	--	FOL 10	
	4	--	--	
	5	--	--	
	6	--	FOL 1, FOL 2	
2 ^a (**)	1	FOL 4, FOL 6, FOL 12	--	---
	2	--	--	
	3	--	FOL 10,	
	4	--	--	
	5	--	--	
	6	--	FOL 1, FOL 2,	

(*) Se inoculan 10 plantas de cada variedad, por cada cepa

(**) Se inoculan 20 plantas de cada variedad, por cada cepa.

agresividad

Entendemos los conceptos de *potogeneidad*, *virulencia* y *agresividad* de las cepas, en el sentido expresado por VAN der PLANK (1968) ROBINSON (1971) y TARR (1972).

Dos inoculaciones sucesivas fueron realizadas. En la primera —materializadas entre el 30 / 3 / 1977 y 13 / 6 / 1977— se pretendió separar las cepas parásitas de las saprofitas, así como una clasificación de las primeras, según su agresividad. La segunda separó las cepas por su virulencia y confirmó el orden según la agresividad, establecido en la primera inoculación; se realizó entre el 16 / 6 / 1977 y 28 / 8 / 1977. Los resultados pueden apreciarse en el CUADRO 3

A MODO DE CONCLUSIONES

A.— La distribución geográfica de los aislamientos, está indicando que la altitud sobre el nivel del mar —y por tanto la temperatura— parecen limitar la actuación de uno u otro hongo, responsable de las "Traqueomicosis". Así, a 50 m. s. n. m. solo se manifiesta *F. oxysporum* (SCHL) f. sp. *lycopersici* (SACC); a 120 m. s. n. del mar, aparece *Verticillium dahliae* KLEB. como posible patógeno, ya que no lo es el *F. oxysporum* testado; y a 300 y 650 m. s. n. del mar, solo se aísla *Verticillium dahliae* KLEB.

B.— En las dos inoculaciones sucesivas sobre las variedades *Marmande*, *Roma VF* y *Walter 742*, se han encontrado "interacción diferencial" entre cepas y variedades, agrupándose las primeras, del siguiente modo:

raza 1: FOL 4, FOL 6 y FOL 12
 raza 2: FOL 1, FOL 2 y FOL 12
 No patógenas: FOL 13, FOL 14, FOL 15, FOL 16, FOL 17, y FOL 18.

C.— Si observamos el CUADRO 3, para ambas razas fisiológicas se ha conservado la agresividad, en las dos inoculaciones sucesivas. Se desprende de los datos que las cepas de la *raza 1* son más agresivas que las de la *raza 2*, lo cual parece ser un hecho, normalmente comprobado, en otras regiones del mundo donde dichas razas se han encontrado.

De igual forma, comparando los CUADROS 2 y 3, no hay ninguna relación entre la morfología de los aislamientos y su patogeneidad.

D.— No deja de sorprender, un poco, la presencia de la *raza 2*, la cual se ha señalado en

un número reducido de regiones mundiales: U. S. A. (Ohio, Florida, Arkansas y New Jersey), Israel, Brasil, Marruecos, Holanda y Túnez.

Nuestra perplejidad nace al considerar que de la variedad cultivada, *All-round*, sin resistencia a ninguna de las dos razas fisiológicas PECAUT y PHILDUZE (1968), se haya aislado la *raza 2*. Dejando para posibles posteriores comprobaciones las influencias culturales que hayan podido diseminar la *raza 2* (semillas, caña de entutorado, etc...), no podemos achacar la presencia de la *raza 2* a una "presión de selección" del medio sobre el hongo, ya que no se ha cultivado de forma intensiva, en las parcelas prospectadas, variedades resistentes a la *raza 1*, tal y como indican GOODE, McFERRAN y FUDGE (1969) y GERDEMANN y FINLEY (1951).

Aunque no existe, por nuestra parte, afirmarlo, ¿es posible plantearse la hipótesis de preexistencia de la *raza 2* en los terrenos prospectados? (BOUHOT, 1970); BOUHOT y LOUVET, 1971).

E.— Finalmente, creemos, que por primera vez se demuestra la existencia de las *raza 1* y *2* de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, en España.

De ello se desprende, para los cultivos de tomates de Tenerife —dado el carácter itinerante de estos y los medios de producción— que deberá estudiarse con más detalles una "estrategia de utilización de genes" en el cultivo de posibles variedades resistentes.

RESUMEN

Se determina la existencia de *Fusarium oxysporum* (SCHL) f. sp. *lycopersici* (SACC), razas fisiológicas 1 y 2, en los cultivos de tomate de la isla de Tenerife.

Se considera que su presencia —aparte de su carácter novedoso a nivel nacional— puede constituir una primera orientación, para el mejor control de las enfermedades vasculares de las tomateras.

SUMMARY

We are reporting the existence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.), physiological races 1 and 2 in tomatoe culture in the Tenerife Island. In addition to Being a newly found microorganism in our country, this finding may be regarded as a first

approach to a better control of vascular diseases in tomatoe plants.

Afonso, por sus ayudas —inapreciables— en la recolección del material analizado.

AGRADECIMIENTOS

A los señores Arroyo Hodgson y Pérez

BIBLIOGRAFIA

- BOOTH, C., 1971.— *The genus Fusarium*. C. M. I., Kew, Surrey, England.
- BOUTHOT, C., 1970.— Variations induites du pouvoir pathogène chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Ann. Acad. Sci. fenn. A, IV Biologica*, 168, 25 - 27.
- BOUHOT, D. y LOUVET, J., 1971.— Some observations and experiments on the origin of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races in France. *International Symposium on Pathological Wilting of Plante*, MADRAS, Enero 1971, 7 pp.
- FOLLIN, J. C. y LAVILLE, E., 1966.— Variations chez le *Fusarium oxysporum* f. *cubense* (Agent causal de la maladie de Panama du bananier). *Fruits*, 21 (6), 261 - 268.
- GERDEMANN, J. W. y FINLEY, A. M., 1951.— The Pathogenicity of races 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. *Phytopathology*, 41, 238 - 244.
- GOODE, M. J.; Mc FERRAN, J. y FUDGE, T. G., 1969.— New occurrence of race 2 of Tomato *Fusarium* wilt fungus. *Arkans. Fm. Res.*, 18,6.
- MARTINSON, 1964.— Active survival of *Verticillium dahliae* in soil. *Thesis submitted to Oregon State University* (mimeogr.), 143 pp.
- Mc KEEN, C. D. y THORPE, H. J., 1971.— An adaptation of a moistchamber method for isolating and identifying *Verticillium* spp. *Can. J. Pl. Sci.*, 53, 615 - 622.
- MESSIAEN, C. M. y CASINI, R., 1968.— Recherches sur les fusarioses IV.— La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyties*, 19 (3), 387 - 454.
- MESSIAEN, C. M. y LAFON, R., 1970.— Les maladies des plantes maraicheres. 2 - edic. *INRA*. Paris.
- PINEAU, R., 1976.— Etude sur les tracheomycoses de la tomate au Maroc. *These présentée a l'Universite de Nancy I* (mimeogr.), 143 pp.
- PECAUT, P. y PHILOUZE, Jaqueline, 1968.— Les variétés de tomate cultivées en France. *Pépiniéristes— Horticulteurs —Maraichers*, 87, 4959—4973.
- ROBINSON, R. A., 1971.— Vertical resistance. *Rec. Pl. Path.* 50 (5) 233 - 239.
- RODRIGUEZ, R., 1974.— Marchitamiento por *Fusarium* sp en cultivo de tomates. I comprobación de patogeneidad en *Fusarium oxysporum* (Schl.) aislado de necrosis interna del tallo. *Publicaciones del Serv. Agrícola*. Caja Insular de Ahorros. Gran Canaria, 11 - 18.
- TARR, S. A. J., 1972.— The principles of plant pathology; *Macmillan*. Londres.
- VAN der PLANK, J. E., 1968.— Resistance des plantes aux maladies. *Conseil international de la langue francaise*. Paris. 233 pp.
- VIENNOT—BOURGIN, 1949.— Les champignons parasites del plantes cultivées. *Masson Cie*, Paris.
- WAITE, B. H. y STOVER, R. H., 1960.— Studies on *Fusarium* wilt of Bananas. VI. Variability and the cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f. *cubense*. *Can. J. Botany*. 38, 985 - 994.