



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRICOLAS

**CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE FITOSANIDAD
FITOPATOLOGIA**

**Uso de injertos y contenido de fenoles solubles totales en genotipos de
jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistentes y susceptibles a
Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* raza 3**

LUIS ALBERTO GÓMEZ ZAVALA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada: “Uso de injertos y contenido de fenoles solubles totales en genotipos de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistentes y susceptibles a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3”, realizada por el alumno: Luis Alberto Gómez Zavala, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

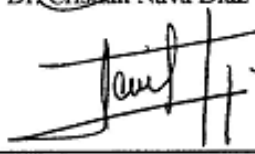
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



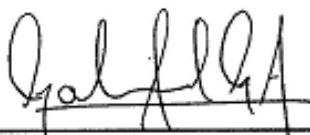
Dr. Cristian Nava Díaz

ASESOR



Dr. Daniel Nieto Angel

ASESOR



Dr. Gabriel Gutiérrez Alonso

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Septiembre de 2010

Agradecimientos

A dios por darme el preciado regalo de la vida, por darme paciencia, fortaleza y esperanza para salir adelante.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada que hicieron posible mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados por haberme dado la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

Agradezco a cada uno de los integrantes del consejo particular: Dr. Cristian Nava Díaz, Dr. Daniel Nieto Ángel, Dr. Gabriel Gutiérrez Alonso por su invaluable apoyo y buena disposición mostrada para la realización de este trabajo, por sus consejos y sugerencias que permitieron mejorar esta tesis, y mas por su valiosa amistad, gracias.

Al Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez, a la M. C. Victoria Ayala Escobar, Noé López Martínez, Edgar Villar Luna, Leticia Robles Yerena, Alma Rosa Solano, José Manuel Cambrón Crisantos, Antonio Morgado, Juan Tovar, Flor de María Navarrete por todo el apoyo brindado durante la fase experimental hasta la culminación de este trabajo, gracias.

Al Dr. Guadalupe Vaca Vargas por su apoyo y consejos para guiarme en esta etapa de mi vida, pero mucho más por su valiosa amistad.

A cada uno de los profesores que con sus valiosos conocimientos me instruyeron en mi formación profesional y personal.

Dedicatorias

Como cada logro a mis padres:

Graciela Zavala García

Luis Alfredo Gómez Zamora

Por brindarme una vida llena de cariño y apoyo incondicional, en la que me han inculcado valores que me han permitido valorar la vida y disfrutar de ella, a ustedes que día a día me enseñan a superar los retos y ser mejor persona.

A mis hermanas:

Elizabeth

Alejandra

Daniela

Fabiola

Por la alegría que le dan al hogar y su esfuerzo para salir adelante como familia y por compartir buenos y malos momentos, luchando juntos en la vida.

A mis abuelitos:

Esperanza Zamora (+)

Guadalupe García

Jesús Gómez (+)

Otilio Zavala

Por tener siempre un consejo para mi y darme siempre su bendición.

A cada uno de mis buenos amigos y amigas, por su valiosa amistad que nunca me ha faltado y con quienes he compartido los momentos más gratos, pero que también han estado conmigo en momentos difíciles.

A.H. CUERPO DE BOMBEROS de Valle de Santiago por el valioso grupo de seres humanos que lo integran y por permitirme pertenecer a la institución.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|------------|
| AGRADECIMIENTOS | i |
| DEDICATORIAS | i |
| INDICE DE CONTENIDO | iv |
| INDICE DE CUADROS | vi |
| ÍNDICE DE FIGURAS | vii |
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| I. INTRODUCCIÓN | 3 |
| Objetivo general | 4 |
| Objetivos particulares | 5 |
| Hipótesis generales | 5 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 6 |
| <i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> Snyder & Hansen..... | 6 |
| Distribución y presencia en México..... | 6 |
| Clasificación taxonómica y características morfológicas | 6 |
| Síntomas..... | 7 |
| Biología y ecología | 8 |
| Control químico | 8 |
| Control biológico | 9 |
| Control genético..... | 9 |
| Injertos | 11 |
| Mecanismos de defensa en las plantas | 12 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| Establecimiento de plantas | 16 |
| Inoculo e inoculación | 16 |
| Evaluación de la Severidad | 17 |
| Obtención y procesamiento de muestras para extracción de fenoles solubles totales | 18 |
| Extracción de fenoles solubles totales | 18 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| | Cuantificación de fenoles solubles totales..... | 18 |
| IV. | RESULTADOS | 20 |
| | Identificación Molecular de la cepa..... | 20 |
| | Análisis de covarianza para severidad | 21 |
| | Contenido de fenoles solubles totales | 21 |
| | Coefficiente de correlación entre contenido de fenoles solubles totales y porcentaje de severidad..... | 23 |
| | Regresión lineal estimada..... | 24 |
| V. | DISCUSIÓN..... | 25 |
| VI. | CONCLUSIONES..... | 28 |
| VII. | LITERATURA CITADA..... | 29 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | | |
|----------|---|-----------|
| Cuadro 1 | Escala para la evaluación de la severidad de los síntomas de la marchitez por Fol-3 en los cultivares de jitomate. | 17 |
| Cuadro 2 | Severidad de la marchitez en jitomate de variedades Jazmín, Bizarr, Malinche y Multifort a los 7, 11, 15 y 22 días después de inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raza 3. | 21 |
| Cuadro 3 | Contenido de fenoles solubles totales (mg de fenoles solubles totales g ⁻¹ de materia seca) en raíz, tallo y hojas de diferentes variedades de jitomate inoculadas con Fol-3 y sin inocular. | 22 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|-----------|
| Figura 1. | Regresión lineal estimada para las variables contenido de fenoles solubles totales y porcentaje de severidad..... | 24 |
|-----------|--|-----------|

Uso de injertos y contenido de fenoles solubles totales en genotipos de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistentes y susceptibles a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3.

Luis Alberto Gómez Zavala, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2010

RESUMEN

En jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) germoplasmas no comerciales resistentes son usados como portainjertos para el control de enfermedades. Los compuestos fenólicos están asociados a genotipos resistentes contra especies de *Fusarium*. Altos contenidos de fenoles solubles totales puede estar asociado a genotipos resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3. En el presente estudio se comparo el porcentaje de severidad en plantas injertadas y no injertadas inoculadas con Fol-3, así como el contenido de fenoles solubles totales en plantas de jitomate Multifort resistente y Bizarr, Jazmín y Malinche susceptibles a este hongo. Plantas de los genotipos susceptibles injertadas sobre Multifort fueron inoculadas o no en una suspensión de 1×10^6 /ml conidios de Fol-3. La severidad se evaluó a los 7, 11, 15 y 22 días después de inoculadas las plantas de cada tratamiento. El contenido de fenoles solubles totales se determino en hoja, raíces y tallo mediante espectrofotometría a los 4 días de la inoculación con el patógeno. El mayor porcentaje de severidad fue en Jazmín inoculada seguida de Bizarr y Malinche inoculadas, estas a su vez fueron significativamente mayores a los valores de severidad en las combinaciones de injertos los cuales fueron estadísticamente iguales a los testigos. El contenido de fenoles solubles totales fue significativamente mayor en plantas resistentes que en susceptibles, la cantidad de fenoles en hoja fue significativamente mayor que la extraída en raíces y tallo. Los niveles de fenoles solubles totales se incrementaron en las plantas susceptibles, no siendo así, en las plantas resistentes puesto que se redujo la concentración en hoja y tallo al exponerse al patógeno. La correlación entre contenido de fenoles solubles totales y severidad es inversamente proporcional ya que los genotipos con mayor contenido de fenoles solubles totales registraron menor severidad.

Palabras clave: Injertos, Compuestos fenólicos, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3, resistencia

Rootstock and phenol content in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistant and susceptible genotypes to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3.

Luis Alberto Gómez Zavala, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2010

ABSTRACT

On tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) production, no commercial genotypes resistant to soil diseases are used as rootstock. Phenols are generally associated to *Fusarium*-resistant genotypes. High phenol contents could be the explanation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 (Fol-3) resistance in tomato. In this research, it was evaluated wilt severity of grafted and non-grafted tomato varieties Multifort (resistant) and Bizarr, Jazmín and Malinche (susceptible) that were inoculated with Fol-3, as well as soluble total phenols. Susceptible genotypes grafted on Multifort were inoculated with Fol-3 1×10^6 spores/ml. Control plants were inoculated with autoclaved distilled water. Wilt severity was evaluated on 7, 11, 15 and 22 days after inoculation. Soluble total phenols were determined on leaves, roots and stems, using spectrophotometry 4 days after inoculation. Highest level of wilt severity was observed on Jazmin, Bizarr and Malinche plants that were inoculated. When these susceptible varieties were grafted on Multifort, no disease was observed. Control plants did not show symptoms. Phenols were significantly higher on resistant plants compared with susceptible plants. The amount of phenols was significantly higher in leaves compared with roots and stems. Phenols increased in inoculated susceptible plants but not in resistant plants that show a reduction on phenols in leaves. We observed a negative correlation between phenols and wilt severity since resistant genotypes show the highest phenol levels and the lowest severity.

Keywords: graft, phenols, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3, resistance

I. INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L. = *Lycopersicon lycopersicum* Mill.) es una hortaliza con importancia a nivel nacional e internacional debido a su alta demanda, con mercado para consumo en fresco o industrializado (Rodríguez, 2006). La FAO en sus registros ubica a China como el principal país productor de jitomate con 35 millones de toneladas. México ocupa el décimo lugar con producción de 3 millones de toneladas anuales (FAOSTAT, 2006). En México el jitomate tiene importancia tradicional en la dieta alimenticia, siendo principalmente consumido en fresco (Rodríguez, 2006). Los principales estados productores de jitomate en México son: Sinaloa, Baja California, Michoacán, San Luis Potosí, Jalisco, Nayarit y Morelos. La producción se distribuye en los ciclo Otoño-Invierno y Primavera–Verano, de tal manera que la producción de jitomate en el país es todo el año (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008).

En México el 80% de la producción de jitomate se realiza a cielo abierto, lo que expone al cultivo a una diversidad de patógenos que se encuentran en suelo y que podrían mermar la producción (Echavarría y Castro, 2002). La marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* que ha evolucionado a razas 1, 2 y 3 (Tello *et al.*, 1988), destaca como una de las principales limitantes debido a su potencial destructivo. Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo causando importantes pérdidas en el cultivo de jitomate (Cai *et al.*, 2003). El primer reporte de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 (Fol-3) en México se realizó en 1996 a partir de unas plantas de jitomate colectadas en Sinaloa (Valenzuela *et al.*, 1996).

El desarrollo de variedades resistentes a enfermedades ha sido una forma efectiva en el control de enfermedades del suelo. Sin embargo, no es suficiente ya que la evolución de las diferentes razas del patógeno ha sido muy rápida, rebasando la resistencia desarrollada en las variedades comerciales (Robinson, 1980).

Existen genotipos de jitomate resistentes a las razas 1, 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol). Sin embargo, la mayoría de ellos son materiales no comerciales. (Valenzuela *et al.*, 1996; Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008). Una manera de aprovechar estos materiales resistentes es utilizándolos como injertos. En cultivos rentables como el jitomate el uso de técnicas como el injerto empleando portainjertos resistentes a patógenos de suelo ha sido una alternativa viable para los productores en el control de enfermedades, y más efectiva que cualquier desinfección de suelo con agroquímicos. El uso de injertos permite producir jitomate en suelo o sustratos contaminados con patógenos (Muñoz, 2003).

Existen numerosos reportes relacionados con los mecanismos de resistencia de plantas a patógenos. Ellos indican diversas estrategias desarrolladas por la planta que consisten en defensa física o estructural y defensa química. La defensa química involucra la producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana. Una de las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios es la de los fenilpropanoides, a través de ella se sintetizan compuestos con diversas funciones en las plantas. Los compuestos fenólicos se forman en esa ruta metabólica y una de las funciones que desempeñan es la de proteger las plantas contra hongos, bacterias y virus (Vermerris y Nicholson, 2006; Vincenzo *et al.*, 2006). La acumulación de fenoles en plantas de papa se ha relacionado con la resistencia a la infección por *Streptomyces scabies*, *Verticillium albo-atrum* y *Phytophthora infestans* en tubérculos de papa (Vincenzo *et al.*, 2006) y a la infección por *Fusarium oxysporum* en jitomate (Carrasco *et al.*, 1978). Estos compuestos pueden estar de forma constitutiva en las plantas o sintetizados en respuesta a la infección. En cultivares de jitomate se ha asociado la inhibición de germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* con la acumulación de compuestos fenólicos en el tejido de la planta (Steinkellner, 2005). Este tipo de compuestos se encuentran tanto en genotipos susceptibles como en resistentes, pero se acumulan en mayor cantidad y más rápidamente en variedades resistentes que en susceptibles (Benhamou *et al.*, 1991; Attitalla, 2004).

Por lo anterior descrito, en el presente estudio se pretende establecer si el uso de injertos ofrece ventajas importantes en el control de la marchitez en jitomate y la posible relación de la resistencia de genotipos de jitomate contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 y la acumulación de compuestos fenólicos solubles totales. Por esta razón se planteo la presente investigación con los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el efecto del portainjerto y de las variedades comerciales de jitomate sobre el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3, y comparar el contenido de fenoles solubles totales en plantas de jitomate resistentes y susceptibles a Fol-3, inoculadas y no inoculadas a este patógeno.

Objetivos particulares

- Evaluar la severidad de Fol-3 en plantas de jitomate susceptibles (Bizarr, Jazmin y Malinche), resistentes (Multifort) e injertadas (Multifort x Bizarr, Jazmin, Malinche).
- Cuantificar el contenido de fenoles solubles totales de plantas de jitomate resistente, susceptibles, inoculadas y no inoculadas.
- Determinar la correlación de la concentración de fenoles solubles totales y el porcentaje de severidad en los diferentes genotipos inoculados con Fol-3.

Hipótesis generales

El injerto de variedades comerciales susceptibles a Fol-3 sobre un portainjerto resistente permite el desarrollo de plantas sanas en sustratos infestados con Fol-3.

El contenido de fenoles solubles totales en plantas resistentes a Fol-3 es mayor que el de las susceptibles sin inocular e inoculadas las plantas.

II. Revisión de Literatura

***Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen**

Distribución y presencia en México

De las enfermedades causadas por hongos del suelo destaca por su potencial destructivo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), que es un patógeno cosmopolita con distribución mundial y causante de la enfermedad llamada marchitez vascular. Este patógeno ha sido reportado en las principales regiones productoras de jitomate de más de 32 países (Ploetz y Haynes, 2000). En la interacción jitomate-Fol se ha desarrollado la especialización racial del agente patógeno responsable de la marchitez vascular en dicho cultivo, identificándose las razas 1, 2 y 3 por líneas diferenciales, encontrándose además en estas líneas fuentes de resistencia en genotipos no comerciales a las tres razas mencionadas (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008). En México el primer reporte de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 fue registrado en el estado de Sinaloa (Valenzuela *et al.*, 1996). En ese estado se han reportado las tres razas de Fol, las cuales afectan sustancialmente la producción de jitomate en las principales regiones productoras (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008). Las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad llegan a ser del 60% del rendimiento, además de mermar la calidad de los frutos en variedades susceptibles (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008; Agrios, 2001), o resistentes a las razas 1 y 2 de este patógeno (Cai *et al.*, 2003).

Clasificación taxonómica y características morfológicas

Fusarium oxysporum pertenece a la clase Sordariomycetes, orden Hypocreales, Familia Nectriaceae (Nelson *et al.*, 1983). *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen, razas 1, 2 y 3 son morfológicamente indistinguibles, pero difieren en su patogenicidad a diferentes cultivares de jitomate (Samuel, 2007).

Se han realizado estudios para caracterizar las diferentes razas de Fol. De esta manera, Lugo y Sanabria (2001), en su estudio de caracterización morfológica y patogénica de diferentes aislamientos de Fol, encontraron gran variabilidad en la apariencia y coloración de las colonias, así como también en la producción de esporas. La alta variabilidad encontrada hace de las características morfológicas de poca utilidad para la identificación de razas fisiológicas del patógeno. Booth, (1971) y Arcia, (1990), señalan que las características de los aislamientos de *Fusarium* permiten la identificación de especies, más no de razas, para ello

deben utilizarse las pruebas de patogenicidad en cultivares diferenciales. Además de pruebas bioquímicas.

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* produce tres tipos de esporas asexuales. Los microconidios (conformados por una o dos células) son las más frecuentes y las únicas que se pueden producir en el interior de los haces vasculares de las plantas afectadas. Otro tipo de esporas son los macroconidios los cuales son curvos, de tres a cinco células y formados en esporodocios en la superficie de las plantas. Se ha observado que la mayoría de macroconidios de los aislamientos de esta especie presentan diversos tamaños que varían entre 20.28 y 27.04µm de largo y 6.7µm de ancho, su forma es curva y presentan de 3 a 5 septas transversales; mientras que las microconidias muestran tamaño de 6.7 a 13.52µm de largo y 3.3µm de ancho, forma ovalada y ninguna o una sola septa (Lugo y Sanabria, 2001).

Por otro lado, las clamidosporas tienen una o dos células redondeadas, de pared gruesa y se producen en la parte terminal o intercaladamente en el micelio viejo o en macroconidios. Este tipo de esporas son estructuras de supervivencia y pueden sobrevivir en el suelo durante más de 5 años dependiendo del clima. Estas estructuras germinan y penetran a través de las heridas que se forman al emerger las raíces laterales o penetran directamente al tejido joven en la zona de elongación. El micelio avanza intercelularmente y alcanza la región del xilema. El hongo se desarrolla en las traqueidas, vasos y células parenquimatosas. El micelio se ramifica y produce microconidias, las cuales se desprenden y son arrastradas hacia arriba por corriente de savia, vuelven a germinar y producen más micelio y microconidias (Agrios, 2001).

Síntomas

El indicio de la enfermedad aparece en la etapa de plántula, al inicio de la floración o durante la formación de los primeros frutos, observándose amarillamiento en las hojas inferiores generalmente unilateral, puesto que se manifiesta en las hojas e incluso folíolos de un solo lado de la planta. Esto es seguido de un marchitamiento y finalmente la muerte de la planta (Agrios, 2001). Otro síntoma característico se observa como necrosis de color marrón en los vasos conductores de xilema, lo cual avanza desde el nivel del suelo hasta la parte más alta de la planta. La necrosis es también unilateral y coincide con el amarillamiento del follaje. Cuando las raíces y tallos son invadidos por el hongo, los síntomas se muestran como una pudrición oscura, particularmente sobre las raíces laterales más pequeñas. Puede manifestarse una marchitez en verde de la parte aérea reversible en los primeros estadios, después se hace permanente y la planta muere. También las plantas infectadas pueden

manifestar amarillamiento que comienza en las hojas inferiores del dosel de la planta que termina por secarla, la planta muere de dos a cuatro semanas después de la infección (Agrios, 2001; Ploetz *et al.*, 2000). Después que la planta muere, y bajo condiciones de ambiente húmedo, el hongo fructifica sobre la superficie del tallo (Wayne, 2004).

Biología y ecología

La marchitez vascular es favorecida por climas cálidos y suelos con textura arenosa. En regiones templadas la incidencia de la enfermedad es muy severa en cultivos desarrollados bajo condiciones de invernadero. Los daños se presentan con mayor severidad cuando la planta es sometida a periodos de estrés en la etapa de plántula floración o fructificación (Wayne, 2004). La marchitez del jitomate es una enfermedad muy común y destructiva. Puede causar pérdidas severas en los cultivos susceptibles, cuando las temperaturas del suelo fluctúan entre los 25 a 31 °C, (temperatura óptima de 28 °C), alta humedad en el suelo y días cortos. *Fusarium* spp. puede ser diseminado a través de semilla, estocones, plántulas infectadas, maquinaria agrícola, herramientas, agua de riego o cualquier medio que facilite el movimiento de suelo (Agrios, 2001). El hongo sobrevive en restos de cultivo de una temporada a otra y las estructuras de resistencia que posee le permiten perdurar en el suelo por espacio de 6 años. Es favorecido por temperaturas cálidas (20°C) asociada a alta humedad relativa. Este patógeno penetra en la planta a nivel del suelo ya sea por el tallo o raíces superficiales, luego a través de los haces vasculares es trasladado a toda la planta (Jones, 1997).

Control químico

El uso de agroquímicos como el bromuro de metilo, metam sodio y metam potasio han sido utilizados como estrategias para el control de fitopatógenos por su amplio espectro contra patógenos del suelo (Ohr *et al.*, 1996) Estos productos son empleados en las principales zonas productoras de jitomate para el control de *Fusarium oxysporum*. Además de reducir significativamente la incidencia de enfermedades también favorecen la disminución del uso de herbicidas, de tal manera que han sido usados en el control de malezas. Sin embargo, el uso excesivo de ellos tiene un profundo efecto negativo en el ambiente principalmente a la capa de ozono debido a los residuos de su uso (Ristaino y Thomas, 1997; Ohr *et al.*, 1996;

Nuez, 1995). Por lo anterior, se han estado evaluando diversos productos químicos alternos y menos tóxicos para el control de enfermedades con origen en el suelo (Ohr *et al.*, 1996).

El tratamiento de plántulas con Benomyl (fungicida sistémico) ha sido efectivo en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopercici*, Por ejemplo Mihuta-Grimm *et al.*, (1990), lograron un óptimo control en producción de plántula de jitomate usando concentraciones bajas del fungicida (0.090 g a.i/L). Los autores hacen la recomendación de aplicarlo en plántulas con 21 días de edad en adelante y solo a bajas concentraciones ya que de aumentar la concentración se provocara fitotoxicidad en las plántulas.

Control biológico

Una alternativa ambientalmente sana de manejo de las enfermedades es el control biológico y como parte de esa estrategia se han usado diferentes organismos antagonistas a los fitopatógenos que provocan enfermedades, dentro de ellos los de origen en el suelo (Agrios, 2001; Nuez, 1995). Al respecto, han sido evaluados y aplicados en los diferentes sistemas de producción de jitomate con resultados variables. Por ejemplo, la inoculación de plántulas con *Trichoderma* mostraron eficiencia en el control de Fol, como método preventivo ya que de estar primero expuestas las plántulas al patógeno, no tiene efectividad en el control las especies de *Trichoderma* (Osunde *et al.*, 2002).

Además de los organismos benéficos o antagonistas de fitopatógenos, el uso de extractos vegetales también son importantes en el control o manejo de enfermedades causadas por hongos en jitomate. Al respecto, Rodríguez *et al.*, (2002), encontraron que con la inmersión del sistema radical de las plántulas de jitomate en extracto acuoso de semilla de *Citrus paradisi* (citrex), antes del trasplante y posteriores aplicaciones del producto al suelo cada semana se logra reducir la marchitez por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* hasta en 85 %. Lo anterior representa una alternativa importante en los programas de manejo de enfermedades causadas por patógenos de suelo.

Control Genético

La resistencia genética en las plantas contra fitopatógenos es el método más importante en el control de enfermedades por ser el mas económico, efectivo e inocuo (Ascencio-Álvarez, *et al.*, 2008). Variedades de plantas son resistentes a un genotipo de algún patógeno con el mismo espectro de virulencia llamándosele a este grupo raza, pero son susceptibles a otras

razas del mismo patógeno. Este tipo de resistencia en las plantas permite diferenciar claramente entre las razas de un patógeno, ya que es efectiva contra ciertas razas específicas del mismo patógeno e ineficaz contra otras, a este tipo de resistencia se le conoce como resistencia vertical (Robinson, 1989; Agrios 2001).

El uso de cultivares resistentes a múltiples enfermedades es común gracias al desarrollo de resistencia a enfermedades desde hace 70 años, el progreso ha sido mayor en enfermedades fungosas del suelo tales como la marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: razas 1 y 2 y más recientemente raza 3), marchitez por *Verticillium*, cancro del tallo por *Alternaria* y pudrición de la corona y raíz por *Fusarium oxysporum* F. sp. *radicis-lycopersici*.(Scott, 2005).

El marchitamiento por *Fusarium* en jitomate es difícil de controlar con fungicidas después de que el hongo penetra al tejido vegetal. La utilización de variedades resistentes es la estrategia más adecuada para el manejo de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. En el mercado existen variedades con resistencia a las razas 1 y 2 y en menor proporción a la raza 3. Esta resistencia puede perderse cuando se producen heridas ya sea por nematodos o al realizar algunas prácticas de manejo. Por lo tanto el suelo libre de nematodos así como evitar heridas en raíces al laborear el suelo contribuirá a mantener la sanidad del cultivo. Sin embargo, asegurar esto en campo es complicado. Las plantas enfermas deben eliminarse lo más pronto posible a efectos de reducir la fuente de inóculo (Wayne, 2004)

Ascencio-Álvarez *et al.*, (2008) resaltó la importancia de la resistencia genética como el método de control más efectivo, económico y ambientalmente viable para el manejo de enfermedades, al evaluar la herencia de especies de jitomate con resistencia a Fol-3 tomando como fuentes de resistencia a *Lycopersicon esculentum*, *L. peruvianum* y *L. pimpinellifolium*. Los investigadores cruzaron 3 cultivares de estas especies resistentes a Fol-3 como hembras y 3 cultivares de las especies mencionadas susceptibles a Fol-3 como progenitores masculinos con características deseables para el mercado. Los genes de resistencia se mostraron aparentemente dominantes y la herencia de la resistencia de tipo monogénica con dominancia completa. Los resultados de la investigación indicaron que las especies *Lycopersicon esculentum*, *L. peruvianum* y *L. pimpinellifolium* son fuente de resistencia a Fol-3, y que *L. esculentum* cv. Motell además de ser resistente, presentó frutos con características deseables para comercializarse.

Una fuente de resistencia genética a enfermedades es la encontrada en el germoplasma silvestre que en algunos casos ha sido aprovechado en tecnologías amigables con el ambiente. Una de esas tecnologías es el uso de injertos, el cual ha sido utilizado principalmente en solanáceas y cucurbitáceas con el propósito de conferir resistencia o tolerancia a enfermedades del suelo a las plantas injertadas. Algunas enfermedades que han sido controladas mediante el uso de injertos son las provocadas por *Fusarium* y *Phytophthora melonis* (en melón y pepino), *Pseudomonas solanacearum*, *Fusarium oxysporum*, *Meloidogyne* sp. y *Verticillium dahliae* (en jitomate) (Oda, 1999; López, 2009).

Injertos

El injerto consiste en la unión de dos porciones de tejido vegetal viviente, que crecen y desarrollan como una sola planta (Hartmann y Kester, 2002), donde el cultivar comercial (generalmente susceptible pero de alto rendimiento y buena calidad de fruto) se injerta sobre un portainjerto resistente el cual además cumple la función de absorber agua, nutrimentos del suelo o sustrato y aislar la planta susceptible de los patógenos del suelo (Lee, 1994; López, 2009).

En jitomate las interacciones patrón-injerto son interespecíficas (López *et al.*, 2009). López *et al.*, (2009) evaluaron el efecto interactivo del portainjerto y del cultivar comercial sobre el crecimiento y productividad del cultivo, empleando la combinación de tres portainjertos (Maxifort, Beaufort de la empresa De Ruitter y un genotipo silvestre conocido como cuajitomate) y como injertos los cultivares Badro, Imperial y Caiman (de la casa Enza zaden). Catorce semanas después de cosecha no hubo diferencias significativas entre los tratamientos y los testigos en cuanto al rendimiento total expresado en Kg/m² y el número de frutos por m². Lo anterior indica que para estas variables bajo las condiciones en las que se llevo el estudio no hubo efecto significativo de los portainjertos. Por otro lado, la respuesta de la interacción interespecífica en injertos entre genotipos de jitomate ha sido positiva en el control de enfermedades. Al respecto, materiales como el híbrido Heman (obtenido de la cruce de *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon hirsutum*) confiere a plantas injertadas resistencia a nematodos, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahlia* y *Pyrenochaeta lycopersici*. Mitidieri y colaboradores (2004) evaluaron el uso de injertos de jitomate sobre la incidencia de enfermedades ocasionadas por nemátodos y patógenos del suelo, probando la combinación de los cultivares Superman y Fortaleza sobre el portainjerto Heman. En sus

resultados mostraron porcentajes significativamente menores en plantas muertas y plantas con síntomas en la parte aérea en comparación con las plantas no injertadas a 30 días después del trasplante. Además de estos beneficios obtuvieron mayor rendimiento y mejor calidad de frutos en las plantas injertadas. Lo anterior demuestra que los injertos además de conferir resistencia, también provee de una eficiente absorción de nutrientes y agua a la parte aérea de la planta.

La técnica del injerto se vislumbra como un método alternativo para el control de enfermedades que puede incluirse en el manejo integral fitosanitario, aunado a la rotación de cultivos no huéspedes de determinados patógenos como el caso de lechuga y acelga para el manejo de Fol en zonas productoras de jitomate, eliminación de plantas enfermas y restos del cultivo, utilización de semillas certificadas y plántulas sanas, uso de variedades resistentes, desinfección de útiles de trabajo, la solarización entre otras medidas que nos permitan explotar el potencial productivo de los cultivares de jitomate (Oda, 1999; López *et al.*, 2009; Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008; Wayne, 2004).

Mecanismos de defensa en las plantas

La resistencia de las plantas a patógenos comprende diversas estrategias de defensa que incluyen la defensa estructural por medio de barreras físicas y la de tipo bioquímica (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003; Vincenzo *et al.*, 2006). La defensa bioquímica involucra la producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003). Una de las rutas de biosíntesis importantes en el metabolismo secundario es la de los fenilpropanoides, a través de ella se sintetizan compuestos con diversas funciones en las plantas como: la síntesis de pigmentos, compuestos relacionados con el crecimiento de las plantas, moléculas señalizadoras como el ácido salicílico, compuestos volátiles de significativa importancia ecológica para la atracción de polinizadores y dispersores de semillas, monómeros de lignina y ácidos fenólicos (Vermerris y Nicholson, 2006; Vincenzo *et al.*, 2006). Los compuestos fenólicos son unos de estos metabolitos con amplia variedad de funciones, entre ellas la de proteger las plantas cuando son atacadas por hongos, bacterias y virus (Vermerris y Nicholson, 2006; Vincenzo *et al.*, 2006; Pegard *et al.*, 2005). Estos autores definen a los compuestos fenólicos como compuestos que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos directamente a un anillo aromático. Considerando la estructura de los compuestos fenólicos, pueden dividirse en cuatro clases: fenoles, ácidos benzoicos, fenilpropanoides y

flavonoides (Takahama y Takayuki, 2000). Estos compuestos son solubles en solventes polares como metanol, etanol, agua y mezclas de alcohol con agua (Van-sumere, 1989 citado por Vincenzo, 2006). Otra característica de los compuestos fenólicos es que presentan intensa absorción de la región ultravioleta del espectro de luz, cada clase de los compuestos fenólicos tienen características distintivas de absorción (Vincenzo, 2006). Esta característica permite que estos compuestos puedan ser determinados mediante métodos espectrofotométricos.

En general, el papel de los compuestos fenólicos en defensa de las plantas se relaciona con sus propiedades antibióticas, antinutricionales o desagradables (inpaladables). El patrón de compuestos fenólicos en las plantas es compleja, estos cambian de un órgano a otro y entre etapas fenológicas así como entre especies y cultivares (Vincenzo *et al.*, 2006). Estos compuestos también pueden ser sintetizados en todos los órganos y tejidos de la planta, pero son almacenados en determinados órganos o en todos, o también en otros diferentes a los de su síntesis (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003). Por ejemplo, el contenido de ácido clorogénico en extracto de hojas de plantas de chile es mayor que el concentrado en extractos de tallo y raíz (López, 2007). Las barreras físicas y químicas preformadas constitutivamente y presentes sobre la superficie de las plantas (tricomas, capas de cera, rigidez de las paredes celulares y metabolitos secundarios antimicrobiales) previenen de la invasión de patógenos y su propagación; en cambio por el reconocimiento de la planta de agentes patógenos se induce el multicomponente sistema de defensa (Vincenzo, 2006). Por lo anterior se considera que la defensa preformada es el mejor componente de la resistencia no-hospedera, particularmente en plantas no domesticadas. De los componentes preformados por las plantas se encuentran péptidos, proteínas, metabolitos secundarios (compuestos fenólicos, sulfúricos, saponinas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos). Los fenoles antifúngicos preformados están presentes en plantas sanas en niveles que previenen y son antimicrobiales, sus niveles pueden incrementarse en respuesta a la provocación por patógenos (Vincenzo, 2006). En cambio, los multicomponentes de la defensa inducida responde después del ataque del patógeno, por lo que las plantas tienen una activación genética, en la cual genes codificaran para proteínas de defensa relacionadas con la actividad antifúngica y antimicrobiana o enzimas que catalizan metabolitos de defensa, conocidos como fitoalexinas; Otra respuesta de células invadidas a este mecanismo de defensa es la adición de calosa y lignina. (Vincenzo, 2006)

Los compuestos fenólicos se encuentran tanto en genotipos susceptibles como en resistentes, pero se acumulan en mayor cantidad y más rápidamente en variedades resistentes que en susceptibles y pueden estar de forma constitutiva en las plantas o sintetizados en respuesta a

la infección de algún patógeno (Benhamou *et al.*, 1991; Attitalla 2004; Vincenzo, 2006). La acumulación de fenoles se ha relacionado con la resistencia o tolerancia a la infección por *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum* y *Phytophthora infestans* en tubérculos de papa (Vincenzo *et al.*, 2006). En el cultivar de chile CM-334 la resistencia a nematodos agalladores de la raíz involucra mayor contenido de ácido clorogénico. Al respecto, Pegard *et al.*, (2005) en su estudio con líneas de chile susceptibles (DLL) y resistentes (CM334) a *Meloidogyne* encontraron que, la cantidad de ácido clorogénico es mayor en extractos de raíces inoculadas con *M. incognita*, *M. javanica* y *M. incognita* en el genotipo CM-334 que el extracto de raíz de las plantas no inoculadas. El contenido de ácido clorogénico incrementó 59 veces en las plantas inoculadas a los 5 días después de la inoculación y 7 veces más al contenido de ácido clorogénico en el genotipo susceptible. Así, estos autores sugieren que la inducción de compuestos fenólicos como el ácido clorogénico pueden ser un importante componente de la resistencia en la línea de chile CM334.

Por otro lado, el contenido de fenoles totales está asociado a genotipos con resistencia a fitopatógenos como *Phytophthora capsici* y *Meloidogyne incognita* (Pegard, 2005). Al respecto, Hernández (2008), encontró que la concentración de fenoles totales libres fue mayor en plantas de chile resistentes (CM-334) que el contenido en las plantas susceptibles, tanto en extractos de raíces (6 %) como en el de hojas (21.7%). Además, los contenidos de fenoles incrementaron después de inocular las plantas con *Meloidogyne incognita* o *N. aberrans* tanto en plantas resistentes como en susceptibles en comparación con las no inoculadas, siendo mayor éste incremento en extractos de hojas que en el de raíz. López (2007) encontró mayor contenido de fenoles solubles totales al inocular CM-334 con *Phytophthora capsici* que en las no inoculadas. Contrario a este resultado fue al inocular con *N. aberrans*, ya que disminuyó significativamente el contenido de fenoles solubles totales al inocular en comparación a las no inoculadas, tanto en plantas resistentes como en susceptibles. Por lo anterior el autor comenta que la pérdida de resistencia o inhibición de esta a *P. capsici* por ataque de *N. aberrans* puede ser debido en parte a la reducción de fenoles solubles totales, además de la disminución de la actividad de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL por sus siglas en inglés) y peroxidasas.

Se ha reportado que plantas silvestres de tabaco (*Nicotiana tabacum*) con altos niveles de ácido clorogénico desarrollaron menos lesiones causadas por la infección de *Cercospora nicotianae* (Maher *et al.*, 1994). En cambio, en plantas transgénicas con niveles reducidos de ácido clorogénico hubo desarrollo de lesiones más rápido y con mayor extensión en la superficie de las hojas en comparación con las plantas silvestres.

En jitomate (*Lycopersicon esculentum*) Steinkellner, (2005), encontró que en exudados de raíz, los compuestos fenólicos inhiben la germinación de microconidias de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. En el mismo estudio se encontró que los niveles de esos compuestos aparentemente varían con la edad de las plantas, sugiriendo que son de gran importancia en el inicio del proceso de la interacción jitomate-*F. oxysporum*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento de plantas

Semillas de jitomate variedades Multifort resistente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 1, 2 y 3 (Fol-1, Fol-2 y Fol-3), Bizarr, Jazmin y Malinche (resistentes a Fol-1 y Fol-2) fueron germinadas en charolas de plástico negro de 48 cavidades, usando Peat moss previamente esterilizado como sustrato. Las charolas se mantuvieron en invernadero a temperatura media de 28°C por 30 días.

Las plantas injertadas fueron proporcionadas por la empresa Seminis. En cada una de ellas fue usado como portainjerto el genotipo Multifort sobre el cual se injertó los variedades Bizarr, Jazmin y Malinche.

Inoculo e inoculación

La cepa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 fue proporcionada por el Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez (Universidad Autónoma de Sinaloa), quien la aisló de una zona productora de jitomate en Sinaloa. La cepa fue conservada en arena estéril dentro de tubos de ensaye para preservar la patogenicidad.

La arena que contenía la cepa de Fol-3 fue transferida a cajas Petri con medio de cultivo PDA para el crecimiento y desarrollo del patógeno. Para ello, las cajas con medio de cultivo se incubaron con luz blanca por 7 días a temperatura promedio de 25°C. Dos de estas cajas Petri con crecimiento de micelio y microconidios fueron utilizadas para la amplificación de la región del ITS (Olusegun, 2007) y secuenciación. La secuencia obtenida fue depositada en la base de datos del NCBI.

Discos de 0.5cm de medio con crecimiento fungoso se colocaron en el centro de otras cajas petri con medio de cultivo PDA para incrementar el inóculo. Las cajas se mantuvieron a temperatura promedio de 25°C incubadas en luz blanca (7 días) y luz oscura (7 días) para inducir la formación de microconidios y macroconidios. Al término de este tiempo se cuantificaron las esporas con ayuda de un hematocitómetro y se preparó una solución conidial de 1×10^6 por mililitro (Lugo y Sanabria *et al.*, 2001). La inoculación de Fol-3 en los diferentes

materiales se hizo en plántulas de 30 días de edad, previo al trasplante a través de inmersión de raíces por 30 minutos en la suspensión de conidios. Las plantas se transplantaron en macetas de plástico de 40x40 cm utilizando tezontle desinfectado como sustrato. Para la evaluación de este experimento las plantas se mantuvieron en invernadero a temperatura promedio de 26°C y fueron irrigadas con agua corriente durante el primer día posterior al trasplante. Posteriormente fueron irrigadas diariamente con solución nutritiva Stainer al 25% por 15 días. Transcurrido este tiempo se aplicó la solución al 50 % y a los 30 días después del trasplante se regó con la solución Stainer al 100% y ajustando la conductividad eléctrica a 2 en el tiempo que se aplicó la solución nutritiva.

Evaluación de la severidad

De los genotipos Bizarr, Jamin, Malinche y Multifort se inocularon 6 plantas de cada uno con Fol-3, y 10 plantas de cada combinación de plantas injertadas (Multifort x Bizarr, Multifort x Jazmin, Multifort x Malinche). Los testigos fueron variedades sin inocular y sin injertar. Los tratamientos fueron distribuidos de manera aleatoria en la mesa de trabajo. La respuesta de las plantas al patógeno se hizo utilizando la escala de severidad 0 al 5 (cuadro 1) tomando como referencias las utilizadas por Marlatt *et al.* (1996) y Lugo y Sanabria *et al.* (2001).

Cuadro 1. Escala para la evaluación de la severidad de los síntomas de la marchitez por Fol-3 en los cultivares de jitomate.

| | |
|---|---|
| 0 | Sin síntomas visibles |
| 1 | Clorosis leve en las primeras hojas |
| 2 | Clorosis moderada en menos del 50 % del follaje de la planta |
| 3 | Clorosis severa en mas del 60% del follaje, y marchitamiento de las primeras hojas |
| 4 | Clorosis severa y marchitamiento en mas del 80% del follaje, pero con primordios en crecimiento |
| 5 | Muerte de la planta |

Los datos derivados de la escala de severidad registrados durante cuatro tomas de datos (a los 7, 11, 15 y 22 días después de inoculadas las plantas) de cada repetición fueron transformados los valores mediante la formula de Townsend y Hauberger (1943) citados por Apodaca (1993), para determinar la severidad media de cada tratamiento.

Los valores de severidad media de los tratamientos fueron ajustados (transformados) para cumplir con los estándares de homogeneidad y normalidad para valores porcentuales (Fry, 1993), entonces se sometieron a un análisis de covarianza y prueba múltiple de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$) con el programa estadístico SAS.

Obtención y procesamiento de muestras para extracción de fenoles solubles totales

5 días después de la inoculación las plantas fueron cosechadas para obtener 5g de raíz, tallo y hoja. Después de pesado el tejido, se envolvió en papel aluminio, fueron etiquetadas las muestras y se almacenaron a -20°C hasta su utilización. Posteriormente las muestras congeladas fueron liofilizadas a temperatura de -47°C y presión constante de 35 Bares durante 24 horas. El tejido liofilizado correspondiente a cada uno de los diferentes tratamientos fue macerado con mortero y se utilizó 1 gramo de tejido de cada tratamiento para la extracción de compuestos fenólicos solubles totales.

Extracción de fenoles solubles totales

La extracción se hizo de acuerdo a la metodología descrita por Gayoso *et al.*, 2004 con las siguientes modificaciones: A un gramo de tejido liofilizado se adicionaron 10 ml de metanol al 80% y se dejó reposar durante una hora. Posteriormente las muestras se colocaron en baño María con temperatura de 85°C durante 15 minutos. Al cabo de ese tiempo, el extracto fue filtrado y utilizado para la cuantificación de fenoles solubles totales.

Cuantificación de fenoles solubles totales

La determinación de fenoles solubles totales se hizo por espectrofotometría, usando el reactivo Folin-Ciocalteu (SIGMA-ALDRICH). La mezcla de reacción para cada muestra consistió en agregar a tubos ependorf 50 μl de extracto metanólico obtenido previamente, este fue oxidado con 50 μl del reactivo folin-ciocalteu (Sigma-AldrichMR) y 2 minutos después la reacción fue neutralizada con 1000 μl de carbonato de sodio (NaCO_3 al 2%). Posteriormente la mezcla se dejó reposar por 30 minutos. La absorbancia, de color azul, fue medida a 760 nm en un espectrofotómetro (ND-1000), usando ácido clorogénico como estándar. La concentración de fenoles solubles totales fue expresada como mg de ácido clorogénico por gramo de tejido liofilizado.

Los datos obtenidos en esta evaluación fueron analizados con un diseño experimental completamente al azar y sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y comparación múltiple de medias Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el programa estadístico SAS versión 8.1.

IV. RESULTADOS

La secuencia obtenida de la región del ITS de la cepa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 identificada por el Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez fue depositada en The National Center for Biotechnology Information con el número de acceso FJ595478.

Secuencia 1. *Fusarium oxysporum* isolate Apodaca número de acceso FJ595478. Secuencia parcial del gen 18S ribosomal RNA; internal transcribed spacer 1, gen 5.8S ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2; y secuencia parcial del gen 28S ribosomal RNA.

```
tttggagtt aanagtgtaa caaggtctcc gttggtgaac cagcggaggg atcattaccg
agtttacaac tcccaaacc ctgtgaacat accacttggt gcctcggcgg atcagcccgc
tcccggtaaa acgggacggc ccgccagagg acccctaacc tctgtttcta tatgtaactt
ctgagtaaac ccataaataa atcaaaactt tcaacaacgg atctcttggt tctggcatcg
atgaagaacg cagcaaatg cgataagtaa tgtgaattgc agaattcagt gaatcatcga
atctttgaac gcacattgcg cccgccagta ttctggcggg catgcctggt cgagcgtcat
ttcaaccctc aagcacagct tgggtgtggg actcgcgta attcgcgttc ctcaaattga
ttggcgggtca cgtcgagctt ccatagcgta gtagtaaac cctcgttact ggtaatcgtc
gcggccacgc cgtaaacc ccaacttcgaat gtgnctcgat cngtgatcag tc
```

La secuencia alinea de manera perfecta con *Fusarium oxysporum* (mas del 99% de igualdad). Sin embargo, no fue posible su identificación a nivel raza con la región del genoma amplificada.

Análisis de covarianza para severidad

Los resultados del análisis de covarianza de los 11 tratamientos evaluados en cuatro ocasiones después de haber sido inoculados, muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las variables severidad y valor de severidad transformado o ajustado a los estándares de normatividad y homogeneidad.

En el cuadro 2, los resultados del análisis de prueba de medias LSD para la variable severidad y valores de severidad transformados (Arcsinsqrt), indican que el tratamiento Jazmín inoculada fue estadísticamente mayor que los demás tratamientos a los 7, 11, 15 y 22 días después de haber sido inoculadas (ddi) las plantas de dicha variedad de con valores de

severidad de 62%, 71%, 84.9% y 88% respectivamente, seguida de los tratamientos Bizarr inoculada y Malinche inoculada, siendo estas a su vez estadísticamente iguales a los 7 ddi (42%) y 11 ddi (50 y 45% respectivamente) y estadísticamente diferentes a los 15 y 22 días de estar expuestas al patógeno mostrándose mayor severidad en la variedad Bizarr (65% y 60% respectivamente a las dos fechas) que en el tratamiento Malinche inoculada la cual tuvo valores de 37% a los 15 días y 40% a los 22 días después de haber sido inoculadas. Cabe destacar que para estas mismas variables los tratamientos Multifort inoculada, Bizarr injertada inoculada, Malinche injertada inoculada, Jazmin injertada inoculada fueron estadísticamente menores en severidad y estadísticamente iguales a los tratamientos testigo o control las cuales no fueron inoculadas.

Cuadro 2. Severidad de la marchitez en jitomate de variedades Jazmín, Bizarr, Malinche y Multifort a los 7, 11, 15 y 22 días después de inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3.

| | | Días después de la inoculados los tratamientos | | | | | | | |
|-------------------|-------------|--|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | | 7 | | 11 | | 15 | | 22 | |
| Variedad | Inoculación | Severidad | arcsinsqrt | Severidad | arcsinsqrt | Severidad | arcsinsqrt | Severidad | arcsinsqrt |
| Jazmin | Si | 62.08 ^A | 0.91 ^A | 71.36 ^A | 1.03 ^A | 84.93 ^A | 1.30 ^A | 88.08 ^A | 1.40 ^A |
| Bizarr | Si | 42.08 ^B | 0.70 ^B | 50.93 ^B | 0.79 ^B | 65.33 ^B | 0.99 ^B | 60.40 ^B | 1.01 ^B |
| Malinche | Si | 42.43 ^B | 0.70 ^B | 45.43 ^B | 0.73 ^B | 37.20 ^C | 0.64 ^C | 40.23 ^C | 0.68 ^C |
| Multifort | Si | 2.21 ^C | 0.06 ^C | 5.45 ^C | 0.13 ^C | 5.00 ^D | 0.12 ^D | 3.75 ^D | 0.08 ^D |
| Jazminjertada | Si | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 2.26 ^C | 0.05 ^C | 1.03 ^D | 0.02 ^D | 0.34 ^D | 0.01 ^D |
| Bizarrinjertada | Si | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 1.53 ^C | 0.04 ^C | 1.05 ^D | 0.03 ^D | 0.61 ^D | 0.02 ^D |
| Malincheinjertada | Si | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 2.84 ^C | 0.06 ^C | 0.95 ^D | 0.02 ^D | 0.74 ^D | 0.02 ^D |
| Multifort | No | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D |
| Jazmin | No | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D |
| Bizarr | No | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D |
| Malinche | No | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^C | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D | 0.00 ^D |

Para cada toma de datos y para cada genotipo valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

Contenido de fenoles solubles totales

Los resultados de análisis de varianza muestran diferencias altamente significativas en el contenido de fenoles solubles totales, en los diferentes órganos de extracción por efecto de las variedades e inoculación así como por su interacción. Lo que indica que el comportamiento de las tres variables fue estadísticamente diferente para los 8 tratamientos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Contenido de fenoles solubles totales (mg de fenoles solubles totales/g⁻¹ de materia seca) en raíz, tallo y hojas de diferentes variedades de jitomate inoculadas con Fol-3 y sin inocular.

| Variedad | Ácido clorogénico (mg/g ⁻¹ de materia seca) | | | |
|--------------------|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Inoculación | Raíz | Tallo | Hojas |
| Multifort | No | 0.48 ^A | 1.27 ^A | 1.72 ^A |
| Multifort | Si | 0.42 ^A | 1.01 ^B | 1.09 ^B |
| Bizarr | No | 0.36 ^A | 0.33 ^A | 0.62 ^B |
| Bizarr | Si | 0.29 ^A | 0.37 ^A | 1.00 ^A |
| Malinche | No | 0.38 ^A | 0.32 ^B | 0.60 ^B |
| Malinche | Si | 0.35 ^A | 0.46 ^A | 1.09 ^A |
| Jazmin | No | 0.34 ^B | 0.40 ^A | 0.51 ^B |
| Jazmin | Si | 0.46 ^A | 0.20 ^B | 1.15 ^A |
| Promedio Multifort | | 0.45 ^a | 1.14 ^a | 1.40 ^a |
| Promedio jazmin | | 0.40 ^{ab} | 0.30 ^b | 0.83 ^b |
| Promedio Malinche | | 0.37 ^b | 0.39 ^b | 0.85 ^b |
| Promedio Bizarr | | 0.32 ^b | 0.35 ^b | 0.81 ^b |

Cada valor representa la media de tres repeticiones. Para cada órgano de la planta y para cada genotipo valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$). Las letras minúsculas corresponden a la prueba de comparación de medias de cada órgano de la planta entre los genotipos.

En el cuadro 3 de comparación de medias para el contenido de fenoles solubles totales entre plantas inoculadas y no inoculadas de cada variedad, se muestra que la inoculación en las diferentes variedades tuvo diferente efecto en la concentración de compuestos fenólicos en los diferentes órganos de las plantas para cada variedad, así como, entre variedades.

El contenido de fenoles solubles totales en las raíces de plantas inoculadas y no inoculadas de la variedad Multifort fue estadísticamente igual, difiriendo estos resultados en tallo y hojas de las plantas de la misma variedad, mostrándose diferencias estadísticamente significativas entre las plantas inoculadas y las no inoculadas, siendo 12.8 % mayor la concentración de los compuestos fenólicos en tallo de plantas sin inocular que inoculadas y en hojas de plantas inoculadas 29% mayor el nivel de ácido que de hojas de plantas sin inocular.

En la variedad Bizarr la acumulación de fenoles solubles totales en raíces y tallo fue estadísticamente igual. Sin embargo, la concentración de este compuesto en hojas fue estadísticamente superior (29.9 %) en plantas inoculadas a las no inoculadas.

La concentración de compuestos fenólicos en las raíces inoculadas y no inoculadas de la variedad Malinche fue estadísticamente igual, no siendo así, en tallo y hojas donde el

contenido de fenoles fue estadísticamente superior (21% y 40.8 % respectivamente) de plantas inoculadas a las de plantas sin inocular.

La inoculación con Fol raza 3 en plantas de la variedad Jazmín, se asocio con mayor concentración de fenoles solubles totales en raíces y hojas (16% y 62.9% respectivamente) comparadas con las plantas no inoculadas, mientras en tallo se presento lo contrario, siendo estadísticamente superior en plantas no inoculadas que en inoculadas.

Los promedios de las medias del contenido de fenoles solubles totales de las plantas inoculadas y no inoculadas de cada variedad (Cuadro 3), muestran que en raíz la variedad Multifort es estadísticamente igual a la variedad Jazmin y superior a las demás variedades, estos promedios también indican que las variedades Jazmin, Bizarr y Malinche son estadísticamente igual en la concentración de los compuestos fenólicos de este órgano. En tallo y hoja del genotipo Multifort la concentración de fenoles solubles totales fue estadísticamente superior a las variedades Malinche Jazmin y Bizarr, las cuales fueron estadísticamente iguales en el contenido de fenoles solubles totales.

Comparando los promedios de los contenidos de fenoles totales entre órganos englobando las concentraciones de todos los cultivares por órgano se observó que la concentración de estos compuestos es mayor en la hoja que en el tallo y raíz (Cuadro 3: 38.8% y 75% respectivamente). En el mismo análisis de comparación de medias Tukey, también se observa que los niveles de fenoles solubles totales promediando los contenidos de los tres órganos así como de las concentraciones de las inoculaciones y testigos, se obtuvo que la variedad Multifort fue significativamente mayor que las demás variedades.

Coefficiente de correlación entre contenido de fenoles solubles totales y porcentaje de severidad

El grado de correspondencia ($r = -0.92679611$) indica que las variables están relacionadas de manera lineal e inversa, de modo que cuando el valor del contenido de fenoles solubles totales aumenta (en hojas), disminuye la severidad en las plantas al estar expuestas al patógeno Fol-3.

Regresión lineal estimada

La figura 1, da referencia de $y = mx + c$, lo cual nos permite conocer cuan resistente o tolerante puede ser alguna variedad de jitomate con un 92% ($R=0.92$) de confiabilidad en la predicción del porcentaje de severidad.

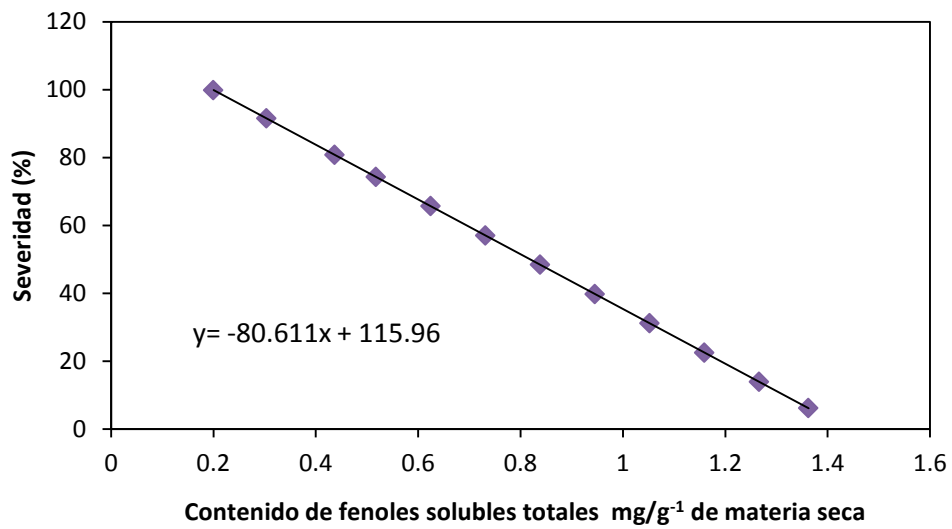


Figura 1. Regresión lineal estimada para las variables contenido de fenoles totales y porcentaje de severidad.

V. DISCUSIÓN

El uso de injertos en jitomate es una tecnología alternativa importante en el control de enfermedades. La resistencia genética en genotipos no comerciales son una fuente substancial de resistencia a patógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3, estos materiales pueden ser aprovechados como patrones en injertos para cultivares comerciales que son susceptibles a la raza 3 de Fol. El porcentaje de severidad en plantas injertadas y Multifort sin injertar que fueron inoculadas fue significativamente menor en comparación con las plantas sin injertar de los cultivares susceptibles (Bizarr, Jazmin y Malinche). La variedad Bizarr (resistente a Fol-1 y Fol-2) mostró susceptibilidad a la raza 3 de este patógeno. Es posible que la resistencia en Bizarr sea vertical pues es efectiva contra ciertas razas e ineficaz contra otras de el mismo patógeno (Robinson, 1989). Nuestros resultados indican que la variedad Multifort es resistente a Fol-3 puesto que fue estadísticamente igual a los testigos sin inocular, además de ser eficiente en el manejo de la enfermedad al emplearlo como portainjerto sobre el cual fue injertado las variedades Bizarr, Jazmin y Malinche, cumpliendo así con la función de proteger genotipos susceptibles y con valor comercial (Lee, 1994; López, 2009).

La protección química es una de las estrategias de defensa desarrollada por las plantas contra el ataque de microorganismos mediante la producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2004). Los compuestos fenólicos es de los metabolitos secundarios que las plantas vasculares normalmente producen y tienen un rol importante en la protección de las plantas por sus propiedades antibióticas, antinutricionales e inpaladables entre otras para patógenos (Vincenzo, 2006; Takahama *et al.*, 2000). El contenido de fenoles totales esta asociado a genotipos con resistencia a determinados fitopatógenos, en cultivares de jitomate en respuesta a la infección por hongos este tipo de compuestos se encuentran tanto en genotipos susceptibles como en resistentes, pero se acumulan en mayor cantidad y más rápidamente en variedades resistentes que en susceptibles (Benhamou *et al.*, 1991, Attitalla 2004).

De acuerdo a nuestros resultados, la variedad Multifort (que mostró resistencia a Fol-3 en la prueba de patogenicidad), tiene un contenido de fenoles solubles totales en extracto de raíz, tallo y hoja sin inocular estadísticamente superior a las variedades comerciales Bizarr, Jazmin y Malinche, las cuales fueron susceptibles al aislamiento Fol-3 coincidiendo el

comportamiento de estos compuestos con lo mencionado por Vincenzo *et al.*, (2006) quien menciona que los fenoles antimicóticos preformados están en plantas sanas en niveles que previenen y sus niveles pueden incrementarse en respuesta a la provocación por patógenos. Sin embargo, esto coincidió con nuestro trabajo solo en la comparación de cultivares susceptibles con resistente sin inocular, y en la tendencia de las concentraciones en los cultivares susceptibles inoculados, los cuales incrementaron el nivel de los compuestos al estar expuestos a Fol-3. Contrario a esto, el contenido en raíces de plantas inoculadas del genotipo Multifort fue estadísticamente igual a las no inoculadas, y los niveles en hoja y tallo de plantas del mismo cultivar sin inocular fueron significativamente mayor que los niveles de plantas inoculadas, por lo que la inoculación en este genotipo resistente, no indujo a un incremento en la concentración de compuestos fenólicos. Al respecto Vincenzo *et al.*, 2006 comenta que, la resistencia y la tolerancia requiere reasignación de recurso por parte del hospedante, por lo que la biosíntesis de compuestos de defensa tiene costos ecológicos en las plantas ya que las plantas susceptibles a ataques deben desplegar lo mas rápido posible la síntesis de estos compuestos ya que la efectividad de su defensa también esta en función del tiempo que le lleve en desplegar sus mecanismos de defensa. Por tanto muchas plantas propensas a sufrir frecuentes daños por estos ataques invierten principalmente en defensas constitutivas por lo que plantas que son atacadas con menor frecuencia confían principalmente en la defensa inducida, por lo anterior se sugiere que probablemente el nivel de fenoles solubles totales preformados en Multifort fue suficiente para conferirle resistencia al genotipo contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3.

El patrón de metabolitos secundarios en las plantas es compleja, estos cambian de un órgano a otro y entre etapas fenológicas así como entre especies y cultivares (Vincenzo *et al.*, 2006). Estos compuestos también pueden ser sintetizados en todos los órganos y tejidos de la planta, pero son almacenados en determinados órganos o en todos y ser almacenados en otros diferentes a los de su síntesis (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003).

La comparación de contenidos de fenoles solubles totales entre órganos de plantas inoculadas como de plantas sin inocular, indican que la concentración de estos compuestos es significativamente mayor en hoja que en tallo y raíz, mostrándose además el contenido de fenoles en hojas de plantas inoculadas estadísticamente mayor que el de no inoculadas en los cultivares susceptibles, lo que indica que el mayor incremento de estos compuestos al inocular con el patógeno es en las hojas. Al respecto, Hernández, (2008) encontró que en

cultivares de Chile resistentes y susceptibles a *Phytophthora capsici* y *Meloidogyne incognita*, el contenido de fenoles libres fue mayor en hojas que en raíz, el mismo comportamiento se mostró al inocular cultivares resistentes y susceptibles con *Meloidogyne incognita* incrementándose en mayor proporción los niveles en hojas de plantas inoculadas que el de no inoculadas, no siendo así el comportamiento en nuestro estudio en el genotipo resistente puesto que fue mayor la concentración de fenoles totales en hojas de plantas sin inocular que las inoculadas.

Una correlación negativa e inversamente proporcional entre las variables contenido de fenoles solubles totales y porcentaje de severidad fue detectada e indica que, el genotipo que menor severidad registro bajo presión del patógeno registro el mayor contenido de fenoles solubles totales que correspondió a el genotipo Multifort, mientras que las variedades que mayor porcentaje de severidad presentaron, los niveles de compuestos fenólicos fueron menores.

El coeficiente de determinación derivado de la regresión lineal estimada para las variables indica que, conociendo la concentración de fenoles solubles totales en hoja, se puede predecir con un 92 % de confiabilidad el porcentaje de severidad que presentara determinada variedad de jitomate, u otra forma de interpretarlo sería que el 92% de las variaciones en la severidad se explicarían por las variaciones en el contenido de fenoles solubles totales, la grafica derivada de la ecuación de regresión lineal de las variables mencionadas, da referencia de cuan resistente o tolerante puede ser alguna variedad de jitomate con determinado nivel de compuestos fenólicos con un nivel de confiabilidad aceptable.

VI. CONCLUSIONES

- El genotipo Multifort es una variedad resistente a Fol-3, útil como patrón para injertar variedades comerciales susceptibles.
- La severidad fue significativamente mayor en plantas de variedades comerciales sin injertar que en plantas injertadas de las mismas variedades.
- El contenido de fenoles solubles totales fue significativamente mayor en Multifort que el de las demás variedades comerciales que se mostraron susceptibles al patógeno.
- El mayor contenido de fenoles solubles totales se correlaciono con menor porcentaje de severidad en plantas resistentes como en susceptibles inoculadas con Fol-3.

VII. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2001. Fitopatología. 2da. Edición. Editorial Limusa. México. D. F. 838 p.
- Apodaca, S.M. A. 1993. Efecto de seis cultivos en la pudrición de la corona del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) causada por *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *Radicis-lycopersici* jarvis y Shoemaker en Sinaloa. Tesis de Maestro en ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. De México. 37 p.
- Arcia, A. 1990. Mejoramiento genético y agronómico del tabaco Burley en Venezuela (1966-1988). Universidad Central de Venezuela. Maracay. 214 p.
- Ascencio-Alvarez, A.; A. Lopez; F. Borrego; S. Rodriguez; A. Flores; F. Jiménez; A. Gámez. 2008. Marchitez vascular del jitomate: Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacan, Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 26 (2):114-120.
- Ascencio-Alvarez, A.; A. Lopez; F. Borrego; S. Rodriguez; A. Flores; F. Jiménez; A. Gámez. 2008. Marchitez vascular del jitomate: 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 (2):180-183.
- Attitalla, I. H. 2004. Biological and molecular characteristics of Microorganism-Stimulated defence response in *Lycopersicon esculentum*. Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology. Uppsala, Engelska . 82 p.
- Benhamou, N., Mazau, D., Grenier J., Esquerre-Tugaye, M. 1991. Time-course study of the accumulation of hydroxyproline-rich glycoproteins in root cells of susceptible and resistant tomato plants infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. Planta 184:196-208.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth mycological Institute. Kew, England. 237 pp.
- Cai, G., Gale, I.R., Scheider, R. W., Kistler, H.C., Davis, R. M., Elias, K.S. Miyao, E.M. 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. Phytopathology 93:1014-1022.
- Carrasco, A., Boudet, M. A., Marigo, G. 1978. Enhanced resistance of tomato plants to *Fusarium* by controlled stimulation of their natural phenolic production. Physiological Plant Pathology 12:225-232.
- Echavarría, P. H., Castro, A. 2002. Influence of different densities on the yield and quality of greenhouse-grown cucumber grafted on Shintoza (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*). In: Nishimura, S; H. Ezura; T. Matsuda, and A. Tazuke (eds.) Proc. Of the 2nd International Symposium on Cucurbits. Tsukuba, Japan. Acta Hort. 588:63-67.

FAOSTAT (En línea) Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y Alimentación (Consultado en Noviembre 2008). Disponible en internet: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>.

Fray, C. J. 1993. Biological Data Analysis A Practical Approach. Edit. IRL PRESS at OXFORD UNIVERSITY PRESS. New York, U.S.A. 33 p.

Gayoso, C., Pomar, F., Merino F., Bernal, M.A. 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in *Capsicum annuum* L. var. *annuum* infected by *Phytophthora capsici* Leon. *Scientia Horticulturae* 102: 1-13.

Hartmann, H. T., Kester, E. D., Davies, T. F., Geneve, L. R.. 2002. Plant propagation, principles and practices. 7th ed. Prentice Hall, N. J., U.S.A. 880 p.

Hernández N. A. 2008. Contenido de fenoles libres en chile (*Capsicum annum* L.) CM-334 inoculado con *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados Montecillo, Edo. De México. 32 p.

Jones, J.B., Stall, R.E., Zitter, T.A. 1997. Compendium of Tomato Diseases. APS press. Minnesota. U.S.A. 73 p.

Lee, J. M. 1994. Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods, and benefist. *HortScience*. Suwon, Korea. Vol. 29(4):235-239.

López, M. N. 2007. Actividad enzimática y fenoles solubles en chile (*Capsicum annum* L.) CM-334 durante la pérdida de resistencia a *Phytophthora capsici* inducida por *Nacobbus aberrans*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados Montecillo, Edo. De México. 76 p.

López, B. J., Martínez, B., López, S. C., Vásquez, S., Pliego, L., León, L. Martínez, L., Vásquez, F. 2009. El injerto de especies hortícolas una innovación tecnológica sostenible en horticultura protegida. *deRiego* 43:30-35.

Lugo y Sanabria, Z., Sanabria, N.H. 2001. Características culturales y patogénicas en aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, procedentes de plantaciones comerciales de jitomate. *Agronomía tropical* 51(4):519-530.

Maher, A.E., Bate, J.N., Nit, W., Elkindt Y., Dixont A.R., Lamb J.C. 1994. Increased disease susceptibility of transgenic tobacco plants with suppressed levels of preformed phenylpropanoid product. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*. 91: 7802-7806.

Marlatt, M. L., Correll, J. C., Kaufman, P., Cooper, P.E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum*. f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. *Plant Dis*. 80:1336-1342.

Mihuta-Grimm, L., WA E., Rowe R.C. 1990. Fusarium crown and root rot of tomato in greenhouse rock wool systems: sources of inoculum and disease management with benomyl. *Plant Disease*, 74(12):996-1002.

- Mitidieri, M. S., Brambilla M.V., Piris M., Maldonado L. 2004. El uso de portainjertos resistentes en cultivo de jitomate bajo cubierta: resultados sobre la sanidad y el rendimiento del cultivo. *In: XXVII Congreso Argentino de Horticultura. I. Jornada de Productos Frutihortícolas.* Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de San Pedro (EEASP). San Pedro, Buenos Aires, Argentina. pp 1-13.
- Muñoz R., J. J. 2003. El cultivo de jitomate en invernadero. Memoria del curso Internacional sobre la producción de hortalizas en invernadero. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Celaya, Gto. México. pp. 226-262.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. (1983) *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, Estados Unidos de América. 191 p.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del jitomate. 1era. Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 793 p.
- Oda, M. 1999. Grafting of vegetables to improve greenhouse production. *Ext. Bull. Food & Fertilizer. Technology Center for the Asian and Pacific Region.* 480:1-11.
- Ohr, H.D., Sims, J., Grech N. M., Becker J. O., Mejr M. 1996. Methyl iodide, an ozone-safe alternative to methyl bromide as a soil fumigant. *Plant Disease*, 80(7):731-735.
- Olusegun, S. B. 2007. Comparison of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* races 1, 2 and 3, and F. sp. *Radicis lycopersici* based on the sequences of fragments of the ribosomal DNA intergenic spacer region. *Biokemistri* 19(1):1-8.
- Osuinde, M., Aluya, E., Emoghene A. 2002. Control of *Fusarium* wilt of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) by trichoderma species. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 37 (1-3):47-55.
- Pegard, A. B. A., Fazari O., Soucaze P., Djian-Caporalino, C. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 95, 2: 158-165.
- Ploetz, R., Haynes, J.L. 2000. First report of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Southeastern Florida. *Plant Disease* 84 (2): 199.
- Ristaino, J.B., Thomas W. 1997. Agriculture, methyl bromide, and the ozone hole: can we fill the gaps?. *Plant Disease*, 81(9):964-977.
- Robinson, R.A. 1980. New concepts in breeding for disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathology*. 18:189-210.
- Robinson, R. A. 1989. Manejo Genético del Hospedante en Patosistemas Agrícolas. Traducido por Roberto García Espinosa. Colegio de Posgraduados. Montecillo Estado de México. 271 p.
- Rodríguez, D., Montilla, J. O. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en jitomate con extractos de *Citrus paradisi*. *Manejo integrado de plagas* 63: 46-50.

Rodríguez, G. A. 2006. Injerto y composta para la producción intensiva de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en condiciones de suelo y cultivo sin suelo en invernadero. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de postgraduados. Montecillo, México. pp. 3-23.

Samuel, B. O. 2007. Comparison of *Fusarium oxysporum* fsp *lycopersici* races 1, 2 and 3, and f.sp *radicis lycopersici* based on the sequences of fragments of the ribosomal DNA intergenic spacer region. BIOKEMISTRI 19(1):1-8.

Scott, J. W. 2005. Perspectives on tomato disease resistance breeding: past, present, and future. Gulf Coast Research and Education Center, Bradenton, USA. Acta Horticulturae. 695: 217-224.

Sepúlveda-Jiménez, J. G., Porta-Ducoing, H., Rocha, S. M. 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. Revista Mexicana de Fitopatología 21(3):355-363.

Steinkellner, S., Mammerler, R., Vierheilig H. 2005. Microconidia germination of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* in the presence of root exudates. Journal of Plant Interactions 1(1): 23-30.

Takahama, U., Takayuki O. 2000. Flavonoids and Some other Phenolics as Substrates of Peroxidase: Physiological Significance of the Redox Reactions. Journal of Plant Research 113: 301-309.

Tello, J.C., Lacasa, A. 1988. Evolución racial de poblaciones *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas 14:335-341.

Valenzuela-Ureta, J. G., Lawn, D. A., Heisey, R. F., Zamudio, G. V. 1996. First report of *Fusarium* wilt race 3, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, of tomato in Mexico. Plant Disease 80:105.

Vermerris, W. Nicholson R.L. 2006. Phenolic Compound Biochemistry. Edit. Springer. West Lafayette, Estados Unidos de Norte America. 267 p.

Vincenzo, L., Lattanzio, V., Cardinali, A. 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. Research Signpost. Kerala India. 67p.

Wayne, L. W. 2004. *Fusarium* Wilt Race, 3 on Tomato. (Consultado en Marzo 2008) Boletín técnico ROGERS®, Disponible en internet: http://www.rogersadvantage.com/pdf/tm_bulletin.pdf

