

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE LA NARANJILLA
(*Solanum quitoense*. Lam.) A *Fusarium oxysporum* Y
SUS MÉTODOS DE INOCULACIÓN.

JUAN CARLOS BAEZ VILLACIS

TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

QUITO

2003

VII. RESUMEN

La Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) es una solanacea altamente apreciada en Ecuador y Colombia debido a su delicioso sabor (18).

La naranjilla es una de las doce especies que constituyen la Sección *Lasiocarpa* de la familia *Solanaceae*. Es una especie autógama con muy poca variabilidad en sus características morfológicas, fisiológicas y organolépticas (17, 44,45).

La marchitez vascular de la naranjilla (MVN) es una de las enfermedades más importantes de la "naranjilla " reportada por primera vez en el valle del Pastaza (29). *Fusarium oxysporum* es el agente causal de esta enfermedad, es un patógeno altamente especializado, que se encuentra presente también en las semillas de frutos procedentes de plantas enfermas con marchitez vascular (29). Actualmente en el país los híbridos Puyo y Palora ocupan el 95% de la superficie cultivada de naranjilla (29,36). La resistencia a enfermedades y el mejoramiento de la calidad de la fruta debería ser el objetivo primordial en programas de mejoramiento de la naranjilla. Debido a la aparente estrecha variabilidad genética disponible en *S. quitoense*, se sugiere buscar en los parientes cercanos a la naranjilla, de la Sección *Lasiocarpa*, ya que puede haber fuentes importantes de resistencia genética a diferentes enfermedades de la naranjilla (29,37,45).

En la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- A. Establecer el método adecuado para la inoculación de *Fusarium oxysporum* en plantas de naranjilla en invernadero.
- B. Evaluar la edad adecuada en la planta para la inoculación de *F. Oxysporum*.
- C. Evaluar la reacción de la planta y la colonización de *Fusarium oxysporum* en 113 accesiones de la sección *Lasiocarpa* de la familia *Solanaceae*

Se evaluó métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum*. Además se determinó la reacción de la sección *Lasiocarpa* a este patógeno, el estudio fue realizado en los laboratorios e invernaderos del Departamento Nacional

de Protección Vegetal (DNPV) en la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), localizada en el cantón Mejía, provincia de Pichincha; altitud de 3 050 msnm, longitud 78° 33' Oeste, latitud 0° 22' Sur. La temperatura promedio anual obtenida dentro del invernadero fue de 23.1°C y una humedad relativa de 70%.

En la primera parte del ensayo se estudió; cinco métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum*: m1= inmersión de la raíz en una solución de conidias; m2= Inmersión de la base de la maceta con la planta en solución de conidias; m3= Aplicación a la corona de la planta de la solución de inóculo; m4= Incorporación de clamidósporas al sustrato; m5= Testigo sin inoculación. Dos especies : v1 = *Solanum* sp; v2= *Solanum sessiliflorum*. Con tres edades de planta : e1= 30 días; e2=60 días; e3= 90 días.

Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) en arreglo factorial 5x2x3, con 10 repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo constituida por una planta.

La variable período de establecimiento de la enfermedad en días desde la inoculación hasta el apareamiento de síntomas se identificó de acuerdo a una escala esquemática donde: N0 = planta sana; N1 = flacidez de la primera hoja basal; N2= flacidez del 50% del follaje; N3= la flacidez alcanza el ápice de la plántula; N4= marchitez general de la planta.

Se determinó que el método más eficiente para la inoculación es sustrato con clamidósporas . Las edades de planta utilizadas, no presentaron diferencias en el tiempo de apareamiento de síntomas de MVN.

Los tratamientos que permitieron una rápida colonización de *Fusarium oxysporum* fueron; sustrato con clamidósporas por *Solanum* sp a los 30, 60 y 90 días de edad de planta, con promedios de 28.5, 28.30 y 27.50 días a la inoculación respectivamente.

La variable descripción del sistema vascular se evaluó con la escala de cero a cuatro niveles donde: N0= ningún daño; N1= Decoloración leve del sistema vascular limitada a la raíz; N2= Decoloración moderada del sistema vascular

en el cuello de la raíz; N3= Decoloración puntual del sistema vascular en el tallo; N4= Decoloración moderada del sistema vascular en toda la planta.

Para el análisis de la colonización vascular de *Fusarium oxysporum* en las especies *Solanum sp* y *Solanum sessiliflorum* se procedió cuando alcanzaron el nivel 3 de sintomatología de MVN, estas presentaron nivel 3 de colonización vascular en las tres edades de planta con tres de los métodos de inoculación utilizados, el método de inoculación sustrato con clamidósporas permitió que *Solanum sp* alcanzara el nivel 4 de colonización vascular, mientras que *Solanum sessiliflorum* no presentó nivel 4 de colonización vascular. El método sin inoculación (testigo) no presentó ninguna decoloración en el sistema vascular.

Para la segunda parte del ensayo se utilizó un Diseño Completamente al Azar, se evaluó 113 accesiones de la sección *Lasiocarpa*. La inoculación se realizó con el sustrato conteniendo clamidósporas a la edad de planta de 90 días.

Existieron 75 accesiones que presentaron síntomas, los promedios se ubicaron entre 26.3 y 46 días a la inoculación. No presentaron síntomas de MVN las siguientes 38 accesiones: 1,2,3,4,5 y 6 de *Solanum quitoense*; 67,68,69,70,71,72,73,74,75,76 y 77 de *Solanum sp*; 91,92,93,94 y 95 de *Solanum pseudolulo*; 96,97 y 98 de *Solanum sessiliflorum*; 99 y 100 de *Solanum candidum*; 101 y 102 de *Solanum hirtum*; 103 y 104 de *Solanum hyporhodium* ; 105 y 106 de *Solanum hirsutissimum*; 109 de *Solanum mammosum*; 110 de *Solanum robustum*; 111 de *Solanum cf sessiliflorum*; 112 de *Solanum tequilense* y 113 de *Solanum stramonifolium*

Al evaluar la colonización vascular se determinó que las 75 accesiones que llegaron a nivel 3 de sintomatología de MVN todas presentaron el nivel 4 de colonización vascular. En las 38 accesiones restantes que no desarrollaron síntomas de MVN, se estableció que 12 presentaron colonización vascular: 1,2,3,4 de *Solanum quitoense* ; 68,72,73,74,77 de *Solanum. sp.*; 100 de *Solanum. candidum*; 103 de *Solanum. hyporhodium* y 106 de *Solanum. hirsutissimum* . Al realizar el aislamiento de tejido vascular en medio de

cultivo PDA 4 accesiones que no mostraron sintomatología de MVN y tampoco colonización vascular, presentaron *Fusarium oxysporum* en el medio de cultivo, determinando que son asintomáticas y toleran a la enfermedad, estas accesiones son: 92 de *Solanum pseudolulo*; 99 de *Solanum candidum*; 105 de *Solanum hirssutisimum* y 112 de *Solanum tequilense*. Existieron 22 accesiones que no presentaron la sintomatología de MVN, no se observó decoloración vascular y el aislamiento de su tejido en medio de cultivo PDA no mostraron *Fusarium oxysporum* estas fueron: 5 y 6 de *Solanum quitoense*; 67,69,70,71,75 y 76 de *Solanum sp*; 91,93,94 y 95 de *Solanum pseudolulo*; 96,97 y 98 de *Solanum sessiliflorum*; 101 y 102 de *Solanum hirtum*; 104 de *Solanum hyporhodium*; 109 de *Solanum mammosum*; 110 *Solanum robustum*; 111 *Solanum cf. Sessiliflorum* y 113 *Solanum stramonifolium*.

Se recomienda:

- Utilizar el método sustrato con clamidósporas para inocular *Fusarium oxysporum*
- Evaluar la injertación de la naranjilla (*Solanum quitoense*) en las accesiones resistentes.
- No utilizar las especies asintomáticas para evitar posibles diseminaciones de la enfermedad.
- Determinar la especie a la que pertenecen las accesiones resistentes de *Solanum sp*.
- Caracterizar el tipo de resistencia que existe en las accesiones evaluadas.
- Realizar cruces entre las especies de naranjilla común con las diferentes especies *Lasiocarpa* que presentan resistencia a la MVN y determinar en campo las características agronómicas.

SUMMARY

The Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) is a solanacea highly appreciated in Ecuador and Colombia due to their delicious flavor (18).

The naranjilla is one of the twelve species that constitute the *Lasiocarpa* Section *Lasiocarpa* from Solanaceae Family. It is a autogama species with very little variability in their morphologic, physiologic and organoleptic characteristics (17, 44,45).

The naranjilla vascular wilt (NVW) it the most important disease in the " naranjilla " reported first time in the Pastaza valley (29). *Fusarium oxysporum* is the causal agent of this disease, it is a pathogen highly specialized, that is present in the seeds of fruits coming from sick plants with vascular wilt (29). At the moment in the country, the Puyo and Palora hibryd occupy 95% of the cultivated surface of naranjilla (29,36). The resistance to diseases and the improvement of the quality of the fruit should be the primordial objective in improvement programs of the naranjilla. Due to the apparent narrow available genetic variability in *S. quitoense*, it is suggested to look for in the near relatives to the naranjilla, of the *Lasiocarpa* Section *Lasiocarpa*, since it can have important sources of genetic resistance to different diseases of the narajilla. (29,37,45).

The present research have the following objectives:

- A. To establish the appropriate method for the inoculation of *Fusarium oxysporum* in naranjilla plants in greenhouse.
- B. To evaluate the age adequate in the plant for inoculation of *F. Oxysporum*.
- C. To evaluate the reaction of the plant and the colonization of *Fusarium oxysporum* in 113 agreements of the *Lasiocarpa* Setion from the Solanaceae family.

It was evaluated methods of inoculation of *Fusarium oxysporum*. Also the reaction of the *Lasiocarpa* Section to this pathogen was determinate, the research was carried out in the laboratories and greenhouses of the

Vegetable Protection National Department (DNPV) in the Santa Catalina Experimental Station (EESC) from Agricultural Research National Institute (INIAP), located in the Mejía Canton, Pichincha Province ; altitude of 3050 msnm, longitude 78° 33 ' West, latitude 0° 22 ' South. The average temperature inside the greenhouse was of 23.1°C and a humidity relative of 70%.

In the first part of the rehearsal; five methods of inoculation of *Fusarium oxysporum*: M1 = immersion of the root in a conidia solution; M2 = immersion of the base of the gavel with the plant in conidia solution; M3 = application to the crown of the plant of the conidia solution; M4 = clamidósporas incorporation to the substrate; M5 = witness without inoculation; two species: V1 = *Solanum* sp; V2 = *Solanum sessiliflorum* and three plant ages: e1 = 30 days; e2=60 days; e3 = 90 days were studied.

A Randomized Complete Block Design was used with a factorial arrangement 5x2x3, with 10 repetitions for treatment, the experimental unit was constituted by a plant.

The variable establishment period of the disease in days from the inoculation until the appear of symptoms was identified according to a schematic scale where: N0 = healthy plants; N1 = flabbiness of the first basal leaf; N2 = flabbiness of 50% of the foliage; N3 = flabbiness reaches the apex of the plant; N4 = general wilt of the plant.

It was determined that the most efficient inoculation method is substrate with clamydospores. The plant ages used didn't present differences in the time of apparition of symptoms from MVN.

The treatments that allowed a quickly colonization of *Fusarium oxysporum* were substrate with clamydospores for *Solanum* sp at 30, 60 and 90 days of plant age, with averages of 28.5, 28.30 and 27.50 days after the inoculation respectively.

The variable description of the vascular system was evaluated with a scale since zero at four levels where: N0 = any damage; N1 = light fading of the limited vascular system to the root; N2 = moderate fading of the

vascular system in the neck of the root; N3 = punctual fading of the vascular system in the shaft; N4 = moderate fading of the vascular system in the whole plant.

For the analysis of the vascular colonization of *Fusarium oxysporum* in the species *Solanum* sp and *Solanum sessiliflorum*, it was proceeded when plants reached the level 3 of symptomatology of MVN, these presented level 3 of vascular colonization in the three plant ages with three of the inoculation methods used. The method of inoculation substrate with clamydospores allowed that *Solanum* sp reached the level 4 of vascular colonization, while *Solanum sessiliflorum* didn't present this level. The method without inoculation (witness) didn't present any fading in the vascular system.

For the second part of the rehearsal a Randomized Complete Design was used, it was evaluated 113 agreements of the *Lasiocarpa Setion*. The inoculation was carried out with the substrate containing clamydospores at plant age of 90 days.

75 agreements presented symptoms, the averages were located between 26.3 and 46 days after the inoculation. The following 38 agreements didn't present symptoms: 1,2,3,4,5 and 6 from *Solanum quitoense*; 67,68,69,70,71,72,73,74,75,76 and 77 from *Solanum* sp; 91,92,93,94 and 95 from *Solanum pseudolulo*; 96,97 and 98 from *Solanum sessiliflorum*; 99 and 100 from *Solanum candidum*; 101 and 102 from *Solanum hirtum*; 103 and 104 from *Solanum hyporhodium*; 105 and 106 from *Solanum hirsutissimum*; 109 from *Solanum mammosum*; 110 from *Solanum robustum*; 111 from *Solanum sessiliflorum*; 112 from *Solanum tequilense* and 113 from *Solanum stramonifolium*

At evaluating the vascular colonization, it was determined that the 75 agreements that reach at level 3, all presented level 4 of vascular colonization. The 38 remaining agreements didn't develop symptoms of NVW, 12 agreements presented vascular colonization: 1,2,3,4 from *Solanum quitoense*; 68,72,73,74,77 from *Solanum*. sp.; 100 from *Solanum*. *candidum*; 103 from *Solanum hyporhodium* and 106 from

Solanum. hirssutisimum. When carrying out the isolation of vascular tissue in PDA, 4 agreements didn't show symptoms and neither vascular colonization, they presented *Fusarium oxysporum* in the cultivation media, determining that they are non-symptoms and they tolerate at this disease, these agreements are: 92 from *Solanum pseudolulo*; 99 from *Solanum. candidum*; 105 from *Solanum hirssutisimum* and 112 from *Solanum tequilense*. There were 22 agreements that didn't present symptoms, vascular fading was not observed and the isolation of their tissue in PDA didn't show *Fusarium oxysporum*; they were: 5 and 6 from *Solanum quitoense*; 67,69,70,71,75 and 76 from *Solanum sp*; 91,93,94 and 95 from *Solanum pseudolulo*; 96,97 and 98 from *Solanum sessiliflorum*; 101 and 102 from *Solanum hirtum*; 104 from *Solanum hyporhodium*; 109 from *Solanum mammosum*; 110 from *Solanum robustum*; 111 from *Solanum cf. Sessiliflorum* and 113 from *Solanum stramonifolium*.

It is recommended:

- To use the method substrate with chlamydospores to inoculate *Fusarium oxysporum*
 - To evaluate the grafting of naranjilla (*Solanum quitoense*) in the resistant agreements.
- Not to use the non-symptoms species to avoid possible disseminations of the disease.
- To determine the species at which belong the resistant agreements of *Solanum sp*.
- To characterize the resistance type that exists in the evaluated agreements.
- To carry out crosses among the naranjilla common species with the different species *Lasiocarpa* that present resistance to the NVW and to determine in field the agronomic characteristics.