

## Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenido de cultivos de *Solanum lycopersicum* en Irapuato, Guanajuato

### Isolation and identification of *Fusarium oxysporum* obtained from *Solanum lycopersicum* cultures in Irapuato, Guanajuato

Leisli S. Rangel Rodríguez<sup>1</sup>, Adriana Perez Silva<sup>1</sup>, Maria De Jesus Zavala Guevara<sup>1</sup>, Angel G. Hernandez-Juarez<sup>2</sup>, Jesús Hernandez-Ruiz<sup>3\*</sup>.

<sup>1</sup>Alumna, Licenciatura en Agronegocios, Departamento de Agronomía, DICIVA, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

<sup>2</sup>Alumno, Escuela del Nivel Medio Superior de Irapuato, Universidad de Guanajuato.

<sup>3</sup>Profesor, Departamento de Agronomía, DICIVA, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. \*Dirección de correo electrónico: hernandez.jesus@ugto.mx

## Resumen

La marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum*, es una de las principales enfermedades fúngicas que afectan el cultivo del jitomate. Este patógeno se puede identificar según las características de las tres clases de esporas asexuales que produce. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar cepas de *F. oxysporum* provenientes de cultivos de jitomate en Irapuato, Guanajuato. Se recolectaron plantas de jitomate con síntomas característicos de marchitamiento vascular, y se realizó la purificación de hongos mediante la técnica de cultivos monospóricos y por punta de hifa en medio Papa-Dextrosa-Agar. Para la identificación de *Fusarium*, se llevaron a cabo observaciones del crecimiento micelial, así como de microconidios, macroconidios y clamidosporas mediante preparaciones temporales. Se aislaron e identificaron muestras de *F. oxysporum*. Sin embargo, para determinar si estas cepas corresponden a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se requiere una identificación molecular. Esto permitirá realizar pruebas de inoculación y evaluar la efectividad in vitro de diversos extractos vegetales, así como pruebas de resistencia en variedades de tomate

**Palabras clave:** marchitez vascular; características morfológicas, microconidios, macroconidios.

## Introducción

*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* es un hongo patógeno que causa el marchitamiento por *Fusarium*, una enfermedad devastadora en las plantas de jitomate (Henry et al., 2019). Este hongo del suelo es muy diverso y tiene la capacidad de infectar una amplia gama de especies de cultivos (Mohammed et al., 2016). El marchitamiento por *Fusarium* en el cultivo de jitomate es una gran preocupación para los productores de hortalizas en todo el mundo, ya que puede causar graves pérdidas de rendimiento (Saleh, 2018).

La enfermedad es particularmente difícil de controlar utilizando métodos químicos y culturales (Henry et al., 2019). Por lo tanto, comprender la biología e identificación de *Fusarium oxysporum* es crucial para el desarrollo de estrategias de manejo efectivas. Su identificación se de manera general se puede realizar mediante rasgos morfológicos específicos a nivel microscópico (Huarhua et al., 2020). Sin embargo, también se utilizan técnicas moleculares y cultivares diferenciales para detectar formas especiales, razas o formas patógenas específicas (Weeraratne et al., 2018).

De acuerdo con Cardona-Piedrahíta & Castaño-Zapata (2019) las características principales de las tres clases de esporas asexuales que produce *Fusarium oxysporum* son las siguientes; i) Microconidios. Los más comunes y se forman dentro de los haces vasculares de las plantas afectadas sin septos. Estos microconidios consisten en una o dos células y son hialinos, con forma elipsoide a cilíndrica. Se generan en fiáldes laterales cortas y simples, así como en conidióforos poco ramificados (Nelson, 1983). ii) Macroconidios. Se desarrollan en esporodocios de color naranja pálido y suelen ser abundantes cuando se cultivan en agar de papa dextrosa (PDA) complementado con hojas de clavel. Estos macroconidios son curvos y constan de tres a cinco células. En los aislamientos de esta especie, se ha observado que tienen tamaños variables, oscilando de 20 a 27  $\mu\text{m}$  de largo y de 6 a 7  $\mu\text{m}$  de ancho (Lugo & Sanabria, 2001). iii) Clamidosporas. Se forman rápidamente en un período de 2 a 4 semanas en el medio PDA complementado con hojas de clavel.

Estas clamidosporas se originan a partir de la condensación del contenido de las hifas y los conidios, y presentan paredes gruesas. Pueden formarse de manera individual o en pares, tanto en terminales como en posiciones intercalares, y tienen un diámetro que varía entre 5 a 15  $\mu\text{m}$  (Leslie y Summerell, 2008).

Con base en las características previamente descritas, se puede realizar una identificación general de *Fusarium oxysporum*, para posteriormente emplear técnicas moleculares que permitan identificar las razas específicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. Esto posibilitará la realización de pruebas de inoculación y evaluación de la efectividad in vitro de diversos extractos vegetales, así como pruebas de resistencia en variedades de tomate.

## Metodología

Durante el ciclo agrícola primavera-verano de 2023, en invernaderos de Irapuato Guanajuato se identificaron plantas de jitomate con síntomas característicos del marchitamiento vascular (pardeamiento vascular grave, pudrición de la raíz y la corona). De cinco plantas se colectaron muestras de raíces y tallos de plantas, las cuales se guardaron en bolsas de plástico.

Con el objetivo de estudiar los hongos involucrados, se llevó a cabo la purificación de los mismos mediante la técnica de cultivos monospóricos y por punta de hifa en medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA, BD Bioxon®), utilizando una concentración de 39 g/L en agua destilada con la adición de 0.25% de ácido tartárico. A partir de cada planta, se obtuvieron cuatro aislados puros a partir del tejido de la raíz y tallo.

Para la clasificación del género *Fusarium*, se realizaron observaciones del crecimiento micelial y la pigmentación del medio de cultivo, así como la caracterización de microconidios, macroconidios y clamidosporas mediante preparaciones temporales. Las características culturales y morfológicas de los aislados fueron comparadas con las descripciones proporcionadas por Nelson et al. (1983), Lugo & Sanabria, (2001) y Leslie y Summerell, (2008). De cada localidad, se seleccionó un aislado y se cultivó en medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA, BD Bioxon®) con una concentración de 20 g/L en agua destilada. Estos aislados seleccionados serán posteriormente utilizados para la identificación molecular a través de la amplificación de la región espaciadora transcrita (ITS).

## Resultados

De las colectas efectuadas se caracterizaron tres cepas de *F. oxysporum*, las cuales produjeron colonias rosas, que se tornaron violetas (Figura 1). Estas características concuerdan con características morfológicas de *F. oxysporum* aislado en cultivos de jitomate (Jacobs, 2012; Armenta-López et al., 2021).

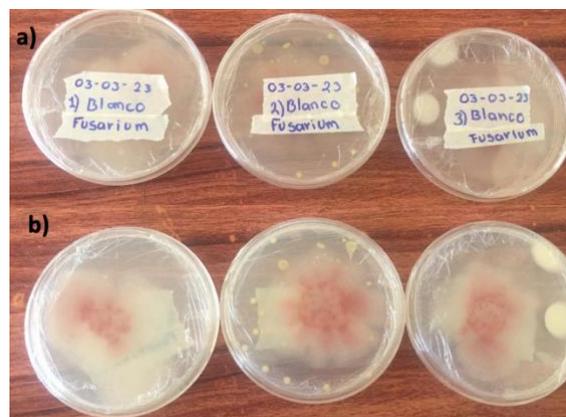


Figura 1. Crecimiento del hongo en medio PDA después de dos semanas de incubación a 26°C. a) anverso, b) reverso.

Se observaron microconidios conformados por una célula, hialinos, elipsoidales a cilíndricos, rectos (Figura 2). Estas características concuerdan con las descritas por Nelson, (1983). Este tipo de esporas asexuales, pueden formarse tanto en la superficie como en el interior del hospedante e, incluso, pueden ser transportados por la savia hacia los haces vasculares, por ello Kranz, (1982) pudo causar la diseminación entre plantas vecinas por contacto directo.

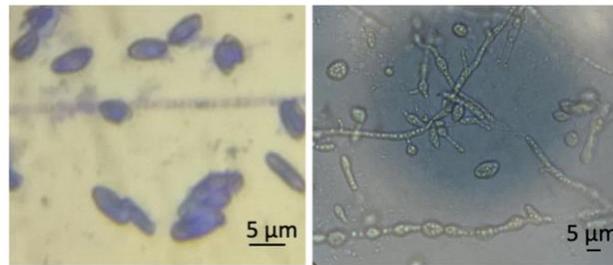


Figura 2. Microconidios de *Fusarium oxysporum* observados en aumento inmersión (100x).

Los Macroconidios observados fueron curvos, con tres células, los tamaños variaron entre 25 y 26,0 µm de largo y (Figura 3). De acuerdo con Kranz, (1982), estas esporas pueden ser transportados por el viento, agua de lluvia o riego, y actividades mecánicas. Las infecciones secundarias suelen producirse a través de las raíces, aunque también son posibles a través de heridas en la parte aérea de las plantas

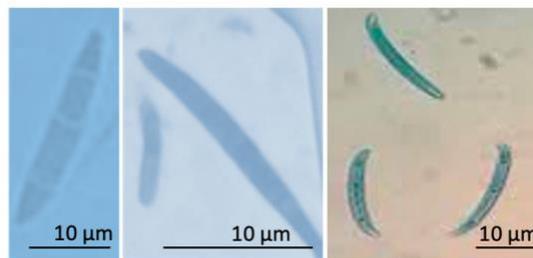


Figura 3. Macronidios de *Fusarium oxysporum* observados a 40X.

Las clamidosporas se formaron en la tercera semanas, a partir de la condensación del contenido de las hifas y de los conidios, cuyas paredes son gruesas. Se observan simples, terminales e intercalares y miden aproximadamente entre 10 a 15 µm de diámetro (Figura 4). Estas características concuerdan por las descritas por Leslie & Summerell, (2008). De acuerdo con Agrios (2005) estas son estructuras de supervivencia que pueden perdurar en el suelo hasta dos ciclos agrícolas, para germinar e infesta a través de las heridas que se forman cuando las raíces laterales emergen, o penetran directamente al tejido joven de las raíces en la zona de elongación.

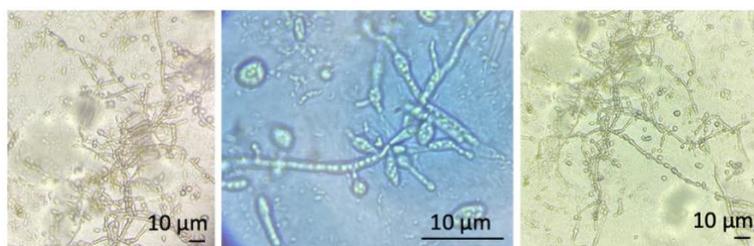


Figura 4. Clamidosporas de *Fusarium oxysporum* observados a 40X.

## Conclusión

Se aislaron e identificaron muestras de *F. oxysporum* de colectas de plantas de jitomate que presentaban síntomas característicos del marchitamiento vascular. Sin embargo, para determinar si estas cepas corresponden a *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici, es necesario realizar una identificación molecular a través de la amplificación de la región espaciadora transcrita (ITS). Esto permitirá llevar a cabo pruebas de inoculación y evaluación de la efectividad in vitro de diversos extractos vegetales, así como pruebas de resistencia en variedades de tomate.

## Bibliografía

- Agrios, G.N. (2005). Plant pathology. 5th Edition. Academic Press. New York, USA. p. 27, 422, 635, 831, 840-841, 867, 922.
- Armenta-López, S. E., Valenzuela-Solano, C., & Hernández-Martínez, R. (2021). Identificación y análisis molecular de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* aisladas de jitomate en Baja California, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(2), 266-288.
- Cardona-Piedrahíta, L. F., & Castaño-Zapata, J. (2019). Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen, causante del marchitamiento vascular del tomate. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(167), 227-233.
- Cardona-Piedrahíta, L. F., & Castaño-Zapata, J. (2019). Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen, causante del marchitamiento vascular del tomate. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(167), 227-233.
- Henry, P. J., Stueven, M., Li, S., Miyao, E., Gordon, T. R., Davis, R. F., ... & Doan, H. Q. (2019). Genome Sequence Of a California Isolate Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *lycopersici* Race 3, A Fungus Causing Wilt Disease On Tomato. *Microbiol Resour Announc*, 15(8). <https://doi.org/10.1128/mra.01713-18>.
- Huarhua, M., Aragón, L., Flores, J. J., Tsuzuki, R., Arie, T. (2020). Primer Reporte De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* Raza 1 Aislada De Tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) Proveniente De La Costa Central Del Perú. *Scientia fungorum*, (50), e1257. <https://doi.org/10.33885/sf.2020.50.1257>
- Jacobs, A. K. (2012). First Report Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Radici-lycopersici* In South Africa. *Australasian Plant Dis. Notes*, 1(7), 29-32. <https://doi.org/10.1007/s13314-011-0039-1>.
- Kranz, J. (1982). Enfermedades de los cultivos tropicales. Deuteromycotina. Primera edición. Paul Parey. Berlin & Hamburgo. p. 213-214.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2008). The *Fusarium* laboratory manual. John Wiley & Sons.
- Lugo, Z. C., & Sanabria, N. H. (2001). Características culturales y patogénicas en aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* procedentes de plantaciones comerciales de tomate. *Agronomía Tropical*, 51(4), 519-530.
- Mohammed, A. S., Kadar, N. H., Kihal, M., Henni, J. E., Sanchez, J. e., Gallego, E., ... & Garrido-Cardenas, J. A. (2016). Characterization Of *Fusarium Oxysporum* Isolates From Tomato Plants In Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 30(10), 1156-1163. <https://doi.org/10.5897/ajmr2016.8161>
- Nelson, P. E. (1983). Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. *Fungal wilt diseases of plants*, 51-80.
- Saleh, O. I. (2018). Biological Control Of Tomato Wilt Disease Incited By *Fusarium Oxysporum* F.sp *Lycopersici* and There Effects On Seed Germination And Other Biological Parameters. *Annals of Agricultural Science, Moshthohor*, 1(56), 497-508. <https://doi.org/10.21608/assjm.2018.214673>.
- Weeraratne, W. A. P. G., Costa, D. M. D. (2018). Molecular Identification Of *Fusarium* Spp. From Wilt-infected Tomato and Brinjal Plants In Selected Regions Of Sri Lanka And Endophytic Bacteria As A Potential Option For Disease Management. *Trop. Agric. Res.*, 1(30), 32. <https://doi.org/10.4038/tar.v30i1.8276>.