

OPTIMIZACIÓN DE LA INOCULACIÓN ARTIFICIAL DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *NIVEUM* EN SANDÍA

O. Cothiere¹, V. González², E. Sales³, C. Montaner³ y A. Garcés-Claver^{1*}.

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Unidad de Hortofruticultura¹ / Unidad de Sanidad Vegetal². Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Zaragoza. *agarcés@cita-aragon.es

³Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza. Huesca.

Palabras clave: Fusariosis vascular, razas, resistencias

RESUMEN

Se describe una metodología estandarizada para el reconocimiento de fuentes de resistencia naturales a la fusariosis vascular en cultivos de sandía, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Se definen los parámetros óptimos de crecimiento e inoculación de las razas fúngicas empleadas. Además, se realizaron reaislamientos de las cepas inoculadas a partir de plántulas sintomáticas para confirmar la efectividad del método.

INTRODUCCIÓN

La fusariosis vascular es una de las enfermedades fúngicas más importantes del cultivo de la sandía a nivel mundial (Martyn, 1985). El agente causal, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (Fon), forma parte de la especie colectiva *F. oxysporum*, un patógeno global de suelo con numerosas razas, patotipos o *formae specialis* según el huésped parasitado o su especificidad por genotipo vegetal (Zhou and Everts, 2003). La búsqueda de resistencias naturales basada en bioensayos de inoculación artificial de cepas patrón conocidas en cultivos de referencia, constituye el punto de partida para la selección de material vegetal y permite la identificación de aislados patogénicos problema.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislados fúngicos. Se emplearon cepas testigo de las razas 0, 1 y 2 de Fon. Los aislados liofilizados fueron repicados y cultivados en placas Petri que contenían medio PDA, e incubados durante 3-5 días a 25°C en oscuridad. Posteriormente, se inocularon matraces que contenían 400 ml de medio Patata Sacarosa (PS) con 3 tacos de agar del margen de cada una de las colonias fúngicas de aprox. 5x5 mm y se incubaron durante 3 días a 25°C y en agitación (150 rpm) para la producción de inóculo. Tras esto, los cultivos resultantes de esta incubación líquida fueron filtrados para eliminar restos de micelio somático, con un volumen final de 400 ml de solución conidial valorada y ajustada a 1-5 x 10⁶ conidios/ml para cada raza de Fon.

Material Vegetal. Se utilizaron los 4 genotipos de sandía diferenciales de raza (Black Diamond, Charleston Gray, Calhoun Grey y PI296341). Las semillas de estas líneas pregerminaron sobre papel de filtro estéril humedecido con agua estéril y se mantuvieron a 28°C durante 5 días. Posteriormente, las semillas germinadas se sembraron en bandejas de plástico que contenían sustrato estéril (Projar Professional) en un fitotrón a 28°C día (12 h luz)/25°C noche.

Inoculación. Los 4 genotipos de sandía, en estado de dos cotiledones expandidos, fueron inoculados con los tres aislados fúngicos que representaban 3 de las razas descritas para Fon mediante inmersión radicular de las plántulas en la solución conidial. Se realizaron inoculaciones por inmersión radicular a 4 tiempos (20', 1 min, 2 min y 5 min respectivamente) para determinar el tiempo de inmersión y contacto con el patógeno más idóneo en función de los datos de patogenicidad y/o tolerancia obtenidos). Para cada variedad vegetal, tiempo de inmersión y raza fúngica empleada, se dispusieron 3 plántulas en un contenedor individual de 0.5 l que contenía sustrato estéril (Projar Professional), y tras la inoculación fueron incubadas durante 4 semanas en fitotrón a una temperatura de 26°C (12h día/12h noche). Se dispusieron además controles con plantas no inoculadas y plantas sumergidas en solución nutritiva PS en ausencia de inóculo alguno.

Evaluación de síntomas. Los síntomas en planta fueron evaluados durante 4 semanas aplicando la siguiente escala visual de severidad: 1= Planta sana; 2= Crecimiento retrasado o atrofia hasta un 50% en comparación con el control resistente; 3= Presencia de lesiones foliares amarillentas, marchitamiento y desarrollo radicular escaso; 4= Planta muerta.

Reaislamiento de patógenos. Se extrajeron de los diferentes tratamientos plántulas sintomáticas y/o muertas para reaislar el agente etiológico previamente inoculado, confirmando posteriormente su identidad con cada una de las razas del patógeno mediante su estudio al microscopio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La metodología de producción de inóculo resultó óptima para infectar plántulas testigo de sandía mediante inmersión radicular de las mismas. La combinación de los resultados de patogenicidad y/o tolerancia según el tipo de variedad vegetal de referencia obtenida para cada uno de los aislados que representaban razas patogénicas de *Fon* fue la esperada según la bibliografía existente (Zhou et al., 2010). Se analizó así mismo la significación estadística de los datos y combinaciones obtenidas, en donde se determinó que el factor tiempo de inmersión radicular no influyó en los perfiles de tolerancia/sensibilidad. Los reaislamientos fúngicos a partir de plantas muertas o sintomáticas resultaron positivos en todos los casos para las diferentes razas de *Fon* inoculadas previamente. Los resultados confirman la idoneidad del método para la realización de programas de *screening* masivo de germoplasma de sandía basados en los perfiles y combinaciones de patogenicidad con patotipos testigo cepas de referencia, como paso previo a la detección y búsqueda de fuentes de resistencia.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el AGL2014-53398-C2 y GA-A16. Los autores agradecen la colaboración de la empresa Rijk Zwaan Iberica.

REFERENCIAS

- Martyn, R.D. 1985. An aggressive race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* new to the United States. *Plant Dis.* 69:1007.
- Zhou, X.G, Everts, K.L. and Bruton, P.D. 2010. Race 3, a new and highly virulent race of *Fon* causing Fusarium wilt in Watermelon. *Plant Dis.* 94:92-98.
- Zhou, X.G. and Everts, K.L. 2003. Races and Inoculum Density of *Fon* in Commercial Watermelon Fields in Maryland and Delaware. *Plant Dis.* 87:692-698.