



Sociedad
Española
de **Ciencias**
Hortícolas

97

Septiembre
2024

ACTA DE HORTICULTURA

Comunicaciones Técnicas
Sociedad Española de
Ciencias Hortícolas

XI Congreso Nacional de
Mejora Genética de Plantas

Editores:
Margarita López Corrales
M^a Engracia Guerra Velo
María Ramos García
Antonio Jesús Galán Jiménez

Cáceres, 24-26 de septiembre de 2024

Optimización de una metodología de inoculación de *Fusarium oxysporum* en borraja (*Borago officinalis*) y estudios epidemiológicos de su transmisión.

Cristina Mallor^{1,2*}, Carmen Julián^{1,2} y Vicente González^{1,2}

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avda. Montañana, 930. 5059, Zaragoza.

² Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2. CITA-Universidad de Zaragoza, Zaragoza.

*Autor para correspondencia: cmallor@cita-aragon.es

Palabras clave: hortaliza, hongos de suelo, enfermedad, marchitez, pudrición vascular.

Resumen

La borraja (*Borago officinalis*) es una hortaliza de hoja característica del valle medio del Ebro. Recientemente se ha observado un descenso productivo de hasta el 80% provocado por el hongo de suelo *Fusarium oxysporum*. La enfermedad se manifiesta con podredumbre negra a nivel vascular y radicular, originando marchitez de toda la planta, que puede llegar hasta la muerte súbita. El Grupo Operativo GOP2023001100 Borraja tiene como objetivo buscar soluciones a este problema. Resultados previos indican la necesidad de continuar buscando fuentes naturales de resistencia e identificar el origen de la enfermedad. En este trabajo se diseña una metodología de inoculación artificial de *F. oxysporum* en borraja, con el objetivo de utilizarla en procesos sistemáticos de búsqueda de resistencias, y se analizan semillas y plántulas, para identificar el origen de la enfermedad. Los resultados de la inoculación mostraron diferencias significativas entre las 3 concentraciones de inóculo utilizadas y las variedades, y permiten seleccionar la concentración de 10^{-5} conidios mL⁻¹ como la más adecuada para la búsqueda de fuentes de resistencia. En el ensayo de aislamiento a partir de plántulas no se detectó la presencia de *F. oxysporum* en la mayoría de ellas, con la excepción de uno de los lotes. Estos resultados no permiten afirmar con rotundidad que el plantero utilizado no esté implicado en la entrada del patógeno en el cultivo. En los lotes de semilla comercial y de producción propia analizados, los resultados mostraron presencia de colonias atribuibles a *F. oxysporum* en aproximadamente el 60% de las muestras, sugiriendo que estos propágulos pueden jugar un papel clave en la transmisión y entrada del patógeno en cada ciclo anual de cultivo.

INTRODUCCIÓN

La borraja (*Borago officinalis* L.) es una hortaliza de hoja que se cultiva ampliamente en el valle medio del Ebro, principalmente en Aragón, siendo prácticamente desconocida en el resto del territorio nacional. En los últimos años se ha observado un problema de descenso de productividad del cultivo de borraja en Aragón en los meses más cálidos (mayo-septiembre) causada por el hongo de suelo *Fusarium oxysporum* Schltdl. La enfermedad se manifiesta con podredumbre negra a nivel vascular y radicular, originando marchitez de toda la planta, que puede llegar hasta la muerte súbita (González et al., 2019). El descenso de productividad, que puede alcanzar el 80%, pone en serio compromiso la rentabilidad del cultivo y desestabiliza el mercado de esta hortaliza en determinadas épocas del año.

Para dar solución a este problema en 2019 se creó el Grupo de Cooperación, en el marco del Programa de Desarrollo Rural de Aragón, denominado GCP2019004700 “Borraja: sostenibilidad, innovación varietal y mejora de la productividad”, que tiene su continuación en el Grupo Operativo GOP2023001100 “Obtención de material vegetal de Borraja de calidad y optimización de nuevas herramientas para el control de *Fusarium* y otros patógenos que afectan al cultivo”.

Resultados previos del grupo indican la necesidad de continuar buscando fuentes naturales de resistencia genética a *Fusarium* en borraja e identificar el origen de la enfermedad (Sánchez y Mallor, 2021). El cribado de la colección de borraja del Banco de Germoplasma Hortícola del CITA (24

accesiones) así como de las descendencias de plantas resistentes en el campo en condiciones de infección natural realizada por diferentes productores (6 muestras), mostraron una alta mortandad en condiciones de inoculación artificial, con el 99% de plantas sintomáticas (GCP2019004700, 2022). Esta elevada incidencia de la enfermedad podría ser debida a que la concentración habitual utilizada en este tipo de estudios para la evaluación de resistencias frente a hongos de suelo en hortícolas no es la adecuada si se compara con la presión natural de inóculo en las zonas productoras, por lo que se necesitaría un ajuste de la misma. Además, aunque se ha determinado el agente causal, todavía no se conoce el origen de la enfermedad, lo que hace necesario realizar estudios epidemiológicos que permitan conocer su forma de transmisión, con el fin de poder establecer estrategias para su control. En este trabajo se diseña una metodología de inoculación de *Fusarium oxysporum* en borraja con el objetivo de utilizarla en procesos sistemáticos de búsqueda de resistencias. Por otro lado, con el fin de identificar el origen de la enfermedad se analizan semillas y plántulas para constatar o rechazar la hipótesis de transmisión y entrada de *Fusarium* en el cultivo a través de estos materiales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Para la puesta a punto de la metodología de inoculación artificial de *Fusarium oxysporum* se utilizaron dos genotipos de borraja del Banco de Germoplasma Hortícola del CITA, que difieren en el color de sus flores. La variedad de flor blanca Movera (BGHZ5705), cuyos ensayos previos muestran una elevada susceptibilidad a *Fusarium oxysporum* y la variedad de flor azul de Botaya (BGHZ3644), que se caracteriza por su rusticidad y porque algunas plantas han mostrado resistencia y/o tolerancia en ensayos previos. Las semillas se sembraron en bandejas de poliespán que contenían sustrato estéril (Projar Professional) y se mantuvieron en un fitotrón a 25°C hasta el momento de su inoculación. Para los ensayos de transmisión de *Fusarium oxysporum* se analizaron 24 lotes de semillas, que representan las fuentes de semillas utilizadas habitualmente por los productores desde la aparición de la enfermedad (2018-2024), tanto comerciales como de producción propia, junto a varios lotes de plántulas utilizadas en la campaña 2024, procedentes de dos viveros que abastecen a la mayor parte de los productores de la zona.

Metodología

Inoculación: Los dos genotipos de borraja, en estado de cotiledones expandidos y dos hojas verdaderas, se inocularon con tres concentraciones de inóculo infectivo: 10^6 , 10^5 y 10^4 conidios/mL utilizando el método de inmersión radicular. Para cada genotipo y concentración se inocularon 30 plantas. Tras la inoculación, las plantas se dispusieron en contenedores individuales de 0,5 l que contenían sustrato estéril (Projar Professional) y fueron incubadas durante cuatro semanas en el fitotrón a una temperatura de 25°C. Se dispusieron además controles con plantas no inoculadas. Los síntomas en planta individual fueron evaluados semanalmente aplicando la siguiente escala visual de severidad de daños: 1 = planta sana, 2 = retraso en el crecimiento y daños hasta el 50% en comparación con el control no inoculado, 3 = presencia de lesiones foliares, amarilleamiento, marchitamiento y daños en la raíz y 4 = planta muerta. **Transmisión:** Para la detección de *Fusarium* en las plántulas de borraja se esterilizaron en superficie (EtOH 70% 30'' y 3-4 lavados con agua bidestilada estéril) fragmentos radiculares de las mismas, y se incubaron 2-3 días a 25°C en oscuridad en placas Petri que contenían PDA como medio nutritivo. Posteriormente se aislaron y purificaron todas las colonias fúngicas que emergieron de los materiales sembrados para su posterior caracterización morfológica y molecular (comparación de sus secuencias ITS ribosomales). Para el caso de las semillas, éstas fueron esterilizadas en superficie (EtOH 70% 1 minuto, Hipoclorito Sódico comercial 5% 3 minutos y 3 lavados en agua bidestilada estéril), sembradas en placas de PDA de 9 cm (6 semillas/placa y 3 repeticiones por accesión), e incubadas a 26°C en oscuridad para su germinación y el posible aislamiento de hongos en su interior.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la inoculación artificial mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones estudiadas y las variedades. Como cabía esperar la variedad de flor blanca muestra una mayor susceptibilidad que la de flor azul, con valores de incidencia de daños superiores en todos los casos. Las diferencias observadas según las tres concentraciones de inóculo permiten seleccionar la concentración intermedia de 10^{-5} conidios mL^{-1} como la más adecuada para nuestro objetivo (Figura 1). Esta presión de inóculo permite identificar posibles resistencias, que no pueden ser identificadas cuando se utiliza una elevada presión de inóculo o que pueden quedar enmascaradas si la presión de inóculo es inferior. En el ensayo de aislamiento a partir de plántulas comerciales no se detectó la presencia de *F. oxysporum* en la mayoría de ellas, con la excepción de uno de los lotes donde se aisló e identificó el patógeno. Estos resultados no permiten afirmar con rotundidad que el plantero utilizado no esté implicado en la entrada del patógeno en el cultivo. En el caso de los lotes de semilla comercial y de producción propia analizados los resultados mostraron presencia de colonias atribuibles a *F. oxysporum* a partir de la semilla en germinación (Figura 2), en al menos 14 de las 24 accesiones ensayadas (aproximadamente el 60%), sugiriendo que estos propágulos pueden jugar un papel clave en la transmisión y entrada del patógeno en cada ciclo anual de cultivo. Las diferencias en incidencia del patógeno observadas entre la semilla y la plántula de siembra podría deberse a los tratamientos sistemáticos que ésta última recibe en vivero antes de ser comercializada.

AGRADECIMIENTOS: El trabajo ha sido realizado en el marco del Grupo Operativo GOP2023001100 BORAGO (2023 – 2026), cofinanciado por el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) y por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación en un 80 % y un 20 % respectivamente.

REFERENCIAS

GCP2019004700. 2022. Grupo de Cooperación Borraja: sostenibilidad, innovación varietal y mejora de la productividad. En: <https://www.aragon.es/-/resultados-grupos-cooperacion-2019> (27).

González, V., Aguado, A.M., y Garcés, A. 2019. First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Wilt and Root Rot in Common Borage (*Borago officinalis*) in Spain Plant Disease. 103.

Sánchez, A.M. y Mallor, C. 2021. Evaluación de la colección de borraja del Banco de Germoplasma Hortícola de Zaragoza (BGHZ-CITA) frente a la marchitez y podredumbre de raíz causada por *Fusarium oxysporum*. XVI Congreso Nacional Ciencias Hortícolas, Córdoba.