

Grupos de Compatibilidad Vegetativa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* en la Provincia de Almería

M. GARCÍA ALCÁZAR, M. A. AÑAÑOS, R. BLANCO, D. CIFUENTES

Con el objeto de conocer la variabilidad genética de *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum*, patógeno detectado a principios del año 2000 en España, se determinaron los grupos de compatibilidad vegetativa (VCGs) utilizando auxótrofos de la ruta del nitrato, (mutantes *nit*), de un total de 13 aislados de este hongo, colectados en la provincia de Almería, junto con un grupo de aislados de origen griego, incluidos como referencia de VCG. Todos los aislados españoles fueron colectados en plantas que presentaban podredumbre del cuello y las raíces, enfermedad causada por *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum*. Doce aislados se colectaron en plantas de pepino y uno en planta de melón.

Ocho aislados, uno de ellos colectado en plantas de melón, fueron asignados al VCG 0260, dos fueron incluidos en el VCG puente 0260/0261, y dos aislados no pudieron ser asignados a ningún VCG, porque no formaron heterocarión con ninguna de las cepas de referencia. Al resto de los aislados no se les pudo asignar su grupo de compatibilidad vegetativa debido a su incapacidad para producir mutantes *nit* o porque resultaron autoincompatibles. El predominio del VCG 0260 observado en el presente estudio es similar al observado en otros países, e indicaría que las poblaciones de *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* en Almería son genéticamente muy similares. Sin embargo, la presencia del VCG puente 0260/0261 y la posibilidad de que existan nuevos VCGs parece indicar que es posible esperar una mayor variabilidad genética de este hongo.

La patogenicidad de *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* en plantas de melón detectada en este estudio se ha comprobado recientemente en Grecia.

M. GARCÍA ALCÁZAR, M. A. AÑAÑOS, R. BLANCO. EPS. Dpto. Producción Vegetal. Universidad de Almería. Cañada de San Urbano, s/n. 04120. Almería.
D. CIFUENTES. ETSIA. Dpto. Producción Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena. Pº Alfonso XIII, 52. 30203 Cartagena. Murcia.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*, pepino, podredumbre del cuello y las raíces, grupos de compatibilidad vegetativa, VCG.

INTRODUCCIÓN

El pepino, (*Cucumis sativus* L.), es un cultivo de importancia económica en numerosos países (VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS, 1999; PAVLOU *et al.*, 2002; VAKALOUNAKIS *et al.*, 2004). En la Unión Europea los principales países productores de esta hortaliza son España, Grecia y Holanda (FAO, 2005). Dentro de España, la provincia de Almería ocupa el primer lugar en lo que a

producción se refiere (M.A.P.A., 2004). La producción de Almería se comercializa principalmente durante los meses de invierno en el mercado europeo (INSTITUTO DE ESTUDIOS DE CAJAMAR, 2004).

El pepino es afectado por numerosos hongos patógenos, pero el hongo *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr., es uno de los más importantes, (VAKALOUNAKIS, 1988; VAKALOUNAKIS *et al.*, 2004). Dos formas especializadas de *F. oxysporum* enferman al

cultivo del pepino: *F. o. f. sp. cucumerinum* (Owen) Snyder & Hansen y *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* Vakalounakis.

F. o. f. sp. cucumerinum, descrito en el año 1956, causa el marchitamiento vascular del pepino, enfermedad que limita el establecimiento de este cultivo en muchas regiones del mundo (AHN *et al.*, 1998). Los síntomas del marchitamiento vascular son bien conocidos en todas las zonas donde se cultiva pepino; consisten principalmente en marchitamiento, amarillamiento y decoloración vascular (CERKAUSKAS y BROWN, 2001). *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* fue descrito en 1996 por Vakalounakis, quien venía observando, desde el año 1989, grandes pérdidas en la producción de pepino cultivados en invernadero en Grecia (VAKALOUNAKIS, 1996). A partir de esa fecha se ha ido informando de su presencia en otros países; Canadá (PUNJA *et al.*, 1998; PUNJA y PARKER, 2000; CERKAUSKAS y BROWN, 2001), Francia (REVERCHON *et al.*, 2000), Australia (TESOREIRO, 2003), y China (VAKALOUNAKIS *et al.*, 2004). En España fue citado por primera vez por BLANCO *et al.* (2000), y MORENO *et al.* (2001), en cultivos de pepino en la provincia de Almería. Esta forma especializada causa una enfermedad conocida como "podredumbre del cuello y las raíces". La podredumbre del cuello y las raíces se manifiesta por un marchitamiento generalizado de la planta, especialmente a bajas temperaturas, unos 17°C, (PAVLOU *et al.*, 2002), combinado o no con un amarillamiento de las hojas basales. El tallo presenta una decoloración amarillenta y pudrición superficial que puede alcanzar una altura de 10 a 12 cm sobre el cuello, en plantas adultas. En un estado avanzado de la enfermedad puede producirse una total desintegración de los tejidos del tallo y cuello de la planta, y observarse abundante micelio de color blanco y esporodocios de color naranja (MORENO *et al.*, 2001; CERKAUSKAS y BROWN, 2001).

A pesar de que *F. o. f. sp. cucumerinum* y *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* producen enfermedades diferentes, resulta difícil

diferenciarlos porque morfológicamente son indistinguibles. Tradicionalmente, la forma de distinguir los aislados patógenos de los no patógenos de *F. oxysporum* ha consistido en inocularlos en plantas diferenciadoras y examinar los síntomas producidos. Sin embargo, este método implica un costo importante en instalaciones y tiempo de espera.

Desde hace años, diversas técnicas de análisis de la variabilidad genética han intentado facilitar la identificación de las numerosas formas especializadas y razas de *F. oxysporum*. Una de estas técnicas es la de los Grupos de Compatibilidad Vegetativa (VCGs). Los grupos de compatibilidad vegetativa representan una forma natural de subdividir una población fúngica y dan una medida del grado de diversidad genética presente en la población, aportando información sobre aspectos como el posible origen de los aislados. En hongos donde no se conoce el estado sexual, los VCGs subdividen la población en grupos genéticamente aislados donde miembros de un mismo grupo pueden intercambiar información genética vía heterocariosis durante el ciclo parasexual, pero no entre miembros que pertenecen a distintos VCGs (PUHALLA, 1985). En la actualidad, la mayoría de los estudios de compatibilidad vegetativa se realizan utilizando auxótrofos de la ruta del nitrato, los cuales poseen mutaciones que impiden la utilización del nitrato como única fuente de nitrógeno. A estos mutantes se les denomina *nit*.

La mayor ventaja de usar mutantes *nit* es su fácil obtención, sin requerir tratamientos con mutágenos. La selección de mutantes auxótrofos deficientes en enzimas metabólicas se facilita mediante el uso de substratos análogos tóxicos. En el caso de los auxótrofos de la ruta del nitrato, estos mutantes aparecen de forma espontánea como sectores de crecimiento rápido cuando se hace crecer al organismo en medios con clorato, un tóxico análogo al nitrato.

La técnica propuesta por Puhalla en 1985 ha sido ampliamente aplicada a las diferen-

tes formas especializadas de *F. oxysporum* (KATAN, 1999) y, también, a la forma especializada *radicis-cucumerinum*. Actualmente, en *F. o. f.sp. radicis-cucumerinum* se han determinado dos VCGs, 0260 y 0261, más un VCG puente, 0260/0261 (VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS, 1999; VAKALOUNAKIS *et al.*, 2004; VAKALOUNAKIS *et al.*, 2005). El objetivo del presente trabajo es determinar la variabilidad genética de un grupo de aislados de *F. o. f.sp. radicis-cucumerinum*, colectados principalmente en cultivos de pepino de la provincia de Almería, con los descritos originalmente por VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS (1999), VAKALOUNAKIS *et al.* (2004) y VAKALOUNAKIS *et al.* (2005).

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislados fúngicos

En el presente estudio se han analizado 18 aislados de *F. o. f.sp. radicis-cucumerinum* (Cuadro 1). Nueve de estos aislados procedieron de la micoteca del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad de Almería, formada a partir de prospecciones en cultivos de pepino de la provincia de Almería, y cinco aislados procedieron de la colección del Dr. Vakalounakis (National Agricultural Research Foundation. Plant Protection Institute. Creta). Cuatro aislados, (FORC 10, 11, 12 y 13), fueron colectados en plantas enfermas cultivadas en invernade-

Cuadro 1. Origen y VCGs de los aislados de *F.o. f.sp. radicis-cucumerinum* estudiados.

Aislado (código trabajo/original)	Origen	VCGs
<i>F.o. f.sp. radicis-cucumerinum</i>		
FORC 1 (FOP 3)	El Ejido, Almería	**
FORC 2 (FOP 4)	El Ejido, Almería	**
FORC 3 (FOP 6)	El Ejido, Almería	**
FORC 4 (P2-9)	El Ejido, Almería	*
FORC 5 (P2-7)	El Ejido, Almería	*
FORC 6 (P2 3V)	El Ejido, Almería	0260/0261
FORC 7 (P2-2)	El Ejido, Almería	0260
FORC 8 (P1-1)	El Ejido, Almería	0260
FORC 9 (J2)	El Ejido, Almería	0260/0261
FORC 10 (JAB 1)	Adra, Almería	***
FORC 11 (FO 2)	La Mojenera, Almería	0260
FORC 12 (FO MT)	El Ejido, Almería	***
FORC 13 (FO ME)	El Ejido, Almería	0260
FORC 14 (FOC A)	Creta (Plant Protection Institute)	0260
FORC 15 (FOC B)	Creta (Plant Protection Institute)	**
FORC 16 (F FORC)	Creta (Plant Protection Institute)	0260
FORC 17 (Afu-68 A)	Creta (Plant Protection Institute)	0260
FORC 18 (Afu-74)	Creta (Plant Protection Institute)	0260
<i>Tester de referencia de VCGs</i>		
FORC 21 (Afu-14A4)	Creta (Plant Protection Institute)	0260
FORC 22 (Afu-15B2)	Creta (Plant Protection Institute)	0260
FORC 23 (Afu-26B2)	Creta (Plant Protection Institute)	0261
FORC 24 (Afu-26B3)	Creta (Plant Protection Institute)	0261

* = aislados resistentes al clorato

** = aislados autoincompatibles

*** = aislados no complementarios con los *tester* de referencia de VCG

ros de la provincia de Almería; tres de ellos procedieron de plantas de pepino y uno de planta de melón (*Cucumis melo* L.) cv. Vulcano, (FORC 13). Todas las plantas de las que se colectaron estos aislados presentaban la sintomatología propia de la podredumbre del cuello y las raíces, causada por *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum*. La determinación de la forma especializada y de la patogenicidad de estos cuatro aislados ha sido estudiada en la Universidad de Almería (datos no publicados). Como referencia de los grupos de VCGs descritos para *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* se utilizaron cuatro cepas (*tester*) cedidos por el Dr. Vakalounakis.

Los aislados se cultivaron en un medio selectivo modificado para *Fusarium* (KOMADA, 1975; TELLO *et al.*, 1991) incubado a 26-27°C durante 7 días. De cada aislado se obtuvieron cultivos monospóricos, para asegurar su pureza genética, en el medio de cultivo agar-agua, (AA). La incubación en el medio AA se realizó a 25°C durante 24 horas. Posteriormente, los aislados monospóricos se cultivaron en el medio no selectivo PDA (patata, dextrosa, agar), incubado a 25°C.

Análisis de los VCGs

La determinación de los grupos de compatibilidad vegetativa se hizo de acuerdo a la metodología descrita por PUHALLA (1985) y CORRELL *et al.* (1987). Para la obtención de mutantes *nit*, de cada aislado monospórico se transfirieron 20 bloques de unos 2 mm³ de micelio desde el cultivo en PDA a un medio MMC (medio mínimo clorato), (PUHALLA, 1985), y se incubaron a 25°C. Muchos de los aislados fueron insensibles al clorato, por lo que se aumentó su concentración a dosis del 20 y 30%. El crecimiento en MMC fue restringido hasta que a los 13-15 días surgieron sectores clorato resistentes de crecimiento rápido. De cada uno de estos sectores se tomó un bloque de micelio, también de unos 2 mm³, y se transfirió a un medio MM, medio basal con nitrato como fuente de nitrógeno. La incubación también se hizo a 25 °C. Al cabo de 5 a 7 días se

observó el crecimiento. Si éste era fino, expansivo, y con escaso o nada de micelio aéreo indicaba que los mutantes resistentes al clorato eran incapaces de reducir el nitrato y por tanto eran mutantes *nit* (PUHALLA, 1985). Para la caracterización fenotípica de los mutantes *nit* todos los mutantes *nit* obtenidos se cultivaron en tres medios, cada uno con diferente fuente de nitrógeno: MM, medio nitrito, medio basal suplementado con 0,5 gr./l de nitrito sódico, y medio hipoxantina, medio basal suplementado con 0,2 gr./l de hipoxantina. La caracterización de los fenotipos, *nit1*, *nitM* y *nit3*, se hizo de acuerdo a su crecimiento en estos tres medios, tal como lo describieron CORRELL *et al.* (1987). Transcurridos 3 a 5 días, a 25°C, ya se observó un crecimiento fino y expansivo en algunos aislados, siendo el tiempo máximo de cultivo de 30 días. Caracterizado el fenotipo, se seleccionaron entonces los mutantes *nit1* y *nitM* para la pruebas de autocomplementación vegetativa. Esta prueba se hace para descartar la existencia de aislados autoincompatibles que pudiera conducir a error en la determinación de los VCGs. Los mutantes *nitM* se aparearon con los mutantes *nit1* en medio MM y se incubaron a la temperatura ya señalada hasta que se observó un crecimiento tipo salvaje en la zona de contacto entre los mutantes, prueba de que se había formado un heterocarión y que por tanto el aislado en cuestión era autocompatible (PUHALLA, 1985). En este caso el tiempo de cultivo también fue de 30 días.

Para la prueba de compatibilidad vegetativa se seleccionaron mutantes *nit1* representativos de cada aislado autocompatible y se aparearon con los mutantes *nitM* de las cepas de referencia (*tester*) de los VCGs 0260 (Afu-14A4 y Afu-15B2) y 0261 (Afu-26B2 y Afu-26B3). Transcurridos 7-10 días de incubación a 25 °C ya se observó complementación entre los aislados. Ésta se manifestó con un crecimiento denso y exuberante en la zona de contacto entre los dos mutantes. La formación de este heterocarión indicó que los aislados eran compatibles vegetativamente y pertenecían al mismo VCG que el *tester*. Por

el contrario, la no formación de heterocarión indicaba que los aislados era incompatibles vegetativamente y pertenecían a diferentes VCGs (Figuras 1 y 2).

RESULTADOS

Entre los aislados de *F. o. f.sp. radicum-cucumerinum* utilizados en este estudio, no se obtuvieron mutantes *nit* en los aislados FORC 4 y FORC 5 (Cuadro 1). El crecimiento de estos aislados no fue restringido en medio con clorato ni siquiera a la mayor concentración, 30% de KClO_3 . En el resto de los aislados sí se obtuvieron mutantes *nit*, (177 en total), y pudo determinarse su fenotipo según su crecimiento en medio basal con nitrato, nitrito o hipoxantina como única fuente de nitrógeno (Cuadro 2). El fenotipo *nit1* fue el más frecuente obtenido, 31,2%, seguido por *nitM*, 21,5%, y *nit3*, 15,1%. El resto de los mutantes no pudo ser clasificado ya sea porque su crecimiento no se correspondía con ninguno de los 3 tipos de fenotipos, (10,8%), o porque reversionaban a la forma salvaje transcurridos unos días de mostrar un fenotipo dado, (21,4%).

En las pruebas realizadas para determinar la autocompatibilidad de cada aislado, se

obtuvieron 4 aislados autoincompatibles, todos los demás aislados fueron autocompatibles (Cuadro 1). La autocompatibilidad se manifestó con la formación de un crecimiento miceliar denso, y muchas veces aéreo, en la zona de contacto entre los mutantes *nit1* y *nitM* apareados. En los resultados obtenidos en las pruebas de compatibilidad vegetativa, (Cuadro 1), ocho aislados pertenecieron al VCG 0260. Los aislados FORC 6 y FORC 9 complementaron con los *tester* de los VCGs 0260 y 0261 por lo que se adscribieron al grupo de compatibilidad puente, 0260/0261. Dos aislados autocompatibles (FORC 10 y FORC 12) no complementaron con ninguna de las cepas de referencia de VCGs.

DISCUSIÓN

De los 18 aislados con los que se inició el presente estudio sólo pudieron realizarse todas las pruebas necesarias para determinar el grupo de compatibilidad vegetativa en 12. Dos aislados no presentaron restricciones de crecimiento en medio suplementado con clorato potásico, mostrando de forma natural resistencia a este tóxico. Cuatro aislados, uno de ellos de la colección del Dr. Vakalounakis, resultaron ser autoincompatibles. La



Figura 1. Compatibilidad vegetativa entre mutantes *nit1* del aislado FORC 13 con el *nit tester* de referencia del VCG 0260, Afu-14A4.



Figura 2. Compatibilidad vegetativa entre mutantes *nit1* del aislado FORC 7 con el *nit tester* de referencia del VCG 0260, Afu-15B2.

Cuadro 2. Número y fenotipo de los mutantes *nit* obtenidos en los aislados de *F.o. f.sp. radialis-cucumerinum*.

Aislado (código trabajo/original)	Número de mutantes <i>nit</i>	Fenotipo de los mutantes <i>nit</i> (%) **		
		<i>nit</i> 1	<i>nit</i> 3	<i>nit</i> M
<i>F.o. f.sp. radialis-cucumerinum</i>				
FORC 1 (FOP 3)	12	41,7	0	0
FORC 2 (FOP 4)	11	27,3	0	9,1
FORC 3 (FOP 6)	16	25	0	6,3
FORC 4 (P2-9)	0	*		
FORC 5 (P2-7)	0	*		
FORC 6 (P2 3V)	7	28,6	0	14,3
FORC 7 (P2-2)	16	25	25	37,5
FORC 8 (P1-1)	10	30	10	40
FORC 9 (J2)	2	50	0	50
FORC 10 (JAB 1)	15	13,3	73,3	6,7
FORC 11 (FO 2)	5	20	20	0
FORC 12 (FORC MT)	14	28,6	35,7	14,3
FORC 13 (FO ME)	18	44,4	27,8	11,1
FORC 14 (FOC A)	4	50	0	25
FORC 15 (FOC B)	7	14,3	0	42,9
FORC 16 (F FORC)	4	50	0	50
FORC 17 (Afu-68 A)	11	27,3	18,2	36,4
FORC 18 (Afu-74)	25	24	32	0

*: aislados resistentes al clorato.

** : la sumatoria de los porcentajes no es igual a 100 en todos los casos porque hubieron mutantes *nit* que revertieron al estado salvaje, y/o porque su crecimiento en medio basal suplementado con diferentes fuentes de nitrógeno no coincidió con ninguno de los fenotipos establecidos.

autoincompatibilidad ha sido observada en diferentes hongos, incluido *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* (VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS, 1999), y, junto con la resistencia al clorato, representa un factor limitante de la técnica porque los aislados autoincompatibles complican el análisis de las poblaciones al no poder asignarlos a un VCG determinado.

En el presente estudio, el 66,6 % de los aislados autocompatibles pertenecen al VCG 0260. Este VCG es el más frecuente, según revelan los estudios. VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS (1999), estudiando una amplia colección de aislados de origen griego, más cuatro aislados holandeses, encontraron que la mayoría, (60), pertenecían al VCG 0260, y sólo 5 al VCG 0261. Similar situación encontró años más tarde al estudiar otra

extensa colección de aislados de origen griego (VAKALOUNAKIS *et al.*, 2005).

La presencia de un VCG mayoritario dentro de un área o en áreas geográficamente separadas indica que las poblaciones son genéticamente muy similares. Este hecho ha sido observado en otras formas especializadas de *F. oxysporum* (KATAN y KATAN, 1988; ELIAS y SCHNEIDER, 1991; KATAN *et al.*, 1991; KISTLER *et al.*, 1998). Por otra parte, la presencia de un mismo VCG en zonas geográficas distantes da una idea de la dispersión del patógeno y de su procedencia (ROSEWICH *et al.*, 1999). Así, VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS (1999), sugieren que *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* habría sido introducido en Creta en semillas y sustratos orgánicos procedentes de Holanda. En este país se detectó su existencia entre 1985 y 1986,

pero allí no constituye el principal problema sanitario del cultivo del pepino. Tal vez una situación similar podría haberse producido en la provincia de Almería, donde se practica una agricultura intensiva y se mantiene un intenso intercambio comercial de productos agrícolas con diferentes países europeos. Es muy probable que la presencia de *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* en los cultivos de pepino en Almería sea una consecuencia del intercambio comercial. Por otra parte, el actual predominio del VCG 0260 en esta provincia podría atribuirse a la reciente introducción de este hongo; su presencia en el país, concretamente en cultivos de pepino de Almería, fue detectada a fines de diciembre de 1999 (BLANCO *et al.*, 2000; MORENO *et al.*, 2001).

Entre los aislados de *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* que pertenecen al VCG 0260, cabe destacar que el aislado FORC 13 fue colectado en una planta de melón de la variedad Vulcano, resistente a las razas 0, 1 y 2 de *F. o. f.sp. melonis*. Esta planta estaba cultivada en saco de perlita, y donde en la campaña anterior se cultivó pepino. Este resultado coincide con el de un informe reciente sobre la patogenicidad de *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* en plantas de melón, en condiciones naturales (VAKALOUNAKIS *et al.*, 2005).

La determinación en el presente estudio de dos aislados puente, FORC 6 y FORC 9, sugiere que los VCGs 0260 y 0261 estarían estrechamente relacionados (KATAN *et al.*, 1991; CORRELL *et al.*, 1993). La determinación de grupos puentes en algunas formas especializadas de *F. oxysporum* no es un hecho aislado (KISTLER *et al.*, 1998) y, en *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* ya hay antecedentes (VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS, 1999; VAKALOUNAKIS *et al.*, 2005). La existencia de aislados puente en Almería sugiere, además, que en *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* podría estar produciéndose un proceso

de divergencia y formación de nuevos VCGs (KATAN *et al.*, 1991; CORRELL *et al.*, 1993).

El resultado obtenido con los aislados FORC 10 y FORC 12, que siendo autocompatibles no complementaron con ninguna de las cepas de referencia de VCGs, podría interpretarse como la existencia de uno o dos nuevos VCGs de *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* en los cultivos de Almería. No obstante, para demostrar la existencia de nuevos VCGs sería necesario realizar un estudio más amplio, que incluyera un número mayor de aislados y también otras técnicas de análisis genéticos.

La posibilidad de nuevos grupos de compatibilidad vegetativa en Almería, unida al hecho de enfermar *F. oxysporum* f.sp. *radialis-cucumerinum* a melón, según ha publicado VAKALOUNKIS *et al.* (2005) y que hemos comprobado en nuestras propias inoculaciones, (datos no publicados), merece una investigación más detallada con otras formas especializadas que enferman al melón y a la sandía.

Según nuestros antecedentes, este es el primer estudio de los grupos de compatibilidad vegetativa de *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum* en nuestro país, y sería el segundo en el que se informa sobre la patogenicidad de esta forma especializada en melón.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a los siguientes personas por habernos suministrado algunos de los aislados utilizados en este estudio; a los profesores de la Universidad de Almería, Dr. J. Tello y Dr. J. Abad, al Dr. J. Gómez (C.I.F.A., La Mojoneira, Almería), a la Dra. V. Gómez, (Unidad de Hongos y Bacterias del Laboratorio de Sanidad Vegetal, La Mojoneira, Almería), y al Dr. Vakalounakis (National Agricultural Research Foundation, N.AG.Re.F., Plant Protection Institute, Heraclio, Creta).

ABSTRACT

GARCÍA ALCÁZAR M., M. A. AÑAÑOS, R. BLANCO, D. CIFUENTES. 2006. Vegetative Compatibility Groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* in Almería, Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 535-543.

In order to determine the genetic diversity of *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum*, pathogen detected at the beginning of 2000 in Spain, a group of isolates of this fungus were characterized by vegetative compatibility using nitrate-nonutilizing (*nit*) mutants. The study was made on 13 isolates of *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* collected in Almería together with a group of isolates from Greece, included for comparison as reference VCG strains. All the Spanish isolates were recovered from diseased plants showing typical root and stem rot symptoms, disease caused by *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum*. Twelve isolates were collected from cucumber and one from muskmelon plant. Eight isolates, one of them from a muskmelon plant, were assigned to vegetative compatibility group (VCG) 0260. Two isolates formed complementary heterocaryons with testers of both VCG 0260 and VCG 0261 and were included in bridge VCG 0260/0261. Two vegetatively self-compatible isolates could not be assigned to any vegetative compatibility groups, because of their inability to form complementary heterocaryons with tester strains of both VCG 0260 and VCG 0261. The remaining six isolates could not be tested for vegetative compatibility because of their inability to yield *nit* mutants or because were not vegetatively compatible. The preponderance of VCG 0260 observed in this study is similar to that found in other countries and could explain the fact that *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* populations are very similar in Almería. Nevertheless, the occurrence of bridge isolates (VCG 0269/0261) and the possibility of one or more VCGs in populations of this fungus in Almería, could indicate that the level of genetic variability of *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* in Almería could be higher. Natural infection of muskmelon by *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* had recently been reported in Greece.

Key words: *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*, cucumber, root and stem rot, Vegetative Compatibility Groups, VCG.

REFERENCIAS

- ANH, I. P., CHUNG, H. S., LEE, Y. H. 1998. Vegetative compatibility groups and pathogenicity among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Plant Disease*, **82** (2): 244-246.
- BLANCO, R., DIÁNEZ, F., MORENO, A., ALFÉREZ, A., AVILÉS, M., TELLO, J. C. 2000. Nueva micosis de la raíz y el tallo del pepino en Almería. Estudio de su especificidad patogénica. En: Programa y Resúmenes. Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. 177 pp.
- CERKAUSKAS, R. F., BROWN, J. 2001. First report of fusarium stem and root rot of greenhouse cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* in Ontario. *Plant Disease*, **85** (9): 1028.
- CORRELL, J. C., KLITTICH, C. J. R., LESLIE, J. F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility test. *Phytopathology*, **77**: 1640-1646.
- CORRELL, J. C., MORELOCK, T. E., GUERBER, J. C. 1993. Vegetative compatibility and virulence of the spinach anthracnose pathogen *Colletotrichum dematium*. *Plant Disease*, **77** (7): 688-691.
- ELIAS, K. S., SCHNEIDER, R. W. 1991. Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, **81**: 159-162.
- FAO. 2005. Estadísticas agropecuarias mundiales. <http://faostat.fao.org/>
- INSTITUTO DE ESTUDIOS DE CAJAMAR. 2004. Análisis de la campaña hortofrutícola de Almería. Campaña 2003/2004. Caja Rural Intermediterránea. Cajamar. 39 pp.
- KATAN, T. 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*, **27** (1): 51-64.
- KATAN, T., KATAN, J. 1988. Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from tissues and the rhizosphere of cotton plants. *Phytopathology*, **78**: 852-855.
- KATAN, T., ZAMIR, D., SARFATTI, M., KATAN, J. 1991. Vegetative compatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology*, **81**: 255-262.
- KISTLER, H. C., ALABOUVETTE, C., BAAYEN, R. P., BENTLEY, S., BRAYFORD, D., CODDINGTON, A., CORRELL, J., DABOUSSI, M. J., ELIAS, J., FERNÁNDEZ, D., GORDON, T. R., KATAN, T., KIM, H. G., LESLIE, J. F., MARTYN, R. D., MIGHELI, Q., MOORE, N. Y., O'DONNELL, K., PLOETZ, R. C., RUTHERFORD, M. A., SUMMERELL, B., WAALWIJK, C., WOO, S. 1998. Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, **88**: 30-32.
- KOMADA, H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum*

- from natural soil. *Review of Plant Protection Research*, **8**:114-125.
- M.A.P.A. 2004. Anuario de estadística. www.mapya.es/estadistica/Anu04/exc11-30xls
- MORENO, A., ALFÉREZ, A., AVILÉS, M., DIÁNEZ, F., BLANCO, R., SANTOS, M., TELLO, J. C.. 2001. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* on cucumber in Spain. *Plant Disease*, **85** (11): 1206.
- PAVLOU, G. C., VAKALOUNAKIS, D. J., LIGOXIGAKIS, E. K. 2002. Control of root and stem rot of cucumber, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, by grafting onto resistant rootstocks. *Plant Disease*, **86** (4): 379-382.
- PUHALLA, J. E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.*, **63**: 179-183.
- PUNJA, Z. K., PARKER, M. 2000. Development of fusarium root and stem rot, a new disease on greenhouse cucumber in British Columbia, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Can. J. Plant Pathol.*, **22**: 349-363.
- PUNJA, Z. K., PARKER, M., ROSE, S., LOUIE, D. 1998. Occurrence of fusarium crown and root rot, a new disease on greenhouse cucumbers in British Columbia, and methods for disease control. *Cucurbitaceae*, **98**: 174-185.
- REVERCHON, S., MONNET, Y., BEILARD, E., ALABOUVETTE, C. 2000. Du nouveau sur les fusarioses du concombre. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* isolé pour la première fois en France. *Phytoma*, **530**: 36-38.
- ROSEWICH, U. L., PETTWAY, R. E., KATAN, T., KISTLER, H. C. 1999. Population genetic analysis corroborates dispersal of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* from Florida to Europe. *Phytopathology*, **89**: 623-630.
- TELLO, J., VARÉS, F., LACASA, A. 1991. Análisis de muestras. En: "Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos". M.A.P.A. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. 39-72.
- TESOREIRO, L. 2003. First report of *Fusarium* root and stem rot of greenhouse cucumber caused by *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* in Australia. En: Abstract IXth International *Fusarium* workshop. Univ. Sydney, Australia.
- VAKALOUNAKIS, D. J. 1988. Diseases and pests of vegetable crops and their control. Technological Education Institute, Heraklio, Greece.
- VAKALOUNAKIS, D. J. 1996. Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* f.sp.nov. *Plant Disease*, **80** (3): 313-316.
- VAKALOUNAKIS, D. J., DOULLIS, A. G., KLIRONOMOU, E. 2005. Characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* attacking melon under natural conditions in Greece. *Plant Pathology*, **54** (3): 339-346.
- VAKALOUNAKIS, D. J., FRAGKIADAKIS, G. A. 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from Cucumber: Differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility, and RAPD fingerprinting. *Phytopathology*, **89**: 161-168.
- VAKALOUNAKIS, D. J., WANG, Z., FRAGKIADAKIS, G. A., SKARACIS, G. N., LI, D. B. 2004. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates obtained from cucumber in China by pathogenicity, VCG, and RAPD. *Plant Disease*, **88** (6): 645-649.

(Recepción: 21 abril 2006)

(Aceptación: 18 mayo 2006)