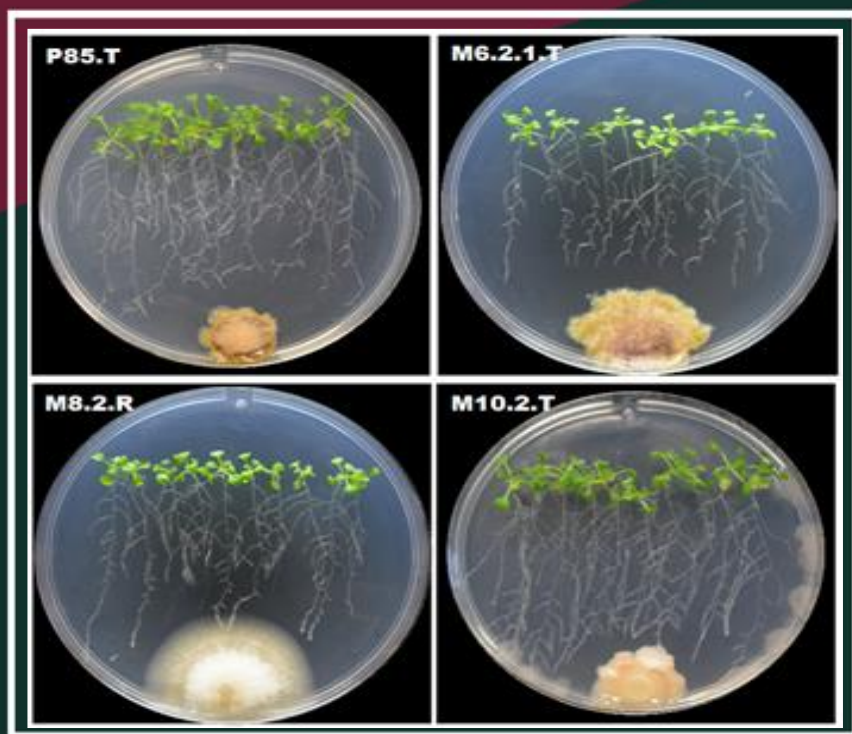


EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DIRECTA DE CEPAS DE *Fusarium equiseti* Y *Fusarium graminearum* EN PLANTAS DE *Arabidopsis thaliana*

MC. Mayra Denise Herrera
Dr. Luis Roberto Reveles Torres
Dra. Silvia Salas Muñoz
Dra. Fátima Berenice Salazar Badillo
Dr. Jorge Armando Mauricio Castillo



Centro de Investigación Regional Norte Centro
Campo Experimental Zacatecas
Calera de V.R, Zacatecas
Folleto Técnico No. 104
Diciembre 2019
ISBN: 978-607-37-1166-1

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

VÍCTOR MANUEL VILLALOBOS ARÁMBULA

Secretario de Agricultura y Desarrollo Rural del Gobierno de México

MIGUEL GARCÍA WINDER

Subsecretario de Agricultura

VÍCTOR SUÁREZ CARRERA

Subsecretario de Autosuficiencia Alimentaria

DAVID MONREAL ÁVILA

Coordinador General de Ganadería

SALVADOR FERNÁNDEZ RIVERA

Coordinador General de Desarrollo Rural

IGNACIO OVALLE FERNÁNDEZ

Titular del Organismo Seguridad Alimentaria Mexicana

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

DR. JOSÉ FERNANDO DE LA TORRE SÁNCHEZ

Director General

DR. JOSÉ ANTONIO CUETO WONG

Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación

M.C. JORGE FAJARDO GUEL

Coordinador de Planeación y Desarrollo

LIC. JOSÉ HUMBERTO CORONA MERCADO

Coordinador de Administración y Sistemas

CENTRO DE INVESTIGACIÓN REGIONAL NORTE CENTRO

DR. ARTURO DANIEL TIJERINA CHÁVEZ

Director Regional

DR. FRANCISCO JAVIER PASTOR LÓPEZ

Director de Investigación

ING. RICARDO CARRILLO MONSIVÁIS

Director de Administración

MC. RICARDO A. SÁNCHEZ GUTIÉRREZ

Director de Coordinación y Vinculación en Zacatecas

Evaluación de la interacción directa de cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum* en plantas de *Arabidopsis thaliana*

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina
Delegación Coyoacán
México, D.F.
C.P. 04010 México, D.F. Teléfono
(55) 3871-8700

ISBN: 978-607-37-1166-1

Primera Edición: DICIEMBRE 2019

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia o por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito a la institución.

Cita correcta:

Reveles-Torres L.R., Herrera M.D., Salas-Muñoz S., Salazar-Badillo F.B., Mauricio-Castillo J.A. Evaluación de la interacción directa de cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum* en plantas de *Arabidopsis thaliana* Folleto Técnico Núm 104. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 32 páginas

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
Material vegetal y condiciones de crecimiento de <i>Arabidopsis thaliana</i>	6
Análisis de la interacción directa de los hongos con plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i>	7
Análisis de los parámetros de crecimiento y desarrollo de las plantas inoculadas	8
Extracción y cuantificación de clorofila.....	8
Análisis del desarrollo de pelos radiculares en la línea mutante Rdh6 de <i>Arabidopsis thaliana</i> en interacción con las cepas de <i>Fusarium equiseti</i> y <i>Fusarium graminearum</i>	9
RESULTADOS	10
Promoción de crecimiento vegetal de cinco cepas de <i>Fusarium equiseti</i> y <i>Fusarium graminearum</i> en plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i>	10
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	24
LITERATURA CITADA	25

Evaluación de la interacción directa de cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum* en plantas de *Arabidopsis thaliana*

MC. Mayra Denise Herrera¹
Dr. Luis Roberto Reveles Torres¹
Dra. Silvia Salas Muñoz²
Dra. Fátima Berenice Salazar Badillo³
Dr. Jorge Armando Mauricio Castillo³

INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos es esencial para el desarrollo humano; sin embargo, para lograr abastecer a la población mundial hay un aumento en el cambio de uso de suelo hacia actividades agrícolas, lo que ha generado un aumento y sobre uso de fertilizantes nitrogenados, pesticidas y otros insumos químicos. A pesar de su popularidad, el empleo de estos trae consigo graves consecuencias para el medio ambiente afectando severamente la pérdida de la biodiversidad, la microbiota y calidad del suelo, así como también la salud humana (Tilman *et al.*, 2002; Trivedi *et al.*, 2017).

Investigadores del Programa de Biología Molecular, y del Programa de Sanidad vegetal del Campo Experimental Zacatecas. ²Investigador Catedrático CONACYT-Campo Experimental Zacatecas. ³Investigador del Campo Experimental Valle de Guadina ⁴Docente-Investigador de la Unidad Académica de Agronomía UAZ

Los principales retos de la agricultura sostenible implican altos rendimientos a bajo costo. Ante esta necesidad se ha incrementado la búsqueda de alternativas para cumplir con la demanda en la producción de alimentos que, además sean amigables con el medio ambiente. Una forma de desarrollar un método de producción de cultivos sostenible es mediante la aplicación de microorganismos benéficos (Trivedi *et al.*, 2017). Interacciones simbióticas como las que las plantas mantienen con microorganismos (v. gr. hongos), favorecen el crecimiento, desarrollo y vigor de las plantas. A su vez; éstas les confieren protección a sus simbiontes contra el estrés biótico y abiótico, y proporcionan al mismo tiempo una mayor biodisponibilidad de nutrientes para las plantas con lo que se puede lograr disminuir el uso de fertilizantes y pesticidas (Bhuvaneswari *et al.*, 2014; Trivedi *et al.*, 2017).

En los entornos naturales, las plantas interactúan con diferentes microorganismos rizosféricos, entre los que se encuentran los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) y las rizobacterias. La rizosfera provee un nicho de relaciones simbióticas planta-microorganismo mismas que son establecidas a través del intercambio y la percepción de moléculas químicas entre ambos

simbiontes, las cuales además pueden tener un efecto sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas (Contreras-Cornejo *et al.*, 2016; Igiehon y Babalola, 2018).

La colonización de la raíz por sus simbiontes, ocurre a través del intercambio y la percepción de señales químicas, lo que desencadenan una respuesta transcriptómica, proteómica y metabólica en ambos organismos (Contreras-Cornejo *et al.*, 2016; Mukherjee *et al.*, 2012).

Las interacciones entre una planta y su microbiota son altamente complejas y dinámicas. La composición del suelo es un elemento clave entre estas interacciones ya que su composición mineral, salinidad, pH, biodisponibilidad de nutrientes, aporte orgánico, temperatura y el contenido de agua determina en gran parte la distribución y agregación de las plantas a un determinado ecosistema (Schuster y Schmoll, 2010; Turner *et al.*, 2013; Rillig *et al.*, 2014). Estas propiedades fisicoquímicas del suelo influyen en gran medida en el tipo de interacciones que las plantas pueden establecer con los microorganismos del suelo dado que estas son importantes en el crecimiento y desarrollo para ambos, a su vez

estas interacciones pueden ser del tipo, comensal, endófitas, parasíticas, simbiotes y de vida libre (Igiehon y Babalola, 2018).

En la naturaleza las plantas interaccionan con una gran variedad de microorganismos, las interacciones más conocidas son aquellas que repercuten de manera perjudicial en la planta por lo cual son consideradas como patogénicas (Berendsen *et al.*, 2012). Sin embargo, existen otro tipo de interacciones denominadas benéficas, en donde la planta se ve influenciada de manera positiva en diversos aspectos como: en la absorción de minerales, la fijación de nitrógeno, la promoción del crecimiento, la resistencia al estrés biótico, y la tolerancia al abiótico (Bais *et al.*, 2006; Pieterse *et al.*, 2003).

El primer paso en la interacción planta-microorganismo es el reconocimiento entre ambos. Habitualmente, las plantas exudan moléculas que son reconocidas por los microorganismos del suelo, que a su vez producen señales que desencadenan la colonización (Badri *et al.*, 2009). La composición de los exudados de la raíz es crucial en la comunicación planta microorganismo, sin embargo, esta capacidad varía según las especies de plantas, la edad, el estado nutricional y la exposición

al estrés (Lareen *et al.*, 2016). Los exudados de la raíz influyen en la composición del microbioma de la rizosfera, a menudo se dividen en dos clases de compuestos. Los de bajo peso molecular como: azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, fenoles, y los compuestos de alto peso molecular como: proteínas y mucílago (Bais *et al.*, 2006). Los tres métodos principales por los cuales las plantas secretan estas sustancias químicas en la rizosfera son la difusión a través de la membrana, el uso de canales iónicos para compuestos de bajo peso molecular y el transporte vesicular para compuestos de alto peso molecular (Badri *et al.*, 2009).

Uno de los mecanismos que se han estudiado para la promoción de crecimiento es la producción de hormonas, tal es el caso de la hormona auxina, la más abundante en plantas es el ácido indolacético (IAA), la cual controla la regulación transcripcional de múltiples procesos incluidos el desarrollo y brote de raíces. Además, esta hormona no solo se encuentra en el reino vegetal, sino que también es sintetizada por microorganismos como bacterias y hongos (Tian-Qiong *et al.*, 2017).

El objetivo del presente trabajo fue el de caracterizar la capacidad de promoción de crecimiento de algunas cepas de *Fusarium*

equiseti y *F. graminearum* utilizando como modelo de estudio a *Arabidopsis thaliana*. Este tipo de trabajo aporta información del efecto de la interacción de las cepas no patogénicas de *F. equiseti* y *F. graminearum*. en plantas dicotiledóneas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de crecimiento de *Arabidopsis thaliana*.

Se esterilizaron semillas de *Arabidopsis thaliana*, con la finalidad de evitar el desarrollo de microorganismos que pudieran estar previamente presentes. Las semillas fueron puestas en un tubo eppendorf con 500 µl de cloro al 20% en agitación a 1,000 rpm durante cinco minutos, seguidas de un lavado con agua destilada estéril en agitación por cinco minutos a 1000 rpm, repitiendo por cuatro veces. Posteriormente, se colocaron las semillas esterilizadas a 4°C por tres días para invernización.

Para realizar la siembra de *Arabidopsis thaliana* se preparó un medio sales MS 0.2X (Murashigue y Skoog; Phyto Technology Laboratories) con agar al 1% y sacarosa al 0.6% ajustado a un pH

de siete. El medio esterilizado y fue vertido 20 ml en cajas Petri estériles desechables. Se colocaron diez semillas de *A. thaliana* por placa en un ángulo de 70° en cámaras bioclimáticas con fotoperiodos de 16 horas de luz y ocho horas de oscuridad a una temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante siete días, con la finalidad de permitir el crecimiento de la parte raíz a lo largo de la superficie del agar y el crecimiento de la parte aérea.

Análisis de la interacción directa de los hongos con plántulas de *Arabidopsis thaliana*

Para llevar a cabo la inoculación de cada uno de los hongos, se realizó la resiembra en cajas Petri estériles con agar PDA, en las cuales se colocó una muestra homogénea de cada uno de los hongos, y se colocaron en incubadora a 28°C durante siete días para obtener el desarrollo de micelio. Posteriormente, para la interacción directa de los hongos con *Arabidopsis thaliana*, se inoculo con una concentración conocida de 1×10^6 de esporas, colocándolas en la parte inferior de las cajas Petri con plántulas de diez días de edad. Las placas se colocaron en un ángulo de 70° en cámaras bioclimáticas con fotoperiodos de 16 horas de luz y ocho horas de oscuridad a una temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante siete días post-inoculación (dpi), con la finalidad de observar el

fenotipo que presentaron las plantas durante la interacción con los hongos y evaluar algunos parámetros vegetativos.

Análisis de los parámetros de crecimiento y desarrollo de las plantas inoculadas

El análisis de diferentes parámetros se realizó con diez plántulas de *Arabidopsis thaliana*, a los siete días post-inoculación (dpi), y se evaluaron los siguientes parámetros: longitud de raíz (cm), el número de raíces secundarias y peso fresco (g) de las plántulas. Los valores fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de Tukey en el programa GraphPad Prims versión 6.2.

Extracción y cuantificación de clorofila

El ensayo para la medición de la clorofila se realizó en plántulas de *Arabidopsis thaliana* que estuvieron inoculadas con las especies de *Fusarium equiseti* (M102.T, M8.2.R y M2.3.R) y *Fusarium graminearum* (P85.T y M6.2.1.T) ante la interacción directa (At-Mo) a los 7 dpi, y de las plántulas sin inocular (control). El total de la clorofila fue extraído de las hojas de *Arabidopsis thaliana* usando N, N-9 dimetilformamida (DMF) por 24 horas en agitación orbital a 1,000 rpm a 4°C en oscuridad.

Las concentraciones de clorofila a y b fueron medidas simultáneamente por espectrofotometría. Las mediciones se realizaron a 664 nm y 647 nm, respectivamente, el contenido de clorofila A y B, y clorofila total (A + B) se determinó mediante las siguientes formulas (Zhang y Huang, 2013):

$$\text{Clorofila A} = 12.7 \times A_{664} - 2.79 \times A_{647}$$

$$\text{Clorofila B} = 20.7 \times A_{647} - 4.62 \times A_{664}$$

$$\text{Clorofila total (A + B)} = 17.90 \times A_{647} + 8.08 \times A_{664}$$

Las variables de respuesta analizadas fueron clorofila a, b y clorofila total (a + b). El análisis estadístico se llevó a cabo por ANOVA de un factor y fueron determinadas mediante la prueba de Tukey en el programa GraphPad Prism versión del software 6.2.

Análisis del desarrollo de pelos radicales en la línea mutante *Rdh6* de *Arabidopsis thaliana* en interacción con las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*.

Para este análisis se utilizó la línea mutante *Rdh6*, para la esterilización y la germinación de las semillas. Se realizó el mismo procedimiento descrito en la sección anterior. En este

caso, a los tres días de germinación, se inocularon con las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, y después de los cinco días de la interacción, se tomó registro fotográfico utilizando un microscopio estereoscópico (LABOMED®) de la arquitectura de la raíz de las plántulas de esta línea mutante *Rhd6*. Para cada línea marcadora y para cada tratamiento, se analizaron al menos seis plantas transgénicas.

RESULTADOS

Promoción de crecimiento vegetal de cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum* en plántulas de *Arabidopsis thaliana*.

Las cepas *Fusarium graminearum* (P85.T), *Fusarium graminearum* (M6.2.1.T) y *Fusarium equiseti* (M2.3.R, M8.2R y M10.2.T) se utilizaron para evaluar la promoción de crecimiento de plántulas de *Arabidopsis thaliana*, y los parámetros vegetativos que se analizaron fue peso fresco, longitud de raíz y número de raíces secundarios a los 7 dpi.

En la Figura 1, se observa el fenotipo de las plántulas de *Arabidopsis thaliana* inoculadas con las cinco cepas de *Fusarium*

spp., las cuales ninguna interacción muestra síntomas de amarillamiento clorosis o algún otro síntoma perjudicial ocasionado por los hongos; por lo contrario, se observan un aumento en el crecimiento y desarrollo de las plántulas, además de un incremento en la generación de raíces secundarias y en la longitud de la raíz.

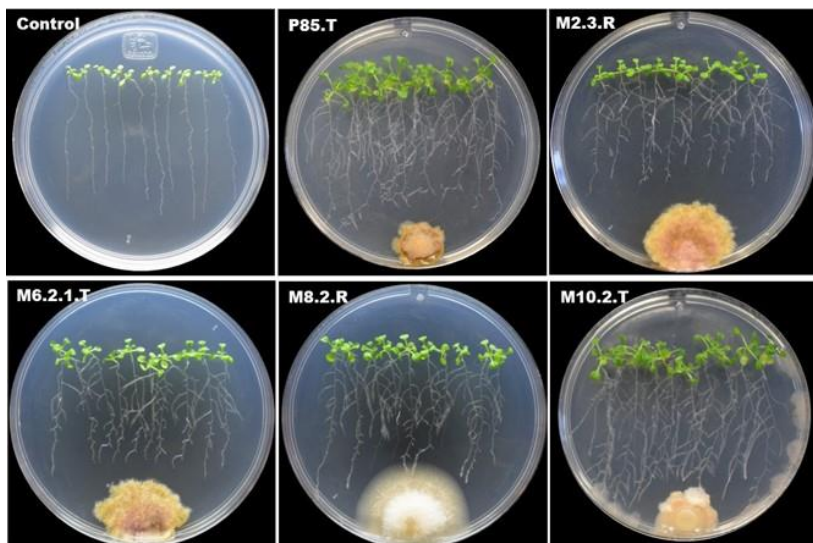


Figura 1. Análisis de la promoción de crecimiento y desarrollo vegetal de cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *graminearum*. en *Arabidopsis thaliana*. Plántulas sin inocular (Control), Plántulas inoculadas con las siguientes cepas: P85.T (*Fusarium. cf graminearum*), M6.2.1.T (*F. graminearum*), M2.3.R, M8.2.R y M10.2.T (*Fusarium. equiseti*). Fotografías de las interacciones de las cepas de *Fusarium equiseti* y *graminearum* a los siete dpi.

En la Figura 2, se observa un acercamiento del desarrollo de las raíces secundarias de las plantas de *Arabidopsis thaliana* durante la interacción con las cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum* y de las plantas control sin inocular, en donde se puede observar claramente que, en las cinco interacciones de los hongos, hay más desarrollo de raíces secundarias y de pelos radiculares, comparadas con las plantas control.

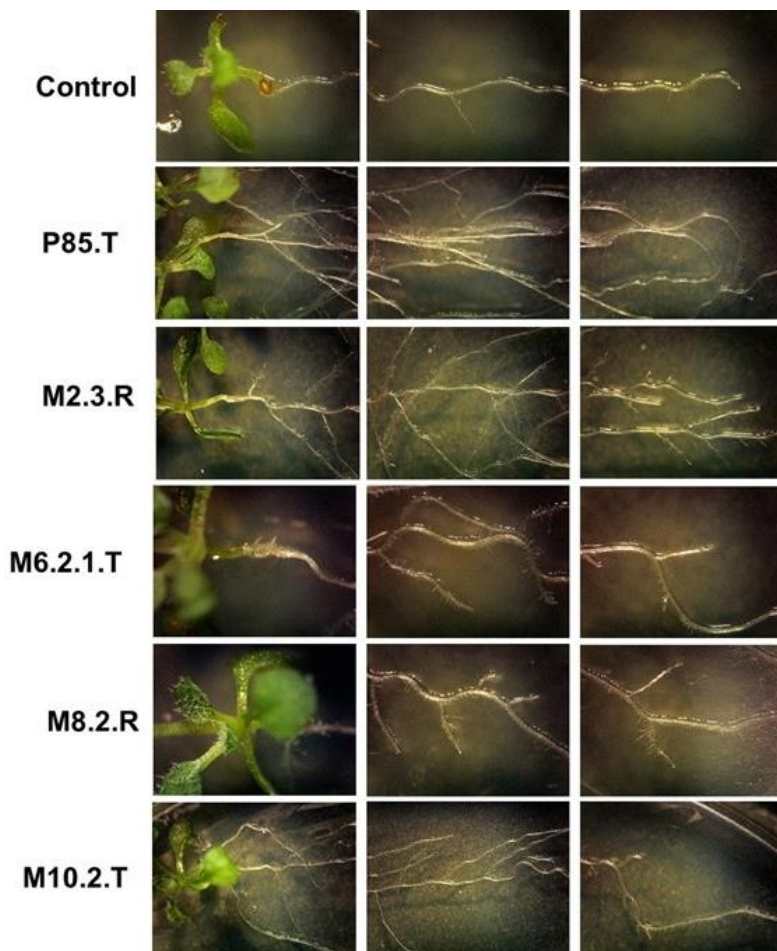


Figura 2. Arquitectura de la raíz de *Arabidopsis thaliana* inoculadas con las cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*. Raíces de las plántulas sin inocular (Control), de las plántulas inoculadas con las siguientes cepas: P85.T (*F. cf graminearum*), M6.2.1.T (*Fusarium graminearum*), M2.3.R, M8.2.R y M10.2.T (*Fusarium equiseti*). Fotografías de la arquitectura de la raíz de *Arabidopsis* de las interacciones con las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum* a los siete dpi.

Los parámetros vegetativos de promoción de crecimiento fueron evaluados en plantas de *Arabidopsis thaliana* no inoculadas e inoculadas con las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*. Los resultados de la promoción de crecimiento se muestran en la Figura 3, donde se observa que en la longitud de raíz no hubo diferencias significativas entre las plántulas inoculadas comparadas con las plantas control (Figura 3A), sin embargo, en el desarrollo de las raíces secundarias se generaron en promedio 18.76, 13.26, 13.26, 13.63 y 21.3 raíces secundarias, en las interacciones con las cepas P85.T, M2.3.R, M6.2.1.T, M8.2.R y M10.2T, respectivamente, comparadas con el control donde se desarrollaron en promedio solo 6.16 raíces secundarias (Figura 3B). Respecto al peso fresco de las plántulas con las cepas P85.T y M10.2.T, hubo un aumento en el peso fresco de 0.138 y 0.1300 g, respectivamente, comparadas con las plantas control con un 0.04013 g (Figura 3C).

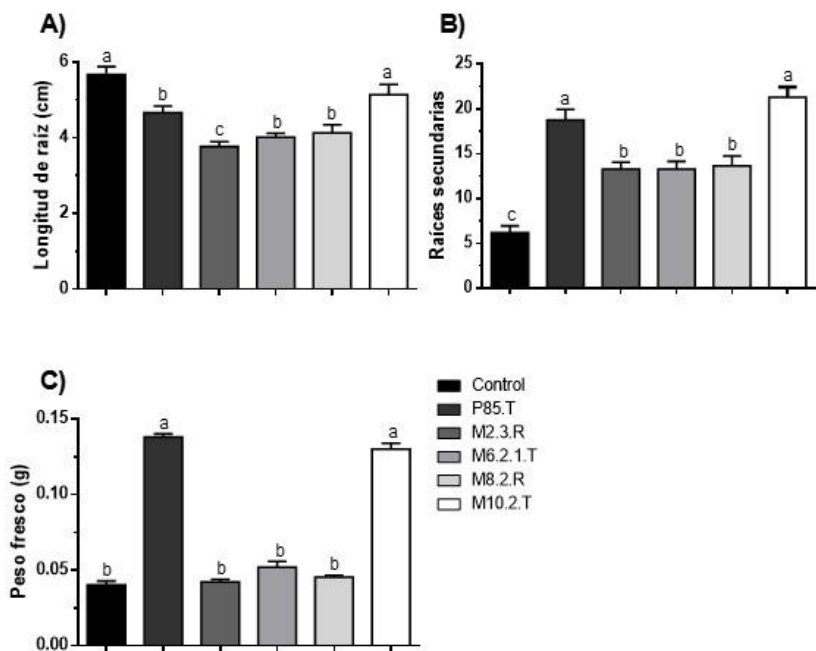


Figura 3. Parámetros vegetativos de las plántulas de *Arabidopsis thaliana* inoculada con las 4 cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*. A) Longitud de raíz, B) Raíces secundarias y C) Peso fresco. Estos parámetros se evaluaron con las cepas P85.T (*Fusarium cf graminearum*), M6.2.1.T (*Fusarium graminearum*), M2.3.R, M8.2.R y M10.2.T (*Fusarium equiseti*) y las plántulas sin inocular (control). Las barras representan el promedio de 5 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada cepa ($P < 0.05$), estas diferencias fueron determinadas mediante la prueba de Tukey en el programa GraphPad Prism versión del software 6.2.

Además, otro dato el cual indicaría si existe algún efecto dañino o benéfico por parte de cada uno de los hongos hacia la planta es la producción de la clorofila. A los siete dpi se realizó la

extracción y cuantificación de la clorofila A, B y total A + B, en interacción con las cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, así como en el control. En la Figura 4, se observa que hubo un aumento de la producción de clorofila A, B y total (A + B) en las plántulas inoculadas con las 5 cepas de los hongos, respecto a las plántulas control.

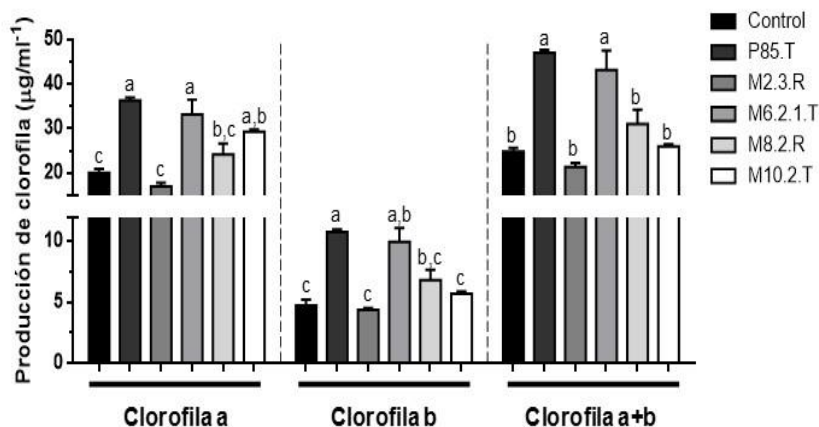


Figura 4. Cuantificación de clorofila de las plántulas de *A. thaliana* inoculadas con las cinco cepas de *Fusarium* spp. Clorofila A, Clorofila B y Clorofila total A + B en plantas inoculadas con las cepas P85.T (*Fusarium cf graminearum*), M6.2.1.T (*Fusarium graminearum*), M2.3.R, M8.2.R y M10.2.T (*Fusarium equiseti*) y las plántulas sin inocular (control). Las barras representan el promedio de 5 plantas con su respectiva barra de error estándar y las letras indican diferencias significativas entre cada cepa ($P < 0.05$), estas diferencias fueron determinadas mediante la prueba de Tukey en el programa GraphPad Prism versión del software 6.2.

También, se llevó a cabo el análisis de la generación de pelos radiculares y de raíces secundarias en plántulas de la línea transgénica *Rdh6* de *Arabidopsis thaliana* a los cinco días de post-inoculación con las cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*. Cabe mencionar que la línea mutante *Rdh6* de *Arabidopsis thaliana* presenta un fenotipo nulo de desarrollo de raíces secundarias y pelos radiculares. El análisis mostró el desarrollo de pelos radiculares y raíces secundarias de las plantas que estuvieron en interacción directa con las cepas; P85.T, M2.3.R, M6.2.1.T, M8.2.R y M10.2.T, mientras que en el control (plántulas sin el inóculo del hongo) no se observó desarrollo de pelos radiculares, ni de raíces secundarias (Figura 5).

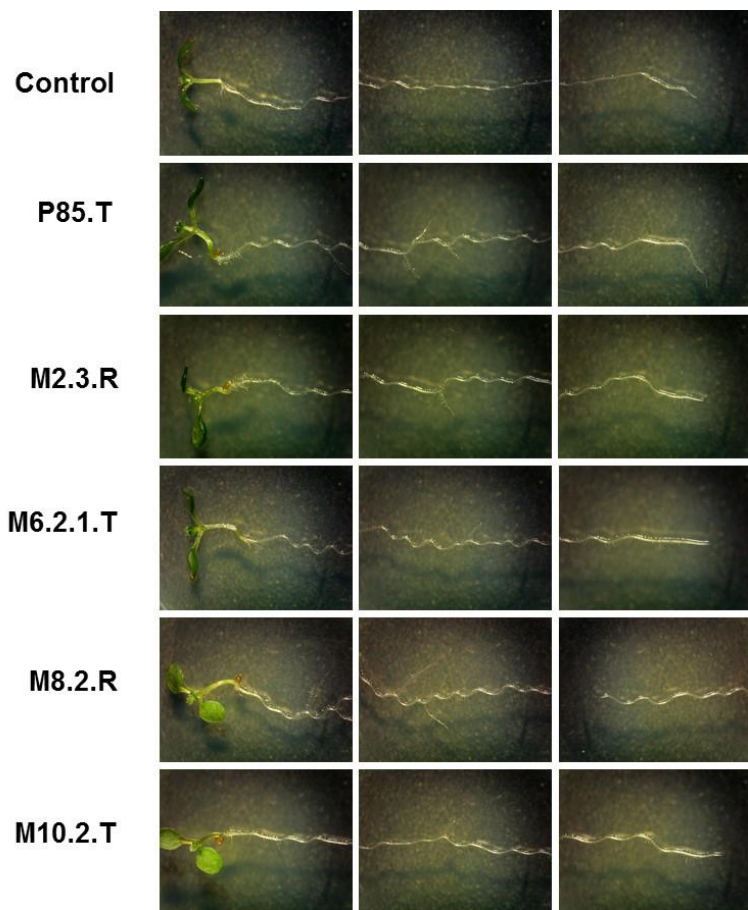


Figura 5. Análisis de la línea mutante *Rdh6* de *A. thaliana* en su interacción con las cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*. Control (plántulas sin inoculo) y las cepas P85.T (*Fusarium cf. graminearum*), M6.2.1.T (*Fusarium graminearum*), M2.3.R, M8.2.R y M10.2.T (*F. equiseti*). Fotografías de los pelos radiculares de *Arabidopsis thaliana* tomadas con un estereoscopio a los 5 dpi con las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*.

DISCUSIÓN

La agricultura es una de las actividades humanas más importantes para el desarrollo de las civilizaciones, el abastecimiento de alimentos para una población en constante aumento ha generado el uso intensivo de las tierras de cultivo para lograr dicho fin, por lo que, además, también se ha intensificado el uso excesivo de fertilizantes y pesticidas químicos para lograr mayores rendimientos agrícolas, sin embargo, esto trae graves consecuencias para el medio ambiente, contribuyendo a la contaminación del agua, a la degradación del suelo y la pérdida de la biodiversidad con riesgos para la salud humana (Tilman *et al.*, 2002; Bhardwaj *et al.*, 2014; Vejan *et al.*, 2016).

En este sentido, los esfuerzos se han canalizado en la búsqueda de estrategias más amigables con el medio ambiente. Una forma de desarrollar un método de producción de cultivos sostenible mejorado y avanzado es mejorar el microbioma benéfico asociado con las plantas (Trivedi *et al.*, 2017). Los microorganismos benéficos tienen la capacidad de aumentar el crecimiento y vigor de las plantas, la eficiencia en la absorción de nutrientes, tolerancia al estrés biótico y abiótico y la resistencia a

enfermedades. Dentro de esta gama de microorganismos promotores del crecimiento vegetal se encuentran las rizobacterias y los hongos (Glick, 2012; Vejan *et al.*, 2016).

Los hongos promotores de crecimiento vegetal más conocidos son las micorrizas que incluye a los Glomeromycota, además, también se ha informado la actividad de otros géneros como promotores del crecimiento vegetal como lo son algunas especies de *Trichoderma* (Schuster y Schmoll, 2010). Por otra parte, los hongos del género *Fusarium* se caracterizan por ser un grupo importante de patógenos de una gran diversidad de plantas y generadores de micotoxinas. Sin embargo, existen algunas cepas no patógenas con actividad benéfica, aunque el estilo de vida de estas especies se conoce muy poco (Summerell *et al.*, 2010).

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de promoción de crecimiento y desarrollo en plántulas de *Arabidopsis* inoculadas con las cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, en donde mostraron tener un efecto positivo en las plántulas que fueron inoculadas con las cepas de hongos comparadas con las plántulas control, en donde hubo un aumento en el desarrollo de las raíces secundarias, y en el peso fresco de

las plántulas, las cepas P85.T y M10.2.T mostraron mejores resultados, si comparamos con las otras dos cepas (M6.2.1.T y M8.2.R) y con las plántulas sin inocular. Además, otro dato que sugiere que las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*. tienen efectos positivos es la producción de la clorofila, en donde se observó que las plántulas inoculadas producen más clorofila indicando que no hay ningún daño en el aparato fotosintético de las plantas.

De manera similar Thongkamngam y Jaenaksorn (2017), evaluaron la promoción de crecimiento vegetal de una cepa de *Fusarium oxysporum* (F221-B) en plantas de lechuga en un sistema hidropónico, además, también observaron la actividad antagonica de esta cepa frente a hongos fitopatogénos del mismo género. De igual manera se ha reportado la efectividad como promotor de crecimiento vegetal a *Fusarium equiseti* en diversas plantas. Saldajeno y Hyakumachi (2011), informaron un mejoramiento en el crecimiento de las plantas de pepino (*Cucumis sativus L.*), después de la inoculación con *Fusarium equiseti*. Por otra parte, Šišić *et al.*, (2017), evaluaron la promoción de esta especie en plantas de guisante (*Pisum sativum L.*) y también observaron su actividad como agente de

biocontrol frente a *Fusarium avenaceum* y *Peyronellaea pinodella*.

Además, los resultados del desarrollo de las raíces secundarias y pelos radiculares de la línea mutante Rdh6 de *Arabidopsis* inoculadas con las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, se podría sugerir que este efecto está mediado por la hormona auxina, la más abundante en plantas es el ácido indolacético (IAA), la cual controla la regulación transcripcional de múltiples procesos incluidos el desarrollo y brote de raíces. Además, esta hormona no solo se encuentra en el reino vegetal, sino que también es sintetizada por microorganismos como bacterias y hongos (Tian-Qiong *et al.*, 2017).

Algunos de los mecanismos que se pueden sugerir del efecto de promoción de crecimiento de las plantas de *Arabidopsis thaliana* al ser inoculadas con las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, es la producción de metabolitos difusibles, compuestos orgánicos volátiles (VOC's), entre otros. Hasta el momento estudios informan que los hongos pueden promover el crecimiento vegetal sin establecer un contacto físico con la planta, y esto se debe a la emisión de compuestos orgánicos

volátiles (VOC's), los cuales participan en diversas funciones en las plantas como como por ejemplo inhibiendo el crecimiento primario de la raíz e induciendo la formación lateral de la raíz (Garnica-Vergara *et al.*, 2015). En el 2011, Minerdi *et al.*, informan una cepa de *Fusarium oxysporum* es capaz de mejorar el crecimiento vegetal de lechuga mediante la emisión de β -cariofileno, un sesquiterpeno volátil y este mismo compuesto volátil se encontró en cepas de *Fusarium oxysporum* con efectos similares en *Arabidopsis thaliana* (Bitas *et al.*, 2015). El efecto de los compuestos volátiles de otros hongos fitopatógenos con actividad promotora también se han informado en *Phoma* sp, *Alternaria alternata* y *Rhizoctonia solani* sobre el crecimiento del tabaco y *Arabidopsis thaliana* (Naznin *et al.*, 2013; Sánchez-López *et al* 2016; Cordovez *et al.*, 2017).

En el caso de los metabolitos secundarios por parte de los hongos, es la producción de hormonas como son las auxinas, giberelinas, citoquininas (Tudzynski y Höltner, 1998, Van Staden y Nicholson, 1989, Vrabka *et al.*, 2019), los cuales participan en la promoción de crecimiento vegetal.

Actualmente, se desconocen muchos aspectos de las especies de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, no patogénicas, de los cuales se demostró en este estudio que pueden ejercer de alguna manera efectos benéficos en el crecimiento y desarrollo de las plantas de *Arabidopsis thaliana*. Por lo tanto, es de suma importancia seguir investigando la capacidad de promoción de crecimiento y desarrollo de las cepas no patogénicas, ya que, a nivel agronómico, su aplicación podría aportar múltiples beneficios para cultivos de importancia económica, como es chile, frijol, jitomate, entre otros.

CONCLUSIONES

Se evaluó la capacidad de promoción de crecimiento y desarrollo de las cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, en plántulas de *Arabidopsis thaliana*, en donde se observó un aumento en el desarrollo de raíces secundarias, en el peso fresco y en la producción de clorofila de las plantas que fueron inoculadas con respecto a las plantas sin inocular (control).

Las cepas P85.T y M10.2.T, mostraron los mejores resultados de los parámetros vegetativos analizados.

El fenotipo de defecto en la generación de pelos radiculares de la línea mutante *Rhd6* de *Arabidopsis thaliana*, se revirtió con la interacción de las cinco cepas de *Fusarium equiseti* y *Fusarium graminearum*, indicando posiblemente la producción de auxinas y/o etileno por parte de éstas cepas.

LITERATURA CITADA

- Badri, D.V., Vivanco, J.M. 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant Cell Environ.* 32(6): 666–681
- Badri, D.V., Weir, T.L., van der Lelie, D., Vivanco, J.M. (2009). Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. *Curr Opin Biotechnol.* 20(6): 642–650.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 233–266.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science.* 17(8); 478-486.

- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., Tuteja, N. 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial cell factories*. 13: 66.
- Bhuvanewari, B., Reetha, S., Sivaranjani, R., Ramakrishnan, K. 2014. Effect of AM fungi and Trichoderma species as stimulations of growth and morphological character of chilli (*Capsicum annum. L*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(3): 447-455.
- Bitas, V., McCartney, N., Li, N., Demers, J., Kim, J-E., Kim, H-S., Brown, K.M. & Kang, S. (2015). *Fusarium Oxysporum* Volatiles Enhance Plant Growth Via Affecting Auxin Transport and Signaling. *Front. Microbiol.* 6:1248.
- Contreras-Cornejo, H.A., Macias-Rodriguez, L., del-Val, E., Larsen, J. (2016). Ecological functions of Trichoderma spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*. 92: 1–17.

- Cordovez, V., Mommer, L., Moisan, K., Lucas-Barbosa, D., Pierik, R., Mumm, R., Carrion, V.J. & Raaijmakers, J.M. (2017). Plant Phenotypic and Transcriptional Changes Induced by Volatiles from the Fungal Root Pathogen *Rhizoctonia solani*. *Front. Plant Sci.* 8:1262.
- Garnica-Vergara, A., Barrera-Ortiz, S., Muñoz-Parra, E., Raya-González, J., Méndez-Bravo, A., Macías-Rodríguez, L., Ruiz-Herrera, L. F. & López-Bucio, J. (2016). The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ETHYLENE INSENSITIVE 2 functioning. *New Phytologist.* 209(4);1496-1512
- Glick B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica. 1–15.
- Igiehon, N.O., Babalola, O.O. (2018). Below-ground-above-ground plant-microbial interactions: focusing on soybean, rhizobacteria and mycorrhizal fungi. *The open microbiology journal.* 12: 261–279.

- Lareen, A., Burton, F., Schäfer, P. (2016). Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes. *Plant molecular biology*. 90(6): 575–87.
- Minerdi, D., Bossi, S., Maffei, M.E., Gullino, M.L., Garibaldi, A. (2011). *Fusarium oxysporum* and its bacterial consortium promote lettuce growth and expansin A5 gene expression through microbial volatile organic compound (MVOC) emission. *FEMS Microbiol. Ecol.* 76: 342–351
- Mukherjee, M., Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., Zachow, C., Berg, G., Zeilinger, S. 2012. Trichoderma–plant–pathogen interactions: advances in genetics of biological control. *Indian Journal of Microbiology*. 52(4): 522–529.
- Naznin HA, Kimura M, Miyazawa M, Hyakumachi M (2013) Analysis of volatile organic compounds emitted by plant growth-promoting fungus *Phoma* sp. GS8-3 for growth promotion effects on tobacco. *Microbes Environ* 28:42–49
- Pieterse, C.M.J., van Pelt J.A., Verhagen, B.W.M., Ton, J., van Wees, S.C.M., Leon-Kloosterziel, K.M., van Loon, L.C. (2003). Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Symbiosis*. 35:39–54.

- Rillig, M.C., Aguilar-Trigueros, C.A., Bergmann, J., Verbruggen, E., Veresoglou, S.D., Lehmann, A. (2014). Plant root and mycorrhizal fungal traits for understanding soil aggregation. *New Phytologist*. 205: 1385–1388.
- Saldajeno, M.G.B., Hyakumachi, M. (2011). The plant growth-promoting fungus *Fusarium equiseti* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* stimulate plant growth and reduce severity of anthracnose and damping-off diseases in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings. *Annals of Applied Biology*. 159(1): 28–40.
- Sánchez-López, A. M., Bahaji, A., De Diego, N., Baslam, M., Li, J., Muñoz, F. J., Almagro, G., García-Gómez, P., Ameztoy, K., Ricarte-Bermejo, A., Novák, O., Humplík, J. F., Spíchal, L., Dolezal, K., Ciordia, S., Mena, M. C., Navajas, R., Baroja-Fernández, E., & Pozueta-Romero J. (2016). Arabidopsis Responds to *Alternaria alternata* Volatiles by Triggering Plastid Phosphoglucose Isomerase-Independent Mechanisms. *Plant Physiology*. 172; 1989–2001
- Schmidt, W. (2014). Root systems biology. *Front Plant Sci*. 5: 215.

- Schuster, A., Schmoll, M. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Applied microbiology and biotechnology. 87(3): 787–799.
- Šišić, A., Baćanović, J., Finckh, M.R. (2017). Endophytic *Fusarium equiseti* stimulates plant growth and reduces root rot disease of pea (*Pisum sativum* L.) caused by *Fusarium avenaceum* and *Peyronellaea pinodella*. Eur J Plant Pathol. 148(2): 271–282.
- Summerell, B., Laurence, M., Liew, E. & Leslie J. (2010). Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: a review. Fungal Diversity. 44, 3–13.
- Thongkamngam. T., and Jaenaksorn. T. (2017). *Fusarium oxysporum* (F221-B) as biocontrol agent against plant pathogenic fungi in vitro and in hydroponics. Plant Protect. Sci. 53(2): 85–95.
- Tian-Qiong, S., Hui, P., Si-Yu, Z., Rong-Yu, J., Kun, S., He, H. & Xiao-Jun, J. (2017). Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. Journal Bioengineered. 8(2);124-128.

- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*. 418: 671–677.
- Trivedi, P., Schenk, P.M., Wallenstein, M.D., Singh, B.K. 2017. Tiny microbes, big yields: enhancing food crop production with biological solutions. *Microbial biotechnology*. 10(5): 999–1003.
- Tudzynski B., Höltner K. (1998). Gibberellin biosynthetic pathway in *Gibberella fujikuroi*: evidence for a gene cluster. *Fungal Genet. Biol.* 25: 157–170.
- Turner, T.R., James, E.K & Poole, P.S. (2013). The plant microbiome. *Genome Biology*. 14(6): 1–10.
- Van Staden J., Nicholson R. I. D. (1989). Cytokinins and mango flower malformation II. the cytokinin complement produced by *Fusarium moniliforme* and the ability of the fungus to incorporate [8-14C] adenine into cytokinins. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 35: 423–431.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting

rhizobacteria in agricultural sustainability-a review. *Molecules*. 21(5): 573.

Vrabka, J., Niehaus, E. M., Münsterkötter, M., Proctor, R. H., Brown, D. W., Novák, O., Pěňčík, A., Tarkowská, D., Hromadová, K., Hradilová, M., Oklešť'ková, J., Oren-Young, L., Idan, Y., Sharon, A., Maymon, M., Elazar, M., Freeman, S., Güldener, U., Tudzynski, B., Galuszka, P., Bergougnoux, V. (2019). Production and role of hormones during interaction of *Fusarium* species with maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Frontiers in plant science*, 9, 1936.

Zhang, Z. and Huang, R. (2013). Analysis of Malondialdehyde, Chlorophyll Proline, Soluble Sugar, and Glutathione Content in *Arabidopsis* seedling. *Bio-protocol* 3(14): e817.

REVISIÓN TÉCNICA

Dr. Juan Luis Santos
Unidad Académica de Agronomía – UAZ

Dr. Manuel de Jesús Valenzuela Gurrola
Universidad Politécnica de Zacatecas – Fresnillo

DISEÑO DE PORTADA

Luis Roberto Reveles Torres

CÓDIGO INIFAP

MX-0-241709-44-02-11-09-104

COMISIÓN EDITORIAL DEL CEZAC

Presidente: Dra. Raquel K. Cruz Bravo
Secretario: MC. Ricardo A. Sánchez Gutiérrez
Vocal: Dr. Luis R. Reveles Torres
Vocal: Dr. Francisco Gpe. Echavarría Cháirez
Vocal: MC. Mayra Denise Herrera

El proceso editorial de esta publicación y el formato electrónico se terminó en DICIEMBRE de 2019 en el Campo Experimental Zacatecas, Km 24.5 Carretera Zacatecas-Fresnillo. CP. 98500, Calera de V. R., Zacatecas, México.
Tel. 01 800 088 2222 ext 82328

Este documento se encuentra en formato digital, mediante página internet en descargas ilimitadas

CAMPO EXPERIMENTAL ZACATECAS

DIRECTORIO

MC. Ricardo Alonso Sánchez Gutiérrez
Director de Coordinación y Vinculación

Dr.	Guillermo Medina García	Agrometeorología y Modelaje
Dra.	Nadiezhdá Y. Ramírez Cabral	Agrometeorología y Modelaje
Ing.	José Israel Casas Flores	Agrometeorología y Modelaje
Dr.	Alfonso Serna Pérez	Fertilidad de suelos y nutrición vegetal
Ing.	José Ángel Cid Ríos	Fríjol y Garbanzo
MC.	Juan José Figueroa González*	Fríjol y Garbanzo
MC.	Mayra Denise Herrera	Fríjol y Garbanzo
Dr.	Jorge A. Zegbe Domínguez	Frutales
MC	Valentín Melero Meraz	Frutales
Ing.	Manuel Reveles Hernández	Hortalizas
MC.	Miguel Servin Palestina*	Ingeniería de Riego
Dra.	Raquel Cruz Bravo	Inocuidad de Alimentos
MC	Enrique Medina Martínez	Maíz
MC.	Francisco A. Rubio Aguirre	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Ramón Gutiérrez Luna	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Ing.	Ricardo A. Sánchez Gutiérrez	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Luis Roberto Reveles Torres	Recursos Genéticos: Forestales, Agrícolas, Pecuarios y Microbianos
Dr.	Jaime Mena Covarrubias	Sanidad Forestal y Agrícola
Dr.	Rodolfo Velásquez Valle	Sanidad Forestal y Agrícola
Dra.	Blanca I. Sánchez Toledano	Socioeconomía

* Becarios



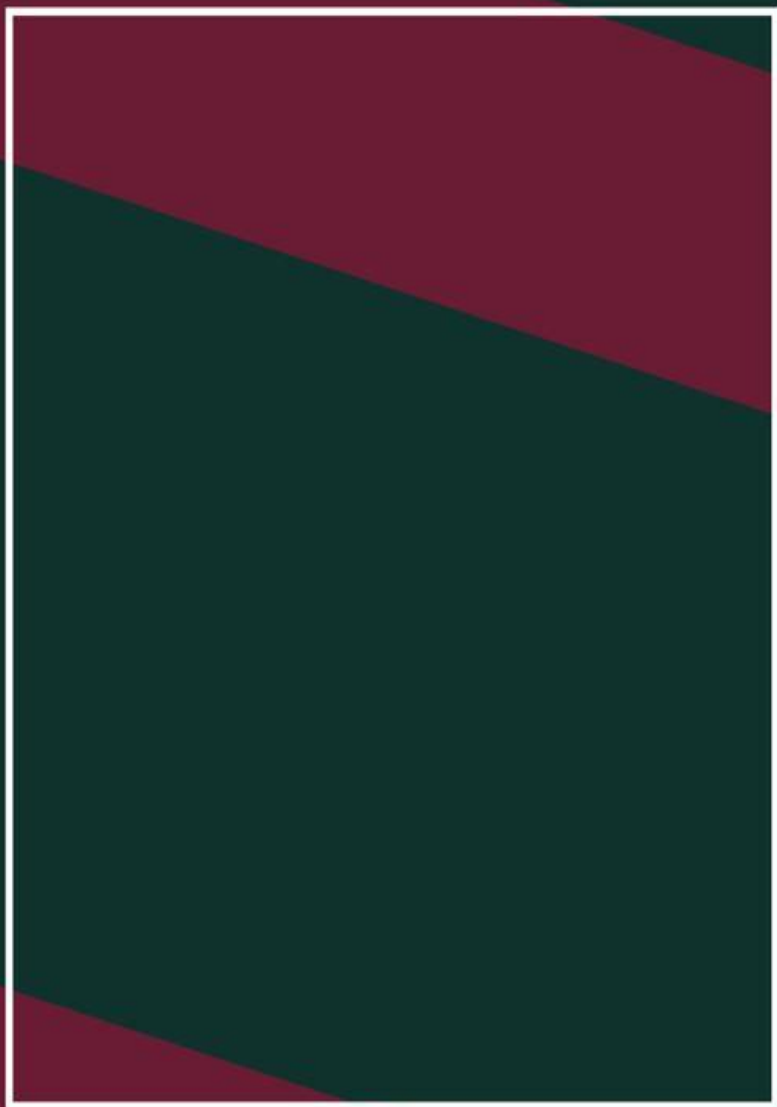
AGRICULTURA

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

inifap

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
FITOPATOLÓGICAS

www.gob.mx/inifap



 @inifapmx

 @inifap

 /INIFAP1

 @inifap