

Influencia de la temperatura en la infectividad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* en *Vanilla planifolia* y en híbridos *V. planifolia* x *V. pompona*

Influence of temperature on the infectivity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* in *Vanilla planifolia* and in hybrids *V. planifolia* x *V. pompona*

J.M. Barreda-Castillo¹, R.A. Menchaca-García¹, A. Pérez-Silva², N.G. Sánchez-Coello³ and M. Luna-Rodríguez^{3*}

¹ Centro de Investigaciones Tropicales, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

² Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico Nacional de México, Tuxtepec, Oaxaca, México.

³ Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

RESUMEN

Vanilla planifolia es la principal fuente vegetal de vainillina, saborizante de amplia importancia comercial. *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*, principal patógeno de *V. planifolia*, ha devastado cultivos enteros a nivel mundial. *Vanilla pompona* posee resistencia a patógenos comunes del género. Variaciones climáticas extremas repercuten en las interacciones planta-patógeno. A partir del supuesto de que temperaturas superiores a 28 °C intensifican la infectividad de *F. oxysporum* en vainilla, se determinó la influencia del incremento de la temperatura en la infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) en *V. planifolia* y dos híbridos de *V. planifolia* x *V. pompona*. Se inocularon raíces de esquejes de *V. planifolia* y de los híbridos con suspensiones de esporas del hongo. Se midió el avance de la enfermedad durante 60 días a 25, 30 y 35 °C. Se emplearon cinco réplicas por tratamiento, incluyendo un lote testigo. Se utilizó ANOVA *post hoc* Tukey ($P \leq 0.05$) para analizar los datos. *V. planifolia* fue susceptible a 35 °C y altamente susceptible a 25 y 30 °C. Ambos híbridos mostraron resistencia al patógeno en las temperaturas evaluadas. Por la resistencia mostrada, los híbridos de *V. planifolia* x *V. pompona* son una alternativa viable ante el patógeno.

Palabras clave: Vainilla, pudrición de raíz y tallo, vigor híbrido, cambio climático.

ABSTRACT

Vanilla planifolia is the main vegetable source of vanillin, a flavoring of wide commercial importance. *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*, the main *V. planifolia* pathogen, has devastated whole crops worldwide. *Vanilla pompona* possesses resistance to common genus pathogens. Extreme climatic variations affect the plant-pathogen interactions. Based on the assumption that temperatures above 28 °C will intensify the infectivity of *F. oxysporum* in vanilla, we determined the influence of the increase in temperature on the infectivity of *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (strain M21C5) in *V. planifolia* and two hybrids of *V. planifolia* x *V. pompona*. Root cuttings from hybrids 1 and 2 (*V. pompona* x *V. planifolia*) and *V. planifolia* were inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* spore suspensions. Disease progression was measured for 60 days at 25, 30 and 35 °C. Five replicates per treatment were used,

including a control group. ANOVA *post hoc* Tukey test ($P \leq 0.05$) was used for data analysis. *V. planifolia* was susceptible at 35 °C and highly susceptible at 25 and 30 °C. Both hybrids were resistant to the pathogen at the evaluated temperatures. Due to the resistance, it was shown that *V. planifolia* x *V. pompona* hybrids are a viable alternative to the pathogen.

keywords: Vanilla, root and stem rot, hybrid vigor, climate change.

INTRODUCCIÓN

La vainilla es una orquídea originaria de México y de ella se obtiene la vainillina, uno de los productos aromáticos más demandados a nivel mundial que se obtiene de las vainas de vainilla mediante un proceso de extracción con alcohol etílico (Mendoza Sánchez *et al.*, 2021). Las especies de vainilla de mayor importancia en el mercado son *Vanilla planifolia* y *Vanilla pompona*. El 95 % de la vainilla comercializada en el mundo corresponde a *V. planifolia* (Bory *et al.*, 2008). *V. pompona* es de menor uso, casi restringido a la perfumería, pero cuenta con la característica de ser una de las especies del género más resistente a patógenos y cambios ambientales (Soto-Arenas y Solano-Gómez, 2007; Sinha *et al.*, 2008). Entre 2019 y 2020, Madagascar, Indonesia y México generaron el 77.2 % (5739 t) de la vainilla que se produjo en el mundo (FAO, 2022). Por su parte, Estados Unidos, Francia y Alemania juntos representan alrededor del 80 % del comercio mundial de vainilla (Businesscoot, 2022).

Todas las especies de plantas cultivadas tienen desafíos de enfermedades. La vainilla se propaga fácilmente por esquejes y es genéticamente uniforme en todas las áreas de producción, no obstante, este método no garantiza la calidad de las nuevas plantaciones (Carranza-Álvarez *et al.*, 2021). La propagación vegetativa facilita la transmisión de enfermedades (Chambers, 2019). *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*, patógeno fúngico más dañino de la vainilla, ha causado la pérdida de cultivos enteros en países como Puerto Rico y Costa Rica (Bayman, 2019; Varela-Quirós, 2019). Una vez que el hongo penetra a la planta por la raíz, los síntomas inician con lesiones de color café, seguido de ennegrecimiento y desecación del tejido, causando posteriormente la pudrición de la base del tallo, lo que conlleva a la pérdida de hojas, afec-

*Autor para correspondencia: Mauricio Luna Rodríguez

Correo electrónico: mluna@uv.mx

Recibido: 20 de abril de 2022

Aceptado: 25 de octubre de 2022

tando la floración y eventualmente, la muerte de la planta (Hernández-Hernández, 2011).

El desarrollo de híbridos de vainilla genera plantas resistentes a sequías, a cambios ambientales bruscos o a los patógenos, ya que los híbridos suelen tener mejores características que los organismos parentales (vigor híbrido), con lo cual se producen genotipos con menores necesidades culturales, como la aplicación de agroquímicos en beneficio hacia un cultivo orgánico (Lippman y Zamir, 2006; Paniagua-Vásquez *et al.*, 2013).

En el presente trabajo se propuso determinar la influencia de la temperatura en el grado de patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* en *V. planifolia* y sus híbridos con *V. pompona*, en busca de contestar la interrogante a los escenarios fitosanitarios que podrían generarse para el cultivo, a partir de los cambios en la temperatura de los agrosistemas en consecuencia del cambio climático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

El material de *V. planifolia* y de los híbridos fue donado del acervo de vainillas que resguarda el orquidario CITRO, en Xalapa, Veracruz, México. Los híbridos *V. planifolia* x *V. pompona* (híbrido 1) y *V. pompona* x *V. planifolia* (híbrido 2) corresponden a individuos adultos de 10 años generados en la investigación doctoral de Rebeca Menchaca-García en 2012. Se descartó el uso de *V. pompona* en el experimento debido a su baja capacidad de enraizamiento en las condiciones experimentales empleadas. La cepa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* M21C5 pertenece a la colección del Laboratorio de Genética e Interacciones Planta Microorganismos de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana, Veracruz.

Enraizamiento de esquejes

Para inducir la generación de raíces en los esquejes se empleó el método propuesto por Solano-de la Cruz *et al.* (2019). Los bejucos de *V. planifolia* y de los híbridos fueron previamente sanitizados externamente mediante lavados con solución de detergente líquido de uso doméstico por 10 minutos y enjuagados con agua esterilizada, posteriormente, se sumergieron en solución de cloro comercial (10 gotas/L) durante 5 min y se enjuagaron con agua destilada esterilizada. Para obtener los esquejes se cortaron los tallos bajo condiciones de asepsia en campana de flujo laminar. Cada esqueje consistió en una fracción del tallo de vainilla de apariencia sana, con dos nudos de longitud (aproximadamente 30 cm) y dos hojas. Cada esqueje se colocó en cámara húmeda elaborada con charola de unicel con papel absorbente previamente esterilizado, humedecido con agua destilada esterilizada y se cubrió con polipropileno para evitar la desecación. Las charolas con los esquejes se mantuvieron en oscuridad a 25 ± 2 °C, con humedad relativa de 90 – 100 % durante 40 d. Se adicionó musgo *Sphagnum* como sustrato para mantener humedad según lo propuesto por Koyyappurath *et al.* (2016).

Pruebas de patogenicidad

Bajo condiciones de asepsia en campana de flujo laminar (ECOSHEL-CV1) se realizó una incisión menor a un centímetro en la zona apical de la raíz del esqueje, donde se inoculó un fragmento de aproximadamente 5 mm de diámetro de medio PDA con micelio de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) de siete días de desarrollo. Después de la inoculación del patógeno las cámaras húmedas se colocaron en incubadoras microbiológicas (FELISA) a 25, 30 y 35 °C \pm 1 °C durante 60 d. Los esquejes se hidrataron dos veces por semana adicionando 15 mL de agua destilada esterilizada a la charola; cada charola se mantuvo cubierta con una película de polipropileno. Los grupos testigos consistieron en esquejes no inoculados con el patógeno. Se emplearon cinco esquejes por cada grupo experimental y grupos testigos.

Para evaluar el grado de infectividad se midió el porcentaje de raíz afectada por el patógeno, siendo esta la relación entre el área afectada y el área total de la raíz. Se consideró como afectación la presencia de síntomas típicos de esta enfermedad. Para su evaluación se empleó el análisis de imagen digital mediante el software ImageJ 1.8.0. (Schneider *et al.*, 2012) a partir de registros fotográficos del avance del síntoma causado por el hongo, tres veces por semana durante 60 días.

Para determinar el grado de infección en los esquejes se utilizó la escala descrita por Koyyappurath *et al.* (2016) y modificada por Grisoni, Com. pers. (02 de noviembre 2018) (Tabla 1). A partir del grado de infectividad del patógeno se infirió el grado de resistencia de la vainilla al patógeno como se indica en la Tabla 1.

Influencia de la temperatura en la infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*

Se establecieron 25, 30 y 35 °C para determinar la influencia de la temperatura en la capacidad infectiva del hongo con base en las investigaciones que se detallan a continuación. Se estableció 25 °C, por ser la temperatura óptima de crecimiento para el patógeno de acuerdo con Ramos-Quintana *et al.* (2017), 30 °C por ser la temperatura promedio que se alcanza en un vainillar durante los meses cálidos de las zonas de cultivo (Hernández-Hernández, 2011) y 35 °C para simular el posible aumento de temperatura debido al cambio climático (Tejeda-Martínez y Rodríguez-Viqueira, 2006). Para simular los ambientes térmicos se utilizaron estufas de incubación microbiológicas verificadas con termómetro de mercurio.

Tabla 1. Correspondencia del grado de resistencia de *Vanilla* sp. con el grado de infectividad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*.

Table 1. Correspondence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* degree of infectivity with the *Vanilla* sp degree of resistance.

% raíz dañada	Grado de infectividad de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vanillae</i>	Grado de resistencia de <i>Vanilla</i> sp.
0 - 10	No infectivo	Altamente resistente
10 - 22	Ligeramente infectivo	Ligeramente resistente
22 - 82	Infectivo	Susceptible
82 - 100	Altamente infectivo	Altamente susceptible

Análisis estadísticos

Se utilizó un diseño factorial completamente al azar. Para las pruebas de patogenicidad se utilizó la prueba análisis de varianza (ANOVA) *post hoc* Tukey ($P \leq 0.05$) para determinar diferencias estadísticas entre *V. planifolia* y los organismos híbridos. Esto fue realizado para cada una de las tres temperaturas utilizadas en el presente estudio. Para determinar la influencia de la temperatura en la infectividad se utilizó la prueba ANOVA de dos vías ($P \leq 0.05$). Los porcentajes de raíz infectada fueron previamente transformados para ajustarse a los supuestos estadísticos necesarios mediante la función arcoseno. Las pruebas estadísticas se realizaron con el paquete *Rmisc* (Hope, 2013) y *agricolae* (Mendiburu, 2019) del software R versión 3.6.0. Se empleó el software R y el paquete *ggplot2* para la obtención de los gráficos (Wickham, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas de patogenicidad

Infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* a 25 °C

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$) respecto al daño causado por el hongo a 25 °C entre *V. planifolia* y los híbridos (Tabla 2). Se observó un cambio notorio en la coloración de la raíz de *V. planifolia* y síntomas de pudrición a partir del día siete después de la inoculación por *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*. En comparación, ambos híbridos solo presentaron un ligero cambio de coloración en la zona donde se inoculó el hongo. Para el día 17 se observó un avance del daño del 50 % de las raíces en *V. planifolia*, en tanto que, en ambos híbridos el daño estuvo restringido a la zona de inoculación (Figura 1). A los 60 d del experimento, *V. planifolia* fue la más afectada al presentar todos sus individuos muertos a causa del hongo, mientras que ambos híbridos presentaron lesiones menores al final de la prueba. No se observaron cambios en las plantas de los grupos testigo. A partir del grado de infectividad se infirió que *V. planifolia* fue altamente susceptible al patógeno, a diferencia con ambos híbridos que mostraron ser ligeramente resistentes (Tabla 3).

Infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* a 30 °C

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$) respecto al daño causado por el hongo a 30 °C entre *V. planifolia* y los híbridos (Tabla 4). *V. planifolia*, a

Tabla 2. Infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) en *Vanilla planifolia* y los híbridos 1 y 2 (*Vanilla planifolia* x *Vanilla pompona*) a 25 °C.
Table 2. *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (strain M21C5) infectivity in *Vanilla planifolia* and hybrids 1 and 2 (*Vanilla planifolia* x *Vanilla pompona*) at 25 °C.

Variable	Df	F	Valor de P
Día	21	10.18	< 0.01
Vainilla	4	167.611	< 0.01
Post hoc Tukey			
Comparación	Valor de P	Comparación	Valor de P
Híbrido 1 vs híbrido 2	0.63	Testigo vs híbrido 1	< 0.01
Híbrido 1 vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01	Testigo vs híbrido 2	< 0.01
Híbrido 2 vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01	Testigo vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01

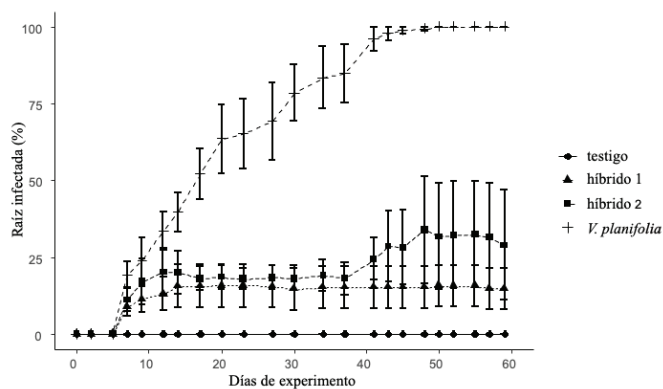


Figura 1. Daño a raíces de vainilla debido a infección por *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) a 25 °C, durante los 60 d de prueba.
Figure 1. Damage to vanilla roots due to *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (M21C5 strain) infection at 25 °C, during the 60 d of testing.

Tabla 3. Correspondencia del grado de infectividad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) y del grado de resistencia de *Vanilla* a 25 °C.

Table 3. Correspondence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* degree of infectivity with the *Vanilla* sp. degree of resistance at 25 °C.

Organismo	Porcentaje raíz dañada	Grado de infectividad de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vanillae</i>	Grado de resistencia de <i>Vanilla</i>
z	100 ± 0	Altamente infectivo	Altamente susceptible
Híbrido 1	14.844 ± 6.721	Ligeramente infectivo	Ligeramente resistente
Híbrido 2	28.902 ± 17.922	Ligeramente infectivo a infectivo	Ligeramente resistente a susceptible
Grupos testigo	0	-	-

Tabla 4. Infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) en *Vanilla planifolia* y los híbridos 1 y 2 (*Vanilla planifolia* x *Vanilla pompona*) a 30 °C.

Table 4. *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (strain M21C5) infectivity of in *Vanilla planifolia* and hybrids 1 and 2 (*Vanilla planifolia* x *Vanilla pompona*) at 30 °C.

Variable	Df	F	Valor de P
Día	21	8.187	< 0.01
Vainilla	4	369.367	< 0.01
Post hoc Tukey			
Comparación	Valor de P	Comparación	Valor de P
Híbrido 1 vs híbrido 2	0.32	Testigo vs híbrido 1	< 0.01
Híbrido 1 vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01	Testigo vs híbrido 2	< 0.01
Híbrido 2 vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01	Testigo vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01

diferencia de los híbridos, presentó daños más severos desde el día siete después de la inoculación del patógeno (Figura 2), la pudrición total de la raíz en todos los individuos a los 37 d y la muerte de todas las plantas a los 60 d, demostrando ser altamente susceptible a esta temperatura (Tabla 5). Ambos híbridos presentaron alta resistencia al patógeno (Tabla 5), dado que al final de la prueba, las plantas solo mostraron la muerte de tejido en la zona donde se inoculó el hongo. Se observó estrangulamiento del tejido, como una forma de restringir el avance de la enfermedad al resto de la planta (Figura 3).

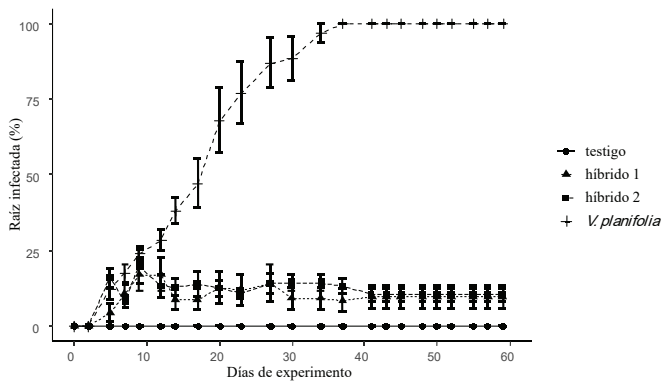


Figura 2. Daño a raíces de vainilla debido a infección por *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) a 30 °C, durante los 60 d de prueba.

Figure 2. Damage to vanilla roots due to infection by *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (M21C5 strain) at 30 °C, during the 60 d of testing.

Tabla 5. Correspondencia del grado de infectividad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) y del grado de resistencia de *Vanilla* sp. a 30 °C.

Table 5. Correspondence of the degree of infectivity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* with the degree of resistance of *Vanilla* sp. at 30 °C.

Organismo	Porcentaje raíz dañada	Grado de infectividad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vanillae</i>	Grado de resistencia de <i>Vanilla</i>
<i>V. planifolia</i>	100 ± 0	Altamente infectivo	Altamente susceptible
Híbrido 1	9.616 ± 3.713	No infectivo a ligeramente infectivo	Altamente resistente a ligeramente resistente
Híbrido 2	10.31 ± 2.145	No infectivo a ligeramente infectivo	Altamente resistente a ligeramente resistente
Grupos testigo	0	-	-



Figura 3. Aspecto del daño causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* en raíz de *Vanilla planifolia* a los 17 d después de la inoculación a 25 y 30 °C (imagen izquierda); en los híbridos 1 (*V. planifolia* x *V. pompona*) y 2 (*V. pompona* x *V. planifolia*) a los 60 d después de la inoculación, incubados a 35 °C (imagen central y derecha).

Figure 3. Appearance of the damage caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* in *Vanilla planifolia* root at 17 d after inoculation at 25 and 30 °C (left image); in hybrids 1 (*V. planifolia* x *V. pompona*) and 2 (*V. pompona* x *V. planifolia*) at 60 d after inoculation, incubated at 35 °C (center and right image).

Infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* a 35 °C

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$) respecto al daño causado por el hongo a 35 °C entre *V. planifolia* y los híbridos, y entre el híbrido 1 y el híbrido 2 (Tabla 6). *V. planifolia* presentó daño en la raíz desde el segundo día después de la inoculación haciéndose más evidente al quinto día (Figura 4), mientras que para los organismos híbridos el daño se evidenció en el día cinco. *V. planifolia* presentó mayor infectividad del patógeno por lo que fue más susceptible a lo largo del experimento, en contraste con los híbridos (Tabla 7), pero en menor magnitud en comparación con la alta infectividad mostrada a temperaturas de 25 y 30 °C. El híbrido 1 presentó ligeramente mayor avance del patógeno en comparación con el híbrido 2 (Figura 4). Al igual que a 30 °C, ambos híbridos generaron un área de estrangulamiento de la raíz próxima a la zona de inoculación del patógeno (Figura 3). El híbrido 2 generó esta respuesta desde el noveno día, en tanto que el híbrido 1 la desarrolló a los 17 d.

Influencia de la temperatura en la infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para cada tipo de vainilla bajo estudio ($P < 0.01$, D.F. = 6, $F = 37.038$). Las plantas de *V. planifolia* tuvieron el 100 % de raíces infectadas por el hongo a 25 y 30 °C, y murieron durante el transcurso del experimento; esta respuesta no

Tabla 6. Infectividad de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) en *Vanilla planifolia* y los híbridos 1 y 2 (*Vanilla planifolia* x *Vanilla pompona*) a 35 °C.

Table 6. Infectivity of *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (strain M21C5) in *Vanilla planifolia* and hybrids 1 and 2 (*Vanilla planifolia* x *Vanilla pompona*) at 35 °C.

Variable	Df	F	Valor de p
Día	21	8.144	< 0.01
Vainilla	4	381.799	< 0.01
Post hoc Tukey			
Comparación	Valor de p	Comparación	Valor de p
Híbrido 1 vs híbrido 2	< 0.01	Testigo vs híbrido 1	< 0.01
Híbrido 1 vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01	Testigo vs híbrido 2	< 0.01
Híbrido 2 vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01	Testigo vs <i>V. planifolia</i>	< 0.01

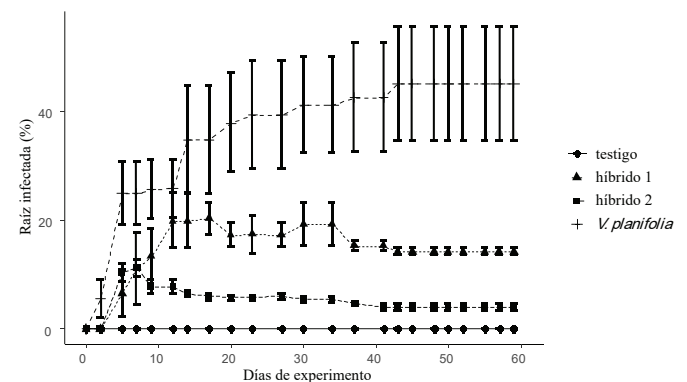


Figura 4. Porcentaje de daño a raíces de vainilla debido a infección por *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) a 35 °C, durante los 60 d de prueba.

Figure 4. Damage to vanilla roots due to infection by *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (M21C5 strain) at 35 °C, during the 60 d of testing.

Tabla 7. Correspondencia del grado de infectividad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) y del grado de resistencia de *Vanilla* sp. a 35 °C.**Table 7.** Correspondence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* degree of infectivity with the *Vanilla* sp. degree of resistance at 35 °C.

Organismo	Porcentaje de raíz dañada	Grado de infectividad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vanillae</i>	Grado de resistencia de <i>vanilla</i> sp.
<i>V. planifolia</i>	45.139 ± 10.473	Infectivo	Susceptible
Híbrido 1	14.231 ± 0.558	Ligeramente infectivo	Ligeramente resistente
Híbrido 2	3.96 ± 0.796	No infectivo	Altamente resistente
Grupos testigo	0	-	-

ocurrió a 35 °C, donde la enfermedad no logró desarrollarse más del 50 % de las raíces (Figura 5). Para el híbrido 1, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, aun cuando a 30 °C hubo menor evidencia de la enfermedad. De igual manera, para el híbrido 2 a 35 °C no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, el daño de la raíz fue más evidente a 25 °C.

En resumen, *Vanilla planifolia* presentó alto grado de susceptibilidad ante *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*, en tanto que, los híbridos fueron resistentes, independientemente de la temperatura evaluada. Se ha reportado que *V. planifolia* no presenta resistencia ante este patógeno (Irvine *et al.*, 1964; Alconero, 1968) y que *V. pompona* es resistente, por lo que se ha planteado que organismos híbridos entre estas especies deberán heredar esta cualidad (Ploetz, 2006; Koyyappurath *et al.*, 2015; 2016). Los resultados confirman que la resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* se hereda en los híbridos de *V. planifolia* x *V. pompona*, sin importar si *V. planifolia* es la receptora o donadora del polen. Se sabe que *V. pompona* posee grandes depósitos de lignina en las células de las raíces, propiedad básica a la que se atribuye la resistencia al funcionar como una barrera que imposibilita el avance del hongo (Prell y Day, 2001; Koyyappurath *et al.*, 2016), esto puede expresarse también en los híbridos.

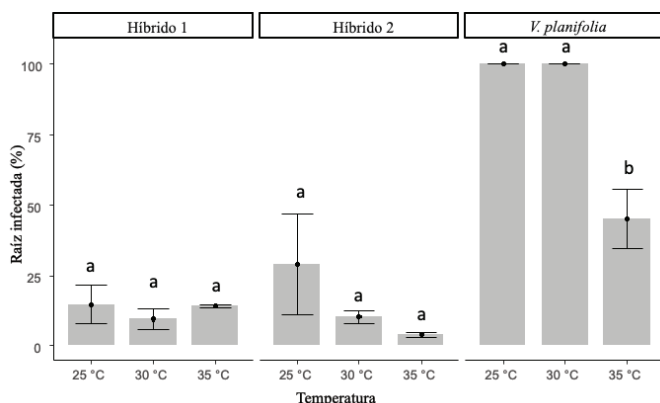
**Figura 5.** Daño de la raíz de vainilla causado por la infección de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (cepa M21C5) a 25, 30 y 35 °C. Los individuos de los grupos testigo para cada tratamiento no presentaron daño.

Figure 5. Vanilla root damage caused by *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* (strain M21C5) at 25, 30 and 35 °C. The individuals of the control groups for each treatment did not present damage.

Belanger y Havkin-Frenkel (2019) señalan que los híbridos de *V. planifolia* con especies de vainilla resistentes a este hongo, como *V. aphylla*, *V. pompona* o *V. phaeantha*, heredan la característica de resistencia y hacen énfasis en el híbrido *Vanilla* cv. Vaitsey (*V. planifolia* x *V. pompona* x *V. planifolia*), del cual mencionan, es sumamente resistente al patógeno y genera idioblastos en las raíces para dificultar el avance del hongo. Los idioblastos son células distintas al tejido del que forman parte, por su función secretora poseen amplia variedad de sustancias: aceites, resinas, mucílago, gomas, taninos, cristales. Idioblastos que acumulan taninos (células taníferas) se encuentran en todos los órganos vegetales, variando la cantidad de tanino producido y acumulado, según la especie. Los taninos son compuestos fenólicos astringentes que sirven como defensa del ataque de hongos, otros patógenos y parásitos.

La formación de idioblastos con cristales de rafuro de oxalato de calcio han sido reportados en las raíces adventicias de *V. planifolia* (Kausch y Homer, 1983), sin embargo, su formación ha sido relacionada con el crecimiento y desarrollo de las plantas incluyendo la regulación de calcio de alta capacidad, la protección contra herbivoría y la tolerancia a metales pesados, no así como defensa ante microorganismos, lo cual podría estar confirmándose en el presente estudio. Otros idioblastos que se han relacionado con función importante en la defensa de la planta ante insectos y microorganismos son las células de mirosina, que poseen la enzima mirosinasa responsable de la generación de productos tóxicos que contienen nitritos (Evert, 2008), no obstante, no hay estudios que evidencien la existencia de estas estructuras en vainilla.

En cuanto al efecto de la temperatura en la capacidad infectiva de *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* se observó que a 25 y 30 °C, el patógeno ocasionó la muerte de todas las plantas de *V. planifolia*, por lo cual, se remarca que la especie es altamente susceptible (Irvine *et al.*, 1964; Alconero, 1968) y no obstante que ninguno de los individuos híbridos murió, el hongo si tuvo capacidad infectiva a 25 °C sobre estos y, esta disminuyó conforme se incrementó la temperatura. Se ha indicado que *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* presenta buen desarrollo en el intervalo de temperatura entre 23 y 28 °C con un óptimo a los 25 °C, incluso ha mostrado capacidad para desarrollarse a 32 °C (Gandara *et al.*, 2010; Benaouali *et al.*, 2014); a temperaturas más altas el hongo se ve inhibido y se ha propuesto que hay menor probabilidad de que mantenga la capacidad de causar enfermedad (Agrios, 2010; Ramos-Quintana *et al.*, 2017), no obstante, los resultados evidenciaron que el patógeno causó daño hasta del 50 % de la raíz de *V. planifolia* a 35 °C y permite proponer que, si bien, el patógeno no causó la muerte de las plantas, en condiciones de cultivo traería consecuencias en el desarrollo de ésta, debido a la mala absorción de nutrientes.

Si bien, por las características propias de la familia Orchidaceae, *V. planifolia* logra sobrevivir en primera instancia, generando nuevas raíces en su condición de sobrevivencia, una vez que sus raíces son dañadas por el primer ataque del patógeno; a mediano plazo, este esfuerzo trae consecuencias

fisiológicas en la planta llevándola a la muerte, debido a que las nuevas raíces se encontrarán nuevamente con el patógeno que permanece en el sustrato.

En las orquídeas, donde la planta sostiene importantes relaciones simbióticas mutualistas benéficas con hongos micorrizógenos resulta desacertado combatir enfermedades fúngicas de raíz por métodos químicos, por lo que una opción sería desarrollar variedades resistentes o tolerantes. En los programas de mejora de la vainilla, se ha puesto la mirada en *V. pompona*, que es una planta xerófila que logra sobrevivir entre 13 a 30 °C ante precipitaciones bajas, lográndose encontrar poblaciones espontáneas en zonas secas (Soto-Arenas y Dressler, 2009; Flores-Jiménez *et al.*, 2016); cualidad que significa un elemento favorable ante un posible escenario por el incremento de la temperatura en las zonas de cultivo, en consecuencia del cambio climático, dado que *V. planifolia* a temperaturas mayores de 32 °C presenta amarillamiento, pérdida de viabilidad de polen y caída de frutos (Hernández-Hernández, 2011; INIFAP, 2016).

CONCLUSIONES

Se constató la alta susceptibilidad de *V. planifolia* a *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* a temperaturas desde 25 a 35 °C, por lo que se considera que son las características genéticas de la especie y el manejo del cultivo, y no la temperatura, el factor influyente sobre el desarrollo de la enfermedad en las zonas usuales de cultivo. Los híbridos de *V. planifolia* x *V. pompona* fueron resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* sin importar que especie parental fue donador o receptor del polen y por tanto, son una alternativa viable que marca la pauta para programas de mejoramiento genético de la vainilla bajo el planteamiento de nuevas líneas de investigación que atiendan, además de la resistencia a patógenos, diversos aspectos de importancia agrícola encaminados a mantener o mejorar el rendimiento de los cultivos, con miras a satisfacer la demanda de vainilla en el mercado mundial ante un escenario cambiante.

AGRADECIMIENTOS

Al Conacyt por el financiamiento otorgado al proyecto número 29748 "Estrategias para la adaptación y mitigación al cambio climático necesarias para el rescate del cultivo de la vainilla en México".

REFERENCIAS

- Agrios, G. N. 2010. Fitopatología. 5th ed. Limusa. USA.
- Alconero, R. 1968. Infection and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* in *Vanilla* roots. *Phytopathology*. 58: 1281-1283.
- Bayman, P. 2019. The History of Vanilla in Puerto Rico: Diversity, Rise, Fall, and Future Prospects. En: *Handbook of Vanilla Science and Technology*. Havkin-Frenkel D. and Belanger F. (ed). p 111. Wiley-Blackwell. England. <https://doi.org/10.1002/9781119377320.ch7>
- Belanger, F. y Havkin-Frenkel, D. 2019. Molecular analysis of a vanilla hybrid cultivated in Costa Rica. En: *Handbook of Vanilla Science and Technology*. Havkin-Frenkel D. and Belanger F. (ed). p 391. Wiley-Blackwell. England. <https://doi.org/10.1002/9781444329353.ch15>
- Benaouali, H., Hamini, N., Bouras, A., Benichou, S.L., Kihal, M. y Henni, J. 2014. Isolation, pathogenicity test and physicochemical studies of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. *Advances in Environmental Biology*. 8: 36-49. https://www.researchgate.net/publication/280445975_Isolation_pathogenicity_test_and_physicochemical_studies_of_Fusarium_oxysporum_fsp_radicis_lycopersici
- Bory, S., Grisoni, M., Duval, M.F. y Besse, P. 2008. Biodiversity and preservation of Vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 55(4): 551-571.
- Businesscoot. The Vanilla Market / United States. [Consultado 12 de junio 2022] 2022. Disponible en: <https://www.businesscoot.com/en/study/the-vanilla-market-united-states>
- Carranza-Álvarez, C., Trinidad-García, K.L., Reyes-Hernández, H., Castillo-Pérez, L.J. y Fortanelli-Martínez, J. 2021. Efecto de extractos orgánicos naturales sobre la micropropagación de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews (Orchidaceae). *Biotecnia*. 23(1): 5-12. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i1.805>
- Chambers, A.H. 2019. Vanilla (*Vanilla* spp.) Breeding. En: *Advances in plant breeding strategies: Industrial and food crops*. Al-Khayri J.M., Mohan J.S., Johnson D.V. (ed). p 744. Springer. Suiza. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-23265-8>
- Evert, R.F. 2008. *Esau Anatomía Vegetal*. Ediciones Omega. España.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). FAOSTAT: Crops and livestock products [Consultado 12 de junio 2022] 2022. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- Flores-Jiménez, A., Reyes-López, D., Jiménez-García, D., Romero-Arenas, O., Rivera-Tapia, J.A., Huerta-Lara, J.A. y Pérez-Silva, A. 2016. Diversidad de *Vanilla spp* (Orchidaceae) y sus perfiles bioclimáticos en México. *Revista de Biología Tropical*. 65: 975-987. <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i3.29438>
- Gandara, B., Saifulla, R. y Basavaraja, M.K. 2010. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*, the causal agent of stem rot of *Vanilla* in vitro. *International Journal of Science and Nature*. 1: 259-261.
- Hernández-Hernández, J. 2011. Vanilla diseases. En: *Handbook of Vanilla Science and Technology*. Havkin-Frenkel D. and Belanger F. (ed). p 27. Wiley-Blackwell. England. <https://doi.org/10.1002/9781444329353.ch2>
- Hope, R. 2013. Rmisc: Ryan Miscellaneous. [Consultado 8 Septiembre 2019]. Disponible en: <https://CRAN.R-project.org/package=Rmisc>
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2016. Paquete tecnológico para cultivar vainilla en San Luis Potosí. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Noreste, México.
- Irvine, J., Theis, T., Jimenez, F.A. y Freyre, R.H. 1964. Techniques for evaluating reactions of *Vanilla* to *Fusarium* root rot. *Phytopathology*. 54: 827-831.
- Kausch, A.P. y Homer, H.T. 1983. Development of syncytial raphide crystal idioblasts in the cortex of adventitious roots of *Vanilla planifolia* L. (Orchidaceae). Tesis de Doctorado. Iowa State University. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8205637>

- Koyyappurath, S., Atuahiva, T., Le Guen, R., Batina, H., Le Squin, S., Gautheron, N., Hermann, V., Peribe, J., Jahiel, M., Steinberg, C., Liew, E., Alabouvette, C., Besse, P., Dron, M., Sache, I., Laval, V. y Grisoni, M. 2016. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* is the causal agent of root and stem rot of *Vanilla*. *Plant Pathology*. 65:612-625. <https://doi.org/10.1111/ppa.12445>
- Koyyappurath, S., Conejero, G., Dijoix, J., Lapeyre, F., Jade, K., Chiroleu, F., Gatineau, J., Besse, P. y Grisoni, M. 2015. Differential responses of *Vanilla* accessions to root rot and colonization by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae*. *Frontiers in Plant Science*. 6: 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01125>
- Lippman, Z. y Zamir, D. 2006. Heterosis revisiting the magic. *Genetics*. 23:60-66. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2006.12.006>
- Menchaca-García, R.A. 2012. Germinación *in vitro* de híbridos de *Vanilla planifolia* y *V. pompona*. Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones Tropicales, Veracruz. <https://www.uv.mx/det/files/2012/06/MenchacaGarciaRebecaAlicia.pdf>
- Mendiburu, F. 2019. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. [Consultado 8 Septiembre 2019] Disponible en: <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>
- Mendoza Sánchez, L.G., Rodríguez España, L., Martínez Rodríguez, J., García Galindo, H.S., De la Cruz Medina, J., Cano Sarmiento, C. y Monroy Rivera, J.A. 2021. Evaluación del desarrollo y la estabilidad de una nanoemulsión de vainilla (*Vanilla planifolia*) a partir de un extracto no alcohólico. *Biotecnia*. 23(3): 22-29. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i3.1409>
- Paniagua-Vásquez, A., Azofeifa-Bolaños, B. y García-García, J. A. 2013. Cultivo de la vainilla en sistemas agroforestales. *Universidad en diálogo*. 3: 31-46. <https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/dialogo/article/view/6434>
- Ploetz, R.C. 2006. *Fusarium*-induced diseases of tropical, perennial crops. *Phytopathology*. 96: 648-652. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0648>
- Prell, H. y Day, P. 2001. *Plant-Fungal Pathogen Interaction*. 1st ed. Springer. USA.
- Ramos-Quintana, F., Bautista-Hernández, A. y Sotelo-Nava, H. 2017. Relación de la temperatura y humedad relativa con el brote del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8(3): 713-720. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.44>
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. y Eliceiri, K.W. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*. 9: 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Sinha, A.K., Sharma, U.K. y Sharma, N. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 59: 299-326. <https://doi.org/10.1080/09687630701539350>
- Solano-De la Cruz, M.T., Adame-García, J., Gregorio-Jorge, J., Jiménez-Jacinto, J., Vega-Alvarado, L., Iglesias-Andreu, L.G., Escobar-Hernández, E.E. y Luna-Rodríguez, M. 2019. Functional categorization of de novo transcriptome assembly of *Vanilla planifolia* Jacks. potentially points to a translational regulation during early stages of infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *BMC Genomics*. 20: 826. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6229-5>
- Soto-Arenas, M.A. y Dressler, R.L. 2009. A revision of the Mexican and Central American species of *Vanilla* Plumier ex Miller with a characterization of their its region of the nuclear ribosomal DNA. *Lankesteriana International Journal on Orchidology*. 9: 285-354. <https://doi.org/10.15517/LANK.V0I0.12065>
- Soto-Arenas, M.A. y Solano-Gómez, A.R. 2007. Ficha técnica de *Vanilla planifolia*. En: Soto-Arenas MA (compilador). Información actualizada sobre las especies de orquídeas del PROY-NOM-059-ECOL-2000. Instituto Chino A.C., Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología A.C. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W029. México. D.F. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/ise/fichasnom/Vanillaplanifolia00.pdf>
- Tejeda-Martínez, A. y Rodríguez-Viqueira, L. 2006. Estado de la investigación de los aspectos físicos del cambio climático en México. *Investigaciones Geográficas*. 67: 31-43. <http://www.scielo.org.mx/pdf/igeo/n62/n62a3.pdf>
- Varela-Quirós, E. 2019. Vanilla production in Costa Rica. En: *Handbook of Vanilla Science and Technology*. Havkin-Frenkel D. and Belanger F. (ed). p 41. Wiley-Blackwell. England. <https://doi.org/10.1002/9781119377320.ch3>
- Wickham, H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. [Consultado 8 Septiembre 2019] Disponible en: <https://CRAN.R-project.org/package=ggplot2>