# Description and comparison among morphotypes of Fusarium brachygibbosum, F. falciforme and F. oxysporum pathogenic to watermelon in Sonora, México

## Descripción y comparación entre morfotipos de *Fusarium brachygibbosum, F. falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía cultivada en Sonora, México

María Eugenia Rentería-Martínez, Miguel Ángel Guerra-Camacho, Andrés Ochoa-Meza, Sergio Francisco Moreno-Salazar\*, Laboratorio de Biología Molecular, Departamento de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora, Carretera Hermosillo-Bahía Kino Km 21, Hermosillo, Sonora, CP. 83000, México. Amparo del Carmen Meza-Moller, Universidad Estatal de Sonora, Avenida Ley Federal del Trabajo S/N, Colonia Apolo, Hermosillo, Sonora, CP. 83000, México; Juan Manuel Guzmán-Ortíz, Departamento de Investigaciones Científicas y tecnológicas, Universidad de Sonora, Luis Donaldo Colosio S/N, Colonia Centro, Hermosillo, Sonora, CP. 83000, México. \*Autor para correspondencia: sergio.moreno@unison.mx

Recibido: 04 de Agosto, 2018. Aceptado: 21 de Septiembre, 2018.

Rentería-Martínez ME, Guerra-Camacho MA, Ochoa-Meza A, Moreno-Salazar SF, Meza-Moller AC and Guzmán-Ortíz JM. 2018. Description and comparison among morphotypes of *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* and *F. oxysporum* pathogenic to watermelon in Sonora, México. Revista Mexicana de Fitopatología 37(1): 16-34.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1808-1

Primera publicación DOI: 18 Octubre, 2018. First publication DOI: October 18, 2018.

**Resumen.** Recientemente se ha identificado a *Fusarium brachygibbosum, F. falciforme* y *F. oxysporum* como causantes de marchitez y muerte en plantas de sandía en Sonora, México. Debido a la escasa información morfológica acerca de *F. brachygibbosum* y con el fin de establecer las

Fusarium brachygibbosum, Abstract. F. falciforme and F. oxysporum have been recently identified as the cause of wilt and death in watermelon plants in Sonora, Mexico. Because of the scarce morphological information about F. brachygibbosum and in order to establish the distinctive macroscopic and microscopic characteristics among the species, the present study described four morphotypes of F. brachygibbosum and their comparison with three of F. falciforme and two of F. oxysporum. The categorization of morphotypes was based on the form of growth, mycelial tonalities and color developed in potato dextrose agar from 32 pathogenic Fusarium isolates in watermelon. The four morphotypes of F. brachygibbosum presented thick walled single and double chlamydospores, intercalary and terminal. Short monophialides and scarce polyphialides; macroconidia with apical slightly hook shaped cells

características macroscópicas y microscópicas distintivas entre las especies, en el presente trabajo se realizó la descripción de cuatro morfotipos F. brachygibbosum y su comparación con tres de F. falciforme y dos de F. oxysporum. La categorización de los morfotipos se realizó, con base en la forma de crecimiento, tonalidades del micelio y el color desarrollado en agar-dextrosa-papa, a partir de 32 aislados de Fusarium patogénicos en sandía. Los cuatro morfotipos de F. brachygibbosum presentaron clamidosporas sencillas o dobles, de pared gruesa, intercalares y terminales. Monofiálides cortas y escasas polifiálides. Macroconidios con células apicales en ligera forma de gancho y células basales con forma típica o ligera forma de pie. El mayor grosor de paredes fue distintivo en las clamidosporas de F. brachygibbosum. La morfología de los macroconidios fue diferente en las tres especies. Una característica distintiva en los morfotipos de F. falciforme fueron las monofiálides largas y delgadas; mientras que en los de F. oxysporum fue la ausencia de septos en los microconidios. El tamaño de los macroconidios y microconidios fue significativamente diferente entre los morfotipos, pero no entre las especies.

Palabras clave: marchitez, macroconidios, microconidios, clamidosporas, polifiálides.

El género *Fusarium* comprende muchas especies de hongos filamentosos ampliamente distribuidos a nivel mundial. Varios miembros de este género pueden causar enfermedades en plantas, animales y humanos. Diferentes especies de *Fusarium* causan enfermedades en algunos de los más importantes cultivos, como arroz, maíz, trigo, frijol, soya, calabaza, melón y sandía, entre otros (Smith, 2007).

El cultivo de sandía (*Citrullus lanatus*) genera alrededor de 300 millones de dólares anuales and basal cells with a typical or slight foot shape. The greater thickness of the walls was distinctive in chlamydospores of *F. brachygibbosum*. The morphology of the macroconidia was different in the three species. A distinctive characteristic of *F. falciforme* morphotypes was the long and thin monophialides while in those of *F. oxysporum* was the absence of septa in the microconidia. The size of macroconidia and microconidia was significantly different among the morphotypes but not within the species.

**Key words:** wilting, macroconidia, microconidia, chlamydospores, polyphialides.

The genus *Fusarium* includes many filamentous fungi that are widely distributed all over the world. Several members of this genus cause diseases in plants, animals and humans. Different *Fusarium* species cause diseases in some of the most important crops, such as rice, maize, wheat, beans, soybeans, squash, melon and watermelon, among others (Smith, 2007).

Watermelon (*Citrullus lanatus*) production in Mexico generates around US \$300 million per year and the main watermelon producer is the state of Sonora. The economic benefits of watermelon cropping in Sonora exceed US \$30 million a year (SIAP, 2017). However, watermelon fields in the state are frequently threatened by several fungal diseases.

Most research studies point to *Fusarium* oxysporum and *F. solani* as the main causes of death of watermelon plants by wilt and root rot. *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* is considered the most important of the fungi that cause wilt in watermelon crops worldwide (Egel and Martyn, 2007; Zhou et al., 2010; Turóczi et al., 2011; Zhang et al., 2014). *Fusarium solani* f. sp. cucurbitae (races 1 and 2) is another species that causes

FULLY BILINGUAL

en México y el estado de Sonora es su principal productor. La derrama económica por el cultivo de sandía en Sonora supera los 30 millones de dólares al año (SIAP, 2017). Sin embargo, frecuentemente los plantíos de sandía, en este estado, se ven amenazados por diversas enfermedades de origen fúngico.

La mayoría de los trabajos señalan a Fusarium oxysporum y F. solani como los principales responsables de la muerte por marchitez y pudrición de raíz, en plantas de sandía. Fusarium oxysporum f. sp. niveum es considerado el más importante de los hongos causantes de marchitez en los cultivos de sandía alrededor del mundo (Egel y Martyn, 2007; Zhou et al., 2010; Turóczi et al., 2011; Zhang et al., 2014). F. solani f. sp. cucurbitae, razas 1 y 2, es otra especie causante de marchitez en plantas de sandía, aunque su prevalencia es menos reconocida. La raza 2 solamente afecta a los frutos causando una pudrición seca; la raza 1 afecta tanto a frutos maduros como a plantas causando pudrición seca y pudrición cortical del tallo, respectivamente (Boughalleb et al., 2005; Mehl y Epstein, 2007).

Recientemente, Rentería-Martínez et al. (2018), identificaron a Fusarium falciforme (perteneciente al complejo de especies de Fusarium solani), F. brachygibbosum y F. oxysporum, además de Rhizoctonia solani y Ceratobasidium sp., como los hongos asociados a marchitez y pudrición de raíz en plantas de sandía cultivadas en Sonora, México.

*Fusarium brachygibbosum* ha sido identificado como patógeno en leguminosas (Tan *et al.*, 2011), en plantas de palma datilera (Al-Sadi *et al.*, 2012), *Euphorbia larica* (Al-Mahmooli *et al.*, 2013), *Nerium oleander* (Mirhosseini *et al.*, 2014), *Striga hermonthica* (Rna *et al.*, 2014), plantas medicinales (Gashgari *et al.*, 2016), almendro (Stack *et al.*, 2017), maíz (Shan *et al.*, 2017), olivo (Trabelsi *et al.*, 2017), girasol (Xia *et al.*, 2018) y remolacha azucarera (Cao *et al.*, 2018). En estos reportes, la wilt in watermelon plants, although with lower prevalence. Race 2 affects only watermelon fruit, in which it causes dry rot, but race 1 affects both mature fruits and plants, in which it causes dry rot and cortical stem rot, respectively (Boughalleb *et al.*, 2005; Mehl and Epstein, 2007).

Recently, Rentería-Martínez *et al.* (2018) identified *Fusarium falciforme* (belonging to *Fusarium solani* species complex), *F. brachygibbosum* and *F. oxysporum*, as well as *Rhizoctonia solani* and *Ceratobasidium* sp., as fungi associated with wilt and root rot in watermelon plants grown in Sonora, Mexico.

Fusarium brachygibbosum has been identified as a pathogen in legumes (Tan et al., 2011), date palm plants (Al-Sadi et al., 2012), Euphorbia larica (Al-Mahmooli et al., 2013), Nerium oleander (Mirhosseini et al., 2014), Striga hermonthica (Rna et al., 2014), medicinal plants (Gashgari et al., 2016), almond trees (Stack et al., 2017), maize (Shan et al., 2017), olive trees (Trabelsi et al., 2017), sunflower (Xia et al., 2018) and sugar beet (Cao et al., 2018). According to these reports, F. brachygibbosum was identified through molecular techniques, and only a brief morphological description was included using the morphotype reported by Padwick (1945) as a reference in all the cases, but without considering the diversity of morphotypes of the specie.

According to Leslie *et al.* (2001), the different shapes of the macroconidia are essential for identifying many *Fusarium* species, but there are other useful traits that could be used to distinguish the species of a genus. Traditionally, *Fusarium* species have been identified based on their morphological characteristics, such as the shape and size of macro- and microconidia, and the absence or presence and shape of chlamydospores. The appearance, shape and pigmentation of the colonies, as well as their growth rates in different identificación de la especie se realizó mediante técnicas moleculares y solo se incluyó una somera descripción morfológica, tomando como referencia, en todos los casos, al morfotipo reportado por Padwick (1945), sin considerar la diversidad de morfotipos existente en la especie.

De acuerdo con Leslie et al. (2001), las diferencias en la forma de los macroconidios son fundamentales para la identificación de muchas especies de Fusarium, pero además hay otros caracteres útiles para diferenciar entre las especies de un género. Tradicionalmente la identificación de las especies de Fusarium se realiza en base a características morfológicas, tales como: forma y tamaño de macro y microconidios, la ausencia o presencia y forma de las clamidosporas. La apariencia, forma y pigmentación de las colonias, así como las velocidades de crecimiento en diferentes medios, también son tomadas en consideración (Leslie y Summerell, 2006; Ismail et al., 2015). Esto resalta la importancia de conocer que caracteres morfológicos son los que pueden ayudar en la identificación de las especies de Fusarium causantes de muerte en plantas de sandía en Sonora.

En base a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue analizar y comparar la variabilidad morfológica entre morfotipos de *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* y *F. oxysporum* encontrados como agentes causales de marchitez en plantas de sandía cultivadas en Sonora, México, con el fin de establecer las características macroscópicas y microscópicas distintivas entre las especies.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los sitios y la metodología de muestreo de las plantas sintomáticas, el aislamiento y obtención de cultivos monospóricos, la extracción de ADN, la identificación molecular y las pruebas patogenicidad media, are also taken into consideration (Leslie and Summerell, 2006; Ismail *et al.*, 2015). These findings highlight the importance of knowing which morphological traits can help identify the *Fusarium* species that cause watermelon plants to die in Sonora.

Based on the above, the objective of this study was to analyze and compare the morphological variability among *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* and *F. oxysporum* morphotypes identified as being the causal agents of wilt in watermelon plants grown in Sonora, Mexico, in order to establish the distinctive macro- and microscopic characteristics of these species.

### **MATERIALS AND METHODS**

The sites and methodology used to sample plants showing symptoms, isolation, monosporic cultures, DNA extraction, as well as to do the molecular identification and conduct pathogenicity tests on the isolates following Koch's postulates, were described and published by Rentería-Martínez *et al.* (2018). A total of 25 *Fusarium falciforme* isolates, five *F. brachygibbosum* isolates, and two *F. oxysporum* isolates were identified.

**Morphotype classification**. Morphotypes of each species were established based on the type of growth, mycelium color and culture medium pigmentation. Assessments were conducted on one isolate that was representative of each morphotype.

**Morphology and growth rate of the colonies**. The macroscopic characteristics of the colonies (mycelium growth rate, color of the colony and pigmentation) were evaluated in potato-dextroseagar (PDA) medium. The growth rate of each isolate was determined by taking a disk 8 mm de los aislados en cumplimiento con los postulados de Koch se describieron y publicaron por Rentería-Martínez *et al.* (2018). En total se identificaron 25 aislados de *Fusarium falciforme*, cinco de *F. brachygibbosum* y dos *F. oxysporum*.

**Clasificación de morfotipos**. Los morfotipos de cada especie se establecieron con base en el tipo de crecimiento, coloración del micelio y pigmentación del medio de cultivo. Las determinaciones se realizaron en un aislado representativo de cada morfotipo.

**Morfología y velocidad de crecimiento de las colonias**. Las características macroscópicas de las colonias (tasa de crecimiento del micelio, color de la colonia y pigmentación) se evaluaron en medio PDA. La tasa de crecimiento de cada aislado se determinó tomando un disco de 8 mm de diámetro de colonias de 7 días de desarrollo en PDA y colocándolo al centro de otra placa con PDA. Las placas se incubaron a 27 °C y se midió diariamente el diámetro de la colonia en dos direcciones perpendiculares hasta que el cultivo cubrió completamente la placa. Se evaluaron cinco repeticiones por cada aislado. Se registró la morfología de las colonias y la pigmentación aérea del micelio (Nelson *et al.*, 1983).

Análisis de las características microscópicas. Los diferentes morfotipos se cultivaron en agar hojas de clavel (CLA), de acuerdo con Fisher *et al.* (1982). Para promover la formación de clamidosporas, se utilizó agar de suelo (SA), según Klotz *et al.* (1988). Los cultivos en CLA y SA se incubaron en las mismas condiciones: 25 °C, 12 h luz /12 h oscuridad durante dos semanas.

Las preparaciones microscópicas en portaobjetos se examinaron con un microscopio de luz compuesto (VELAB<sup>TM</sup>). Para observar y medir el tamaño de los conidios, fiálides y clamidosporas in diameter containing 7-day-old colonies in PDA and placing it in the middle of another dish containing PDA. The dishes were incubated at 27 °C and the colony's diameter was measured in two perpendicular directions every day until the dish was completely covered by the culture. Five replicates of each isolate were evaluated. The morphology of the colonies and the aerial pigmentation of the mycelium were recorded (Nelson *et al.*, 1983).

Analysis of microscopic characteristics. The different morphotypes were cultured in carnation leaf agar (CLA), according to the method of Fisher *et al.* (1982). To promote the formation of chlamydospores, soil-agar (SA) was used, according to the method of Klotz *et al.* (1988). The CLA and SA cultures were incubated under the same conditions: 25 °C, 12 h light/12 h darkness for two weeks.

Microscopic preparations on slides were observed using a compound light microscope (VELAB<sup>TM</sup>). To observe and measure the size of the conidia, phialides and chlamydospores, pictures were taken at 40X and 100X, which were then analyzed using TSView software, version 6.2.4.5. The length and width of 50 macroconidia and 50 microconidia randomly selected from each isolate were measured.

Statistical analysis. Data on macroconidial and microconidial length and width were subjected to an analysis of variance (ANOVA) and media separation using Tukey's test ( $\alpha$ <0.05) and the JMP program v5.0.1a.

### RESULTS

Morphotype classification and growth rate. The 25 *F. falciforme* isolates were grouped in three

se tomaron fotografías a 40X y 100X, luego se analizaron utilizando el software TSView, versión 6.2.4.5. Se midió la longitud y el ancho de cincuenta macroconidios y cincuenta microconidios seleccionados al azar de cada aislado.

Análisis estadístico. Los datos de longitud y ancho de macroconidios y microconidios fueron sometidos a un análisis de varianza y separación de medias por la prueba de Tukey ( $\alpha$ <0.05), utilizando el programa JMP v5.0.1a.

### RESULTADOS

Clasificación de morfotipos y velocidad de crecimiento. Los 25 aislados de *F. falciforme* se agruparon en tres morfotipos (Ff-14, Ff-49 y Ff-50), los cinco aislados de *F. brachygibbosum* en cuatro (Fb-8, Fb-9, Fb-41 y Fb-67) y los dos de *F. oxysporum* en uno (Fo-38). En el Cuadro 1 se presentan las velocidades de crecimiento y las características macroscópicas observadas en los morfotipos de *F. brachygibbosum, F. falciforme* y *F. oxysporum* en PDA. La Figura 1 evidencia la presencia de los cuatro morfotipos patogénicos de *F. brachygibbosum*, encontrados en los campos de sandía en Sonora.

**Características microscópicas**. En el Cuadro 2 se resume la morfología de las clamidosporas y las células conidiógenas observada en los aislados representativos de cada morfotipo en las tres especies. En todos los casos se observaron clamidosporas redondas intercalares y terminales, principalmente sencillas y dobles; sin embargo, el mayor grosor en la pared de las clamidosporas de los morfotipos de *F. brachygibbosum* (Figura 2A) parece ser una característica que lo diferencia de *F. falciforme* y *F. oxysporum* (Figura 2B-C). En lo referente a las células conidiógenas, los morfotipos de *F. falciforme*  morphotypes (Ff-14, Ff-49 and Ff-50), the five *F. brachygibbosum* isolates in four morphotypes (Fb-8, Fb-9, Fb-41 and Fb-67), and the two *F. oxysporum* isolates in one morphotype (Fo-38). Table 1 shows the growth rates and macroscopic characteristics observed in *F. brachygibbosum*, *F. falciforme* and *F. oxysporum* morphotypes grown in PDA. Figure 1 shows the presence of the four *F. brachygibbosum* pathogenic morphotypes found in watermelon fields in Sonora.

**Microscopic characteristics.** Table 2 summarizes the chlamydospores morphology and conidiogenic cells observed in isolates representative of each morphotype in the three species. In all cases, spherical, intercalary and terminal chlamydospores were observed, mainly singly and in pairs; however, the walls of the chlamydospores of *F. brachygibbosum* morphotypes (Figure 2A) are thicker, which seems to be a characteristic that distinguishes them from those of *F. falciforme* and *F. oxysporum* (Figure 2B-C). Regarding conidiogenic cells, *F. falciforme* morphotypes (Figure 2B) differ from the others because their monophialides are longer and thinner.

Table 3 shows a morphological description of the macroconidia and microconidia of isolates that are representative of each morphotype. There were some differences among the three species. The four *F. brachygibbosum* morphotypes had thin, straight macroconidia with three to five septa, the cells in the middle were slightly wide and the intermediate cells were curved towards the basal part. The apical cells were slightly hook-shaped, while the basal cells had a typical shape or were slightly foot-shaped (Figure 3). *F. falciforme* macroconidia were wide and straight, or slightly curved, but the ventral and dorsal planes were parallel along most of their length, the apical cells were rounded, while the basal cells were straight and cylindrical with

## Cuadro 1. Velocidad de crecimiento en PDA y características macroscópicas de los morfotipos de *F. brachygibbosum, F. falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía.

Table 1.	Growth rate on PDA and macroscopic c	characteristics of F.	brachygibbosum, F	<i>E falciforme</i> and <i>F</i> .	oxysporum mor-
	photypes pathogenic to watermelon.				

	Velocidad de Morfología de las colonias		Pigmentación <sup>y</sup>
F. brachygibbosum			
Fb-8	4.9	Micelio aéreo, velloso de color blanco, tornándose amarillo y rosa con esporodoquios amarillos después de 2 semanas.	Café claro, con manchas café oscuro alrededor de los esporodoquios.
Fb-9	4.2	Micelio aéreo, velloso de color amarillo, con esporodoquios color café después de 2 semanas.	Amarillo-naranja con el centro café rojizo en forma de estrella. Con manchas café oscuras alrededor de los esporodoquios.
Fb-41	4.8	Micelio aéreo, velloso de color café claro, con esporodoquios café después de 2 semanas.	Centro café oscuro con anillos concéntricos menos café hacia afuera. Con manchas café claro alrededor de los esporodoquios.
Fb-67	4.6	Micelio aéreo, velloso de color blanco al inicio. Tornándose rosa con el desarrollo esporodoquios amarillos después de 2 semanas.	Rojo intenso brillante en todo el fondo de la caja.
F. falciforme			
Ff-14	4.1	Micelio postrado de color beige. Crecimiento en anillos concéntricos, sin formación de esporodoquios.	Café claro con halos café oscuros debido al crecimiento en forma de anillo.
Ff-49	3.6	Micelio postrado de color beige, sin formación de esporodoquios.	Café claro.
Ff-50	3.9	Micelio postrado de color blanco, sin formación de esporodoquios.	Beige muy claro, cubriendo toda la caja.
F. oxysporum			
Fo-38	3.4	Micelio velloso de color blanco, el cual se torna purpura después de una semana. Sin formación de esporodoquios.	Púrpura en toda la caja.

<sup>x</sup> mm/día / mm/day.

<sup>y</sup> Fondo de la caja Petri / Bottom of the Petri dish.

(Figura 2B) se distinguen de los demás, por tener monofiálides más largas y delgadas.

En el Cuadro 3 se presenta la descripción morfológica de los macroconidios y microconidios de los aislados representativos de cada morfotipo. Se observaron algunas diferencias entre las tres especies. Los cuatro morfotipos de *F. brachygibbosum* presentaron macroconidios delgados y rectos, con tres a cinco septos, las células del centro ligeramena barely trimmed or round end (Figure 4B). The shape of *F. oxysporum* macroconidia was similar to that of *F. brachygibbosum* macroconidia, but their basal cells were pointed and lower in number, with a barely visible foot shape (Figure 4C).

*F. brachygibbosum* microconidia were oval, sometimes ovoid, usually with one septum, rarely with two or none. *F. oxysporum* microconidia were elliptical, oval and kidney-shaped with no septa. *F.* 



Figura 1. Características morfológicas de las colonias de los 4 morfotipos de *Fusarium brachygibbosum* en PDA. A = Frente B = Fondo

Figure 1. Morphological characteristics of colonies of four *Fusarium brachygibbosum* morphotypes grown in PDA. A = Front B = bottom.

Cuadro 2. Morfología de clamidosporas y células conidiógenas en los morfotipos de *F. brachygibbosum*, *F falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía, desarrollados en CLA.

Table 2.	Morphology of	f chlamydospores	and	conidiogenous	cells I	F. brachygibbosum	morphotypes,	and	isolates	that	were
	representative	of F. falciforme an	d <i>F. c</i>	oxysporum gro	wn in	CLA.					

	Forma de las clamidosporas	Tipo de células conidiógenas
F. brachygibbosum		
Fb-8	Dobles. Intercalares y terminales. Pared gruesa.	Monofiálides cortas. Algunas polifiálides cortas.
Fb-9	Sencillas. Intercalares. Pared gruesa.	Monofiálides cortas. Algunas polifiálides cortas.
Fb-41	Sencillas. Intercalares. Pared gruesa.	Monofiálides cortas. Algunas polifiálides cortas.
Fb-67	Sencillas y dobles. Intercalares y terminales. Pared gruesa.	Monofiálides cortas. Algunas polifiálides cortas.
F. falciforme		
Ff-14	Sencillas, dobles y en cadena. Intercalares y terminales. Pared mediana.	Monofiálides muy largas y algunas cortas. Pocas polifiálides.
Ff-49	Sencillas y dobles. Intercalares y terminales. Pared de grosor medio o delgado.	Monofiálides muy largas y algunas cortas. Pocas polifiálides.
Ff-50	Sencillas y dobles. Terminales. Pared de grosor medio o delgado.	Monofiálides muy largas abundantes. Pocas polifiálides.
F. oxysporum		
Fo-38	Sencillas y dobles. Intercalares y terminales. Pared de grosor medio o delgado.	Monofiálides cortas y escasa presencia de polifiálides.

te anchas centro y las intermedias curvadas hacia la parte basal. Las células apicales tuvieron ligera forma de gancho y las células basales la forma típica o ligera forma de pie (Figura 3). Los macroconidios de *F. falciforme* fueron anchos y rectos *falciforme* had oval, ellipsoid and kidney-shaped microconidia with a truncated basal part, and some of them were pyriform and fusiform with one or two septa, or none (Table 3, Figure 4 D-F). Due to shape variability, it was not possible to observe



- Figura 2. A-C: Morfología de clamidosporas. A = F. brachygibbosum, B = F. falciforme y C = F. oxysporum. D-F: Morfología de células conidiógenas. D = polifiálides y monofiálides de F. brachygibbosum, E = monofiálide de F. falciforme y F = monofiálides de F. oxysporum.
- Figure 2. A-C: Morphology of chlamydospores of A = F. brachygibbosum; B = F. falciforme; and C = F. oxysporum. D-F: Morphology of conidiogenous cells: D = polyphialides and monophialides of F. brachygibbosum, E = monophialides of F. falciforme, and F = monophialides of F. oxysporum.

o ligeramente curvados, pero con el plano ventral y dorsal paralelos en la mayor parte de su longitud, sus células apicales fueron redondeadas y las basales rectas y cilíndricas con el extremo apenas differences among macroconidia from different species, and only the absence of septa in all F. *oxysporum* (Figure 4F) microconidia observed seems to be a distinctive trait.

Cuadro 3. Morfología de macroconidios y microconidios de los morfotipos de *F. brachygibbosum*, *F falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía, desarrollados en CLA.

Table 3. Morphology of macroconidia and microconidia of *F. brachygibbosum, F. falciforme* and *F. oxysporum* morphotypes pathogenic to watermelon grown in CLA.

	Forma de macroconidios	Forma de microconidios
F. brachygibbosum		
Fb-8	Delgadas, largas y rectas. Células centrales ligeramente anchas y curvadas hacia la parte basal. Células apicales con ligera forma de gancho y células basales con ligera forma de pie. Tres o cuatro septos.	Ovales y algunas ovoides. Con uno y escasamente con ninguno o con dos septos.
Fb-9	Delgadas, largas y rectas. Células centrales ligeramente anchas y curvadas hacia la parte basal. Células apicales con ligera forma de gancho y células basales con típica forma de pie. Tres a cinco septos.	Ovales y algunas ovoides. Con uno y escasamente con ninguno o con dos septos.
Fb-41	Delgadas, largas y rectas. Células centrales ligeramente anchas y curvadas hacia la parte basal. Células apicales con ligera forma de gancho y células basales con típica forma de pie. Tres a cinco septos.	Ovales y algunas ovoides. Con uno y escasamente con ninguno o con dos septos.
Fb-67	Delgadas, largas y rectas. Células centrales ligeramente anchas y curvadas hacia la parte basal. Células apicales con ligera forma de gancho y células basales con ligera forma de pie. Tres a cinco septos.	Ovales y algunas ovoides. Con uno y escasamente con ninguno o con dos septos.
F. falciforme		
Ff-14	Anchas y rectas. Ligeramente curvadas con el plano ventral y dorsal paralelo en la mayor parte de su longitud. Células apicales redondeadas. Células basales rectas y cilíndricas, con extremos apenas recortados o redondeados. Con tres a seis septos.	Ovales, elipsoides, reniformes y fusiformes. Con la parte basal truncada. Con ningún o con un septo.
Ff-49	Anchas y rectas. Ligeramente curvadas con el plano ventral y dorsal paralelo en la mayor parte de su longitud. Células apicales redondeadas. Células basales rectas y cilíndricas, con extremos apenas recortados. Con tres a seis septos.	Ovales, elipsoides y reniformes. Con cero, uno o dos septos.
Ff-50	Anchas y rectas. Ligeramente curvadas con el plano ventral y dorsal paralelo en la mayor parte de su longitud. Células apicales redondeadas. Células basales rectas y cilíndricas, con extremos apenas recortados. Con cuatro a seis septos.	Ovales, elipsoides, reniformes y ocasionalmente piriformes. Con cero, uno y ocasionalmente dos septos.
F. oxysporum		
Fo-38	Cortas a medianas y esbeltas. Rectas o ligeramente curvadas. Células apicales cónicas con ligera forma de gancho y células basales en forma puntiaguda. Tres o cuatro septos.	Ovales típicas, elípticas y forma de riñón. Sin septos.



Figura 3. Morfología de las macroconidios de los cuatro morfotipos de *F. brachygibbosum*. A = células apicales con forma ligera de gancho y B = células basales con ligera forma de pie (Fb-8 y Fb-67) y típica forma de pie (Fb-9 y FB-41).
Figure 3. Morphology of macroconidia of four *F. brachygibbosum* morphotypes. A = slightly hook-shaped apical cells; and B = slightly foot-shaped basal cells (Fb-8 and Fb-67) and typical foot-shaped cells (Fb-9 and FB-41).

recortado o redondeado (Figura 4B). La forma de los macroconidios de *F. oxysporum* fue parecida a la de *F. brachygibbosum*, pero con células basales puntiagudas y en menor cantidad con forma de pie apenas visible (Figura 4C).

Table 4 shows the average length and width of the macroconidia, according to the number of septa and the average of 50 cells. The statistical analysis detected significant differences in the average length and width of the macroconidia among the isolates,



Figura 4. Morfología de macroconidios y microconidios de las tres especies de Fusarium patogénicas de sandía. A = macroconidios de F. brachygibbosum, B = macroconidios de F. falciforme y C) macroconidios de F. oxysporum. D = microconidios de F. brachygibbosum, E = microconidios de F. falciforme y F) microconidios de F. oxysporum.

Figure 4. Morphology of macroconidia and microconidia of three *Fusarium* species pathogenic to watermelon. A = macroconidia of *F. brachygibbosum*, B = macroconidia of *F. falciforme*, and C) macroconidia of *F. oxysporum*. D = macroconidia of *F. brachygibbosum*, E = microconidia of F. falciforme, and F) microconidia of *F. oxysporum*.

Los microconidios de *F. brachygibbosum* fueron ovales y ocasionalmente ovoides, por lo general con un septo, rara vez con dos o ninguno. Los de *F. oxysporum* fueron ovales elípticos y en forma de riñón sin septos. *F. falciforme* presentó microconidios con la parte basal trunca, ovales, elipsoides y reniformes, con algunos piriformes y fusiformes, con ninguno, uno o dos septos (Cuadro 3, Figura 4 D-F). La variabilidad de formas no permitió observar diferencias en los microconidios de las diferentes especies; solo la ausencia de septos en todos los microconidios observados en *F. oxysporum* (Figura 4F) parece ser un rasgo distintivo. but due to the variability in size within the species, it was not possible to observe the differences between them. Macroconidia with Fb-8 and Fb-9 morphotypes had no significant size differences compared to *F. oxysporum* Fo-38 morphotypes. No significant differences were detected in the size of Fb-41, Fo-39 and Ff-49 macroconidia, nor among Fb-67, Ff-50 and Ff-14 macroconidia.

Table 5 shows the average length and width of the macroconidia, according to the number of septa and the average of 50 cells. In general, significant differences were detected in the size of the macroconidia among isolates but not among Cuadro 4. Tamaño de macroconidios de aislados de los morfotipos de *F. brachygibbosum, F. falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía, desarrollados en CLA, de acuerdo con su número de septos.

Table 4. Size of macroconidia of *F. brachygibbosum, F. falciforme* and *F. oxysporum* isolates pathogenic to watermelon grown in CLA, according to the number of septa.

Tamaño de macroconidios (μm) <sup>x</sup>											
Número de septos											
	3 4 5 6 Promedio <sup>y</sup>										
F. brachy- gibbosum	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	
Fb-8	$30.74 \pm 4.49$	$3.29 \pm 0.35$	$35.13\pm3.79$	$3.18 \pm 0.35$	-	-	-	-	$31.45\pm4.09\mathrm{F}$	$3.28\pm0.35\mathrm{E}$	
Fb-9	$34.16\pm3.72$	$3.58 \pm 0.52$	$38.98 \pm 2.16$	$4.04\pm0.30$	$42.34\pm2.93$	$3.54 \pm 0.13$	-	-	$35.52\pm4.35~\mathrm{E}$	$3.65\pm0.51D$	
Fb-41	$35.52\pm4.49$	$3.70 \pm 0.55$	$38.25\pm5.08$	$3.85\pm 0.64$	$39.46\pm9.50$	$4.13\pm0.51$	-	-	$37.04 \pm 5.33 \text{DE}$	$3.80\pm0.59D$	
Fb-67	$40.01\pm7.19$	$4.28\pm0.37$	$45.04\pm5.65$	$4.32\pm0.47$	$50.08 \pm 1.54$	$4.61\pm0.28$	-	-	$43.04\pm6.97AB$	$4.33\pm0.42\mathrm{C}$	
F. falci- forme											
Ff-14	$40.11\pm0.65$	$4.69\pm0.11$	$43.55\pm1.16$	$5.03\pm0.10$	$45.90 \pm 0.68$	$5.35\pm0.08$	$47.3\pm0.23$	$5.64\pm0.10$	$44.04\pm0.82A$	$5.13\pm0.10A$	
Ff-49	$37.60 \pm 1.59$	$4.47\pm0.28$	$39.10 \pm 1.46$	$4.82\pm0.20$	$40.67\pm1.30$	$4.69\pm0.42$	$43.30\pm1.55$	$5.07\pm0.36$	$39.90 \pm 1.45 CD$	$4.77\pm0.29B$	
Ff-50	-	-	$38.74\pm 0.57$	$3.80 \pm 0.16$	$41.04\pm0.92$	$3.74 \pm 0.10$	$43.45\pm0.62$	$3.88\pm0.06$	$40.56\pm0.71BCD$	$3.83\pm0.12D$	
F. oxys- porum											
Fo-38	$32.22\pm3.07$	$3.32\pm0.47$	$35.48\pm2.84$	$3.26\pm0.31$	-	-	-	-	$33.26\pm3.00\text{E}$	$3.30\pm0.42\text{E}$	

\* Media ± SD. Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05) / Means ± SD. Different letters indicate a significant difference (p<0.05).

<sup>y</sup> Promedio de 50 células (Average of 50 cells) / Average of 50 cells.

- No se observaron suficientes células para su medición (No observed sufficient cells to measure) / Not enough cells observed.

En el Cuadro 4 se observan las medias de largo y ancho de los macroconidios de acuerdo con el número de septos y el promedio de 50 células. El análisis estadístico permitió detectar diferencias significativas en el largo y ancho promedio de los macroconidios entre los aislados; sin embargo, la variabilidad de tamaños dentro de las especies no permitió establecer diferencias entre ellas. Los macroconidios de los morfotipos Fb-8 y Fb-9 no mostraron diferencias significativas en tamaño con respecto a los morfotipos Fo-38 de *F. oxysporum*. No se detectó diferencia significativa entre el tamaño de los macroconidios de Fb-41, Fo-39 y Ff-49. Tampoco se observó diferencia significativa entre Fb-67, Ff-50 y Ff-14.

El Cuadro 5 presentan las medias de largo y ancho de los microconidios de acuerdo con el número de septos y el promedio de 50 células. Se detectaron diferencias significativas en el tamaño de los microconidios entre los aislados en general, pero no entre especies. Los morfotipos Fb-41, Fb-67 y Fb-9 presentaron los microconidios de mayor longitud, mientras que Fb-8 fue el de menor tamaño.

## DISCUSIÓN

Padwick (1945) describió que *F. brachygibbo*sum crece en PDA desarrollando abundante micelio aéreo, blanco, con tonos rosados y medio de color rojo-sangre. Con microconidios típicos de forma ovoide a fusiforme, o ligeramente curvados cuando son septados, con ninguno, uno, dos o tres septos. Macroconidios dispersos finamente en la superficie del agar, hiperbólicamente curvados, células centrales anchas y de 0 a 5 septos. Células del ápice afiladas y células basales ligeramente afiladas con forma de pie típica. Clamidosporas terminales e intercalares, simples y en cadenas; generalmente unicelulares y globosas, ocasionalmente de 2 species. The Fb-41, Fb-67 and Fb-9 morphotypes had the longest microconidia, while Fb-8 had the shortest.

#### DISCUSSION

Padwick (1945) stated that F. brachygibbosum grows in PDA and develops an abundance of aerial white mycelia, pinkish tone, and blood-red color in the agar; its microconidia are typically ovoid to fusiform, or slightly curved when they have septa, with one, two, three or no septa. Hyperbolically curved macroconidia are finely dispersed over the agar surface; they have wide central cells and 0-5 septa. Sharp apical cells and slightly sharp basal cells have a typical foot-like shape; terminal and intercalary chlamydospores, single or in chains, are usually unicellular and globose, occasionally with two smooth and granular cells. This description is in agreement with the four F. brachygibbosum morphotypes that were found in this study, but the color of the colony and the medium coincides only with the color of Fb-67 and not with the color of Fb-8, Fb-9 and Fb-41.

In general, the type of mycelium, the color of the colonies and the culture medium, as well as the morphology of the macro- and microconidia observed in the most recent *F. brachygibbosum* studies (Al-Sadi *et al.*, 2012; Mirhosseini *et al.*, 2014; Renteria-Martinez *et al.*, 2015; Stack *et al.*, 2017; Shan *et al.*, 2017; Xia *et al.*, 2018) correspond to the morphotype described by Padwick (1945). All these studies found white colonies that turned yellow with pink or orange tones, and stained the PDA medium bright red. When they were grown in CLA, the macroconidia had thick walls, a bulky center and slightly curved ends (attenuated hook), and a typical foot-like or slightly foot-shaped basal cell; most of them had 4-5 septa. Cuadro 5. Tamaño de microconidios de los morfotipos de F. brachygibbosum, F. falciforme y F. oxysporum patogénicos en sandía, desarrollados en CLA, de acuerdo con su número de septos.

Table 5. Size of microconidia of F. brachygibbosum isolates pathogenic to watermelon and pathogenic isolates that were representative of F. solani and F. oxysporum grown in CLA, according to the number of septa.

Tamaño de microconidios (μm) <sup>x</sup> Número de septos										
0 1 2 Promedio <sup>y</sup>										
F. brachygibbosum	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho		
Fb-8	-	-	$13.79\pm1.84$	$3.95 \pm 0.46$	-	-	$13.79\pm1.84b$	$3.95\pm0.46C$		
Fb-9	-	-	$7.15\pm 0.43$	$2.40\pm0.64$	-	-	$7.15\pm 0.43b$	$2.40\pm0.64A$		
Fb-41	-	-	$18.78\pm2.92$	$3.81 \pm 0.47$	-	-	$18.78\pm2.92a$	$3.81\pm0.47A$		
Fb-67	-	-	$17.73\pm3.67$	$3.91\pm2.53$	-	-	$17.73\pm3.67a$	$3.91\pm2.53A$		
F. falciforme										
Ff-14	$11.42\pm2.29$	$3.21 \pm 0.34$	$11.06\pm2.39$	$3.15\pm0.35$	-	-	$11.18\pm2.36c$	$3.17\pm0.35 A$		
Ff-49	$9.41\pm0.86$	$2.94\pm0.63$	$10.61\pm0.88$	$3.85 \pm 0.51$	$11.18 \pm 1.02$	$4.91\pm 0.47$	$10.29\pm0.89 \text{cd}$	$3.73\pm0.55AB$		
Ff-50	$10.26\pm1.10$	$3.68 \pm 0.53$	$11.99\pm0.45$	$4.18\pm0.25$	-	-	$11.17\pm0.75\text{c}$	$3.95\pm0.38 A$		
F. oxysporum										
Fo-38	$8.56 \pm 1.40$	$3.05\pm0.56$	-	-	-	-	$8.56 \pm 1.40 \text{de}$	$3.05\pm0.56BC$		

<sup>x</sup> Media  $\pm$  SD. Letras diferentes indican diferencia significativa (p< 0.05) / Means  $\pm$  SD. Different letters indicate a significant difference (p< 0.05).

<sup>y</sup> Promedio de 50 células (Average of 50 cells) / Average of 50 cells.
 -No se observaron suficientes células para su medición (No observed sufficient cells to measure) / Not enough cells observed.

células, lisas, granulares. Esta descripción concuerda con los cuatro morfotipos de *F. brachygibbosum* encontrados en el presente trabajo; sin embargo, el color de las colonias y del medio solo concuerda con lo observado en Fb-67 y no con Fb-8, Fb-9 y Fb-41.

En general el tipo de micelio, el color de las colonias, color del medio de cultivo y la morfología de los macroconidios y microconidios, observados en los trabajos más recientes sobre F. brachygibbosum (Al-Sadi et al., 2012; Mirhosseini et al., 2014; Renteria-Martinez et al., 2015; Stack et al., 2017; Shan et al., 2017; Xia et al., 2018), corresponden al morfotipo descrito por Padwick (1945). En todos estos estudios se registraron colonias blancas que se tornan amarillo claro con tonos rosa o naranja y el medio PDA teñido en rojo brillante. El crecimiento en CLA permitió observar macroconidios de paredes gruesas, un centro abultado con extremos ligeramente curvados (gancho atenuado) y una célula basal típica en forma de pie o ligeramente en forma de pie, en su mayoría con 4 a 5 septos.

El morfotipo de *F. oxysporum* desarrolló un micelio aéreo blanco que se tornó purpura después de una semana en PDA, similar a lo descrito por Kleczewski y Egel (2011) acerca de *F. oxysporum* f.sp. *niveum* raza 1, aunque sin formación de esporodoquios. Al cultivarse en CLA, las características de clamidosporas, células conidiógenas, macroconidios y microconidios correspondieron a lo señalado por Leslie y Summerell (2006), para la especie.

El tipo de crecimiento de las colonias en PDA permite distinguir entre los morfotipos de *F. brachygibbosum* (aéreo) y los de *F. falciforme* (postrado). La presencia de monofiálides largas y delgadas, mostradas en los morfotipos *F. falciforme* (Summerbell y Schroers., 2002), es una característica que permite diferenciarlos de *F. brachygibbosum* y *F. oxysporum*, los cuales desarrollaron monofiálides más cortas. La forma de los macroconidios de The *F. oxysporum* morphotype developed white aerial mycelium that turned purple after a week in PDA, a result similar to that described by Kleczewski and Egel (2011) regarding *F. oxysporum* f.sp. *niveum* race 1, but with no sporodochia formation. When cultured in CLA, the characteristics of the chlamydospores, conidiogenic cells, macroconidia and microconidia were in agreement with the results obtained by Leslie and Summerell (2006) for the species.

The type of growth colonies in PDA makes it possible to distinguish between *F. brachygibbosum* (aerial) and *F. falciforme* (prostrate) morphotypes. The presence of long and thin monophialides observed in *F. falciforme* morphotypes (Summerbell and Schroers, 2002) is a characteristic that allows differentiating them from *F. brachygibbosum* and *F. oxysporum*, which develop shorter monophialides. The shape of *F. falciforme* macroconidia is another trait that distinguishes it from the other species. Similar to the results obtained by Chehri *et al.* (2015), macroconidia of this species were polyseptate, wide and straight or slightly curved, with round apical cells and basal cells with slightly trimmed ends.

The color developed in the agar, the type of conidiogenic cells, as well as macroconidial morphology and size, can cause *F. brachygibbosum* to be mistakenly identified as *F. oxysporum*, which is more common in most of the crops in Sonora, but the morphology of the chlamydospores, specifically the thickness of their walls, may be a distinctive characteristic that allows differentiating the two species. The morphology of *F. brachygibbosum* chlamydospores is in agreement with the results obtained by Cao *et al.* (2018). Another characteristic that differs among these species is the lack of septa in *F. oxysporum* microconidia, while *F. brachygibbosum* had mostly microconidia with one septum.

*F. falciforme* es otro rasgo que lo distingue de las otras especies. Similar a lo reportado por Chehri *et al.* (2015) los macroconidios de esta especie fueron poliseptados, anchos y rectos o ligeramente curvados, con células apicales redondeadas y células basales con extremos apenas recortados.

La coloración desarrollada en el agar, el tipo de células conidiógenas, además de la morfología y tamaño de los macroconidios pueden hacer que *F. brachygibbosum* sea identificado erróneamente como *F. oxysporum*, que es más común en la mayoría de los cultivos de la región; pero la morfología de las clamidosporas, específicamente el grosor de la pared, puede ser una característica distintiva que permita diferenciar entre las dos especies. La morfología de las clamidosporas de *F. brachygibbosum* correspondió con lo observado por Cao *et al.* (2018). Otra característica diferente entre estas especies fue la ausencia de septos en los microconidios de *F. oxysporum*, mientras que en *F. brachygibbosum* predominaron los de un septo.

La variabilidad en el tamaño de macroconidios y microconidios entre los morfotipos de una misma especie, no permitió diferenciar entre las tres especies de *Fusarium*.

Se han reportado diferentes tamaños en los conidios de *F. brachygibbosum* (Xia *et al.*, 2018; Shan *et al.*, 2017; Mirhosseini *et al.*, 2014; Al-Mahmooli *et al.*, 2013;), en la mayoría de los casos de menor tamaño a los observados en el presente trabajo. El tamaño de los macroconidios de *F. falciforme* fue similar a lo reportado por Chehri *et al.* (2015). Por su parte, la morfología y tamaño de los macroconidios de *F. oxysporum* concordaron con lo señalado por Chehri *et al.* (2011).

### CONCLUSIONES

Algunas características, tales como: el grosor de paredes en las clamidosporas, la morfología de los

The variability in macroconidia and microconidia size among morphotypes of the same species did not allow differentiating among the *Fusarium* species.

*F. brachygibbosum* conidia of different sizes have been reported (Xia *et al.*, 2018; Shan *et al.*, 2017; Mirhosseini *et al.*, 2014; Al-Mahmooli *et al.*, 2013) and, in most cases, they have been shorter than the ones observed in this study. The size of *F. falciforme* macroconidia was similar to the size reported by Chehri *et al.* (2015). Also, the morphology and size of *F. oxysporum* macroconidia were in agreement with the results obtained by Chehri *et al.* (2011).

#### CONCLUSIONS

Some characteristics, such as the thickness of chlamydospore walls, macroconidia morphology, type of conidiogenic cells and the presence or absence of septa in microconidia can be distinctive and useful for identifying *F. brachygibbosum*, *F. falciforme* and *F. oxysporum* that are pathogenic to watermelon plants grown in Sonora, Mexico. However, the identified morphologies need to be corroborated through molecular analysis.

------ End of the English version ------

macroconidios, el tipo de células conidiógenas y la presencia o ausencia de septos en microconidios pueden ser distintivas y de utilidad en la identificación de *F. brachygibbosum, F. falciforme* y *F. oxysporum,* patogénicas en plantas de sandía en cultivos localizados en Sonora, México. No obstante, es necesario que la identificación morfológica sea corroborada con un análisis molecular.

### LITERATURA CITADA

- Al-Mahmooli IH, Al-Bahri YS, Al-Sadi AM and Deadman ML. 2013. First report of *Euphorbia larica* dieback caused by *Fusarium brachygibbosum* in Oman. Plant Disease 97(5): 687. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-12-0828-PDN
- Al-Sadi AM, Al-Jabri AH, Al-Mazroui SS and Al-Mahmooli IH. 2012. Characterization and pathogenicity of fungi and oomycetes associated with root diseases of date palms in Oman. Crop Protection 37(1): 1-6. https://doi. org/10.1016/j.cropro.2012.02.01Boughalleb N, Armengol J and Mahjoub, ME. 2005. Detection of races 1 and 2 of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* and their distribution in watermelon fields in Tunisia. Journal of Phytopathology 153:162-168. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.00947.x
- Cao S, Yang N, Zhao C, Liu J, Han C and Wu X. 2018. Diversity of *Fusarium* species associated with root rot of sugar beet in China. Journal of General Plant Pathology 1-9. https://doi.org/10.1007/s10327-018-0792-5
- Chehri K, Salleh B, Yli-Mattila T, Reddy KRN, Abbasi S. 2011. Molecular characterization of pathogenic *Fusa-rium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran. Saudi Journal of Biological Sciences.18(4):341-351. doi:10.1016/j.sjbs.2011.01.007.
- Chehri K, Salleh B and Zakaria L. 2015. Morphological and phylogenetic analysis of *Fusarium solani* species complex in Malaysia. Microbial ecology. 69(3): 457-471. DOI 10.1007/s00248-014-0494-2
- Egel DS and Martyn RD. 2007. Fusarium wilt of watermelon and other cucurbits. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2007-0122-01
- Fisher NL, Burgess LW, Toussoun TA and Nelson PE. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology 72:151-153. DOI: 10.1094/Phyto-72-151
- Gashgari R, Gherbawy Y, Ameen F and Alsharari S. 2016. Molecular characterization and analysis of antimicrobial activity of endophytic fungi from medicinal plants in Saudi Arabia. Jundishapur Journal of Microbiology 9(1): e26157. DOI: 10.5812/jjm.26157
- Ismail MA, Abdel-Hafez SI, Hussein N A and Abdel-Hameed NA. 2015. Contributions to the genus Fusarium in Egypt with dichotomous keys for identification of species. 1<sup>st</sup> ed. Tmkarpiński Publisher Suchy Las, Poland. 179 pp. Disponible en línea: https://www.researchgate. net/profile/Mady\_Ismail/publication/321344925\_FU-SARIUM\_IN\_EGYPT\_WITH\_DICHOTOMOUS\_ KEYS\_FOR\_IDENTIFICATION\_OF\_SPECIES\_Contributions\_to\_the\_genus\_Fusarium\_in\_Egypt\_with\_ dichotomous\_keys\_for\_identification\_of\_species/ links/5a1de0980f7e9b9d5effb25e/FUSARIUM-IN-EGYPT-WITH-DICHOTOMOUS-KEYS-FOR-IDEN-TIFICATION-OF-SPECIES-Contributions-to-the-genus-Fusarium-in-Egypt-with-dichotomous-keys-for-identification-of-species.pdf
- Kleczewski NM and Egel DS. 2011. A diagnostic guide for Fusarium wilt of watermelon. Plant Health Progress. doi:10.1094/PHP-2011-1129-01-DG

- Klotz LV, Nelson PE and Toussoun TA. 1988. A medium for enhancement of chlamydospores formation in *Fusarium* species. Mycologia 80:108-109. DOI: 10.2307/3807500
- Leslie JF, Zeller KA and Summerell BA. 2001. Icebergs and species in populations of Fusarium. Physiological and Molecular Plant Pathology 59(3):107-117. doi:10.1006/ pmpp.2001.0351,
- Leslie JF and Summerell BA. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. 1<sup>st</sup> ed. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, London. Victoria, Australia. 388 pp.
- Mehl HL and Epstein L. 2007. Identification of *Fusarium* solani f. sp. cucurbitae race 1 and race 2 with PCR and production of disease-free pumpkin seeds. Plant Disease 91(10):1288-1292. https://doi.org/10.1094/PDIS-91-10-1288
- Mirhosseini HA, Babaeizad V and Hashemi L. 2014. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing leaf spot on oleander in Iran. Journal of Plant Pathology. 96(2): 431-439. DOI: http://dx.doi.org/10.4454/JPP.V96I2.002
- Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO (1983) Fusarium species: An Illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press. University Park. 193 pp.
- Padwick GW. 1945. Notes on Indian fungi III. Mycological Papers. 12:1-15.
- Rentería-Martínez ME., Meza-Moller A, Guerra-Camacho MA, Romo-Tamayo F, Ochoa-Meza A and Moreno-Salazar SF. 2015. First report of watermelon wilting caused by *Fusarium brachygibbosum* in Sonora, Mexico. Plant Disease 99(5):729. https://doi.org/10.1094/PDIS-10-14-1073-PDN
- Rentería-Martínez ME, Guerra-Camacho MA, Ochoa-Meza A, Moreno-Salazar SF, Varela-Romero A, Gutiérrez-Millán LE, and Meza-Moller AC. 2018. Multilocus phylogenetic analysis of fungal complex associated with root rot watermelon in Sonora, Mexico. Mexican Journal of Phytopatholgy. 36(2):233-255. DOI: http://dx.doi.org/10.18781/R. MEX.FIT.1710-1
- Rna AG, Babikar A, Dagash Y, Elhussein AA, Elhalim TSA and Babikar AGT. 2014. *Fusarium brachygibbosum* a plausible candidate for deployment as a bioagent for *Striga hermonthica* management in Sorghum. Third Conference of Pests Management in Sudan February 3-4, 2014 CPRC-ARC, Wad Medani (Sudan). http://www.arc-cprc. sd/weedscience.pdf
- Shan LY, Cui WY, Zhang DD, Zhang J, Ma NN, Bao YM, Dai XF and Guo W. 2017. First report of *Fusarium* brachygibbosum causing maize stalk rot in China. Plant Disease 101(5): 837. https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1465-PDN
- Smith, SN. 2007. An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. Plant Pathology Bulletin 16:97-120. http://140.112.183.156/pdf/16-3/p097-120. pdf
- Stack AJ, Yaghmour MA, Kirkpatrick SC, Gordon TR and Bostock RM. 2017. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing cankers in cold-stored, bare-root propagated almond trees in California. Plant Disease 101(2): 390-390. https://doi.org/10.1094/PDIS-06-16-0929-PDN

- Summerbell RC and Schroers HJ. 2002. Analysis of phylogenetic relationship of *Cylindrocarpon lichenicola* and *Acremonium falciforme* to the *Fusarium solani* species complex and a review of similarities in the spectrum of opportunistic infections caused by these fungi. Journal of Clinical Microbiology. 40(8): 2866-2875. doi:10.1128/ JCM.40.8.2866-2875.2002
- Tan DC, Flematti GR, Ghisalberti EL, Sivasithamparam K, Chakraborty S, Obanor F and Barbetti, MJ. 2011. Mycotoxins produced by *Fusarium* species associated with annual legume pastures and 'sheep feed refusal disorders' in Western Australia. Mycotoxin research 27(2):123-135. doi: 10.1007/s12550-010-0085-0
- Trabelsi R, Sellami H, Gharbi Y, Krid S, Cheffi M, Kammoun S, Dammak M, Mseddi A, Gdoura R and Ali TM. 2017. Morphological and molecular characterization of *Fusa-rium* spp. associated with olive trees dieback in Tunisia. Biotech 7:28. https://doi.org/10.1007/s13205-016-0587-3

- Turóczi GV, Posta K, Badenszky L and Bán R. 2011. *Fusarium* wilt of water melon caused by *Fusarium solani* in Hungary. Plant Breeding and Seeds Science 63:23-28. DOI: 10.2478/v10129-011-0012-3
- Xia B, Hu J, Zhu X, Liang Y, Ren X, Wu Y and Chen D. 2018. First report of sunflower broomrape wilt caused by *Fusarium brachygibbosum* in China. Plant Disease (Accepted) https://doi.org/10.1094/PDIS-12-17-1939-PDN
- Zhang M, Xu JH, Liu G, Yao XF, Li PF and Yang XP. 2014. Characterization of the watermelon seedling infection process by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Plant Pathology. 64:1076-1084. https://doi.org/10.1111/ppa.12355
- Zhou XG, Everts KL and Bruton BD. 2010. Race 3, a new and highly virulent race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing *Fusarium* wilt in watermelon. Plant Disease 94(1):92-98. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-1-0092