



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

FITOPATOLOGÍA

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE *Fusarium* CAUSANTES DEL TIZÓN DE LA ESPIGA DEL TRIGO EN EL NOROESTE DE MÉXICO

EDITH LUNA MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2018

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE
LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTO DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que se ha obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Edith Luna Martínez**, Alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del profesor **Dr. Cristian Nava Díaz**, por lo que le otorgo los derechos de autor de mis tesis **Caracterización morfológica y molecular de especies de *Fusarium* causantes del tizón de la espiga del trigo en el noroeste de México** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de exportación comercial de dichos productor a favor de esta Institución.

Montecillo, Municipio de Texcoco, Edo. de México, a 3 de agosto de 2018.



Firma del Alumno (a)



Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: Caracterización morfológica y molecular de especies de *Fusarium* causantes del tizón de la espiga del trigo en el noroeste de México realizada por la alumna: Edith Luna Martínez bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

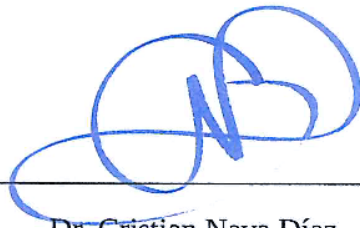
MAESTRA EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



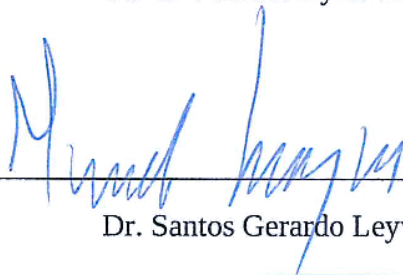
Dr. Cristian Nava Díaz

ASESORA



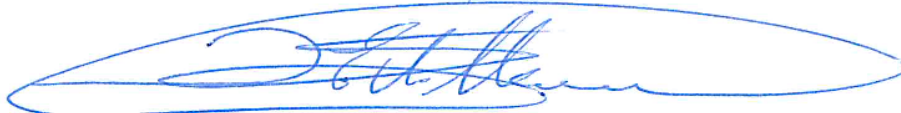
M. C. Victoria Ayala Escobar

ASESOR



Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

ASESOR



Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir

Montecillo, Texcoco, Estado de México, septiembre de 2018

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE
Fusarium CAUSANTES DEL TIZÓN DE LA ESPIGA DEL TRIGO EN EL
NOROESTE DE MÉXICO**

**Edith Luna Martínez, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018**

RESUMEN

El trigo es fuente importante de alimento. Este cultivo se ubica entre los tres principales cereales de producción a nivel mundial con el maíz y el arroz. En México sobresalen los estados de Sonora con 305, 835 Ha sembrada, de trigo Baja California con 84, 735 Ha, Sinaloa con 62, 542 Ha, Guanajuato con 55, 140 Ha, Tlaxcala con 33, 519 Ha. La fusariosis de la espiga (FHB), también llamado tizón de la espiga, es una enfermedad fúngica importante que afecta varias gramíneas como el trigo (*Triticum aestivum* L.) y cebada (*Hordeum vulgare* L.). Esta enfermedad se presenta en gran parte del mundo y se asocia con varias especies de *Fusarium* incluyendo a *F. graminearum*. Este patógeno plantea una doble amenaza a los cereales: (i) una reducción significativa de calidad de la semilla y rendimiento del grano, y (ii) contaminación con estrogénicos y micotoxinas como tricotecenos, lo que hace inadecuado el grano para la alimentación humana o animal. Los objetivos de esta investigación fue conocer la diversidad de especies de *Fusarium* presentes en el trigo en el Noroeste de México y determinar el quimiotipo de tricotecenos presentes. En los estados de Baja California, Sinaloa y Sonora se encontraron las siguientes especies asociadas a la espiga de trigo; FFSC: *F. circinatum*, *F. temperatum*, *F. proliferatum* y *F. nygamai*; FCSC: *F. nelsonii*, FO SC: *F. oxysporum*, FIESC: *F. incarnatum*. En Guanajuato las especies predominantes fueron FSAMSC: *F. boothii* y *F. sporotrichioides*, FIESC: *F. equiseti* y FTSC: *F. avenaceum*. En los estados de Baja California, Sinaloa y Sonora no se detectó la enfermedad.

Palabras clave: *Fusarium*, factor de elongación, tizón de la espiga.

**MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF FUSARIUM
SPECIES CAUSANTS OF THE TIGON OF THE WHEAT SPIGE IN THE
NORTHWEST OF MEXICO**

**Edith Luna Martínez, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018**

ABSTRACT

Wheat is an important staple food. This crop is one of the three main cereals worldwide along with corn and rice. In Mexico, Sonora grows 305, 835 ha of wheat Baja California 84, 735 Ha, Sinaloa 62, 542 Ha, Guanajuato 55, 140 Ha, Tlaxcala 33, 519 Ha. *Fusarium* head blight (FHB), also called spike blight, is an important fungal disease that affects several graminea such as wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.). This disease occurs in most of the world and it is associated to several species of *Fusarium* including *F. graminearum*. This pathogen represents a double threat to cereals: (i) a significant reduction in seed quality and grain yield, and (ii) contamination with estrogens and mycotoxins such as trichothecenes, which makes the grain unsuitable for human or animal consumption. . The goals of this research were to know the diversity of *Fusarium* species present in wheat in Northwest Mexico and determine the chemotype of trichothecenes present. In the states of Baja California, Sinaloa and Sonora, the following species were found associated to FHB; FFSC: *F. circinatum*, *F. temperatum*, *F. proliferatum* and *F. nygamai*; FCSC: *F. nelsonii*, FO SC: *F. oxysporum*, FIESC; *F. incarnatum*. In Guanajuato the predominant species were FSAMSC: *F. boothii* and *F. poae*, FIESC: *F. equiseti* and FTSC: *F. avenaceum*. In the states of Baja California, Sinaloa and Sonora the disease was not detected.

Keywords: *Fusarium*, elongation factor, spike blight

DEDICATORIA

A mis Padres Hilarión Reyes Luna y Tranquilina Martínez por su amor y cariño, gracias a mi Padre por cada minuto que me lo dedico y por inculcarme valores. A mi Madre por tu apoyo incondicional y por querer a mis hijos más que a nadie.

A mis hijos Ramiro y Jazmín por su paciencia y por todo el tiempo que hemos estado separados. Los amo mucho con todo el corazón.

A mis hermanos Juan, Remedios, Eusebio, Camilo, Obdulia y Daniel, y a toda la familia cuñadas y sobrinos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados, han financiado parte de mi formación.

Al Dr. Cristian Nava Díaz gracias por su apoyo incondicional, por ser un gran consejero y amigo. Por esas palabras que siempre me motivaban para ser mejor.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir por todo el conocimiento dado y por la confianza que deposito en mí para colaborar con este trabajo. Por su apoyo y calidad humana.

Al Dr. Eduardo Villaseñor Mir por su disponibilidad y atención a mi trabajo. Por su participación en mi formación.

A la M.C Victoria Ayala Escobar por ser parte de mi comité y por todas sus atenciones. Gracias por ser una gran persona y un ejemplo de superación seguir

Al Dr. Todd J. Ward por colaboración y al Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA).

Al M.C. César Martín Armenta Castro investigador del Campo Experimental Norman E. Borlaug-INIFAP de Sonora por toda las facilidades para el muestreo en Sonora.

Al ign. Javier Valenzuela Valenzuela, ing. Clara Neyoy Laurean y al ing. Manuel Islas Ayón de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Carrizo, al M. C. Jaime Macías Cervantes por todo su apoyo para hacer el muestreo en el estado de Sinaloa.

A todos mis compañeros de generación por compartir gratos momentos en mi estancia de maestría y a los del Colegio de Posgraduados.

CONTENIDO

PÁGINA

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
Importancia del cultivo	1
OBJETIVO GENERAL	2
OBJETIVOS PARTICULARES	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Fusariosis o tizón de la espiga	3
Ciclo de la enfermedad y epidemiología de la enfermedad	5
Agentes causales	7
Diagnóstico	8
Manejo de la enfermedad	10
Resistencia	11
Manejo del cultivo	12
Rotación de cultivos.....	12
Sistema de labranza.....	13
Control	13
Control químico	13
Control biológico	14
Taxonomía del género <i>Fusarium</i>	15
Estado taxonómico actual del género <i>Fusarium</i>	16
Identificación de especies de <i>Fusarium</i>	21
Caracterización morfológica	23
Identificación molecular	27
Micotoxinas en <i>Fusarium</i>	29

Tricotecenos	31
LITERATURA CITADA	35
CAPÍTULO I. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LAS ESPECIES DE <i>Fusarium</i> CAUSANTES DEL TIZÓN DE LA ESPIGA EN TRIGO EN EN EL NORESTE DE MÉXICO	45
1.1 RESUMEN.....	45
1.2 ABSTRACT	46
1.3 INTRODUCCIÓN.....	47
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
1.4.1 Zona de estudio	48
1.4.2 Aislamiento y purificación.....	52
1.4.3 Identificación molecular de los aislados	52
1.4.4 Identificación cultural y morfológica.....	53
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
1.5.1 Síntomas colectados en campo	54
1.5.2 Identificación molecular	55
1.5.3 Análisis filogenético	61
1.5.4 Descripción de las especies.....	65
CONCLUSIONES.....	77
LITERATURA CITADA	78

LISTA DE CUADROS

REVISIÓN DE LITERATURA

Cuadro 1. Principales micotoxinas producidas las especies de <i>Fusarium</i> causantes del tizón de la espiga en trigo, Desjardins, 2006.....	30
--	----

CAPÍTULO I. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LAS ESPECIES DE *Fusarium* CAUSANTES DEL TIZÓN DE LA ESPIGA EN TRIGO EN EL NORESTE DE MÉXICO

Cuadro 1.1. Diversidad de especies de <i>Fusarium</i> de la espiga en trigo en cuatro estados de México.....	57
---	----

LISTA DE FIGURAS

REVISIÓN DE LITERATURA

- Figura 1.** El ciclo de vida de *F. graminearum* (fase sexual, *G. zeae*), agente causal del tizón de la espiga en el trigo. Tomado de Trail, F. 2009. For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era. Update on the *Fusarium graminearum* Genome. Plant Physiol. Vol. 149. 7
- Figura 2.** Caracterización morfológica de *Fusarium*.. 26

CAPÍTULO I. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LAS ESPECIES DE *Fusarium* CAUSANTES DEL TIZÓN DE LA ESPIGA EN TRIGO EN EL NORESTE DE MÉXICO

- Figura 1.1.** Síntomas colectados en campo. A) Trigo en estado lechoso. B-D) Espigas pequeñas con aristas deformes. 54
- Figura 1.2.** A) y B) Granos de trigo colectados en la región Noreste de México arrugados y asperos. 55
- Figura 1.3.** Distribución de frecuencias de las especies de *Fusarium* asociados a la espiga de trigo de la Región Noreste (Baja California, Sonora y Sinaloa) y Guanajuato aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017. 56
- Figura 1.4.** Distribución de frecuencias de los complejos de *Fusarium* presentes en la espiga de trigo en cuatro estados de la República Mexicana aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017. 57
- Figura 1.5.** Distribución de frecuencias de las especies de *Fusarium* asociados a la espiga de trigo en 4 estados de la República Mexicana aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017. 58
- Figura 1.6.** Distribución de frecuencias de las Complejo de especies de *Fusarium* asociados a la espiga de trigo en 4 estados de la República Mexicana aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017. 59
- Figura 1.7. continuación.** Análisis filogenético de 62 aislados de *Fusarium* de la espiga en trigo de cuatro estados de la República Mexicana. La historia evolutiva de las

especies fue inferida por el método de UPGMA. El análisis se llevó a cabo en MEGA 7.0 analizando 273 nucleótidos codificantes para el gen EF-1 α	63
Figura 1.8. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. circinatum</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios a 100x y D) Macroconidios a 40x de 7 días en medio SNA.	65
Figura 1.9. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. oxysporum</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) y D) Macroconidios y microconidios a 100x de 7 días de crecimiento en medio SNA.....	66
Figura 1.10. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. boothii</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso C) Macroconidios a 40x y D) Macroconidios a 100x de 7 días en medio SNA.....	67
Figura 1.11. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. temperatum</i> A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Esporodoquis sobre papel filtro y D) Conidios de 7 días en medio SNA.	68
Figura 1.12. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. equiseti</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) y D) Macroconidios a 100x de 7 días en medio SNA.....	69
Figura 1.13. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. scirpi</i> A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios y microconidios a 40x y D) Macro y micro a 100x en medio SNA.	70
Figura 1.14. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. proliferatum</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso.....	71
Figura 1.15. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. incarnatum</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) y D) Macroconidios a 40x de 7 días en medio SNA.....	72
Figura 1.16. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. nygamai</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios a 40x y D) Macroconidios y microconidios a 40x, 7 días en medio SNA.	73
Figura 1.17. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. sporotrichioides</i> . A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Microconidios a 100x y D) Microconidios, mesoconidios y macroconidios de 7 días en medio SNA.	74
Figura 1.18. Caracterización cultural y morfológica de <i>F. avenaceum</i> . A) Colonia en medio PDA lado anverso. B) Colonia en PDA lado reverso. C) Macroconidios y microconidios a 40x y D) Macroconidios a 100x de 7 días en medio SNA	75

Figura 1.19. Caracterización cultural y morfológica de *F. nelsonii*. A) Colonia en medio PDA lado anverso. B Colonia en PDA lado reverso. C) Macroconidios a 100x y D) Macroconidios y microconidios a 100x, 7 días en medio SNA..... 76

INTRODUCCIÓN

El trigo es uno de los tres granos más ampliamente cultivados a nivel mundial con el maíz y el arroz. El trigo contiene los cinco nutrientes esenciales: carbohidratos, proteínas, grasas, minerales y vitaminas, y forma parte de la dieta básica del pueblo mexicano en forma de pan, galletas, pasteles, pastas, hojuelas y tortillas entre otros (SAGARPA, 2015).

Este cultivo fue introducido a México en el siglo XVI durante la conquista española. Puebla fue el primer estado en donde se sembró, inclusive se le llegó a denominar como el granero de la Ciudad de México. Las siembras avanzaron hacia la zona norte y con la generación de nuevos asentamientos humanos se permitió la expansión de este cereal. Actualmente en México se destina 589 mil hectáreas a la siembra de trigo de las cuales obtiene una producción de 3 millones 200 mil toneladas, con un rendimiento promedio de 5.6 Mg/ha. Los estados que sobresalen en la producción de este cereal son: Sonora, Baja California, Guanajuato, Tlaxcala, Michoacán y Chihuahua (SIAP, 2014). En el ciclo otoño-invierno 2016-2017: Sonora, Baja California, Guanajuato y Sinaloa sumaron en conjunto el 82.9 % de la producción nacional (SIAP, 2017).

Importancia del cultivo

El trigo ocupó tercer sitio en cuanto a producción en el 2012, con 713 183 miles de toneladas después del maíz con 1 016 740 y el arroz con 745 710 toneladas a nivel mundial (FAOSTAT, 2015). Los tres principales países productores son China, con 16 % de la producción mundial (96 millones de toneladas), India con el 12 % y Estados Unidos de Norteamérica, con el 9 %, seguidos por Rusia, Francia, Canadá, Alemania, Australia, Pakistán, Turquía y Ucrania (Ramos, 2013).

Entre las principales enfermedades se encuentran la roya de la hoja (*Puccinia recondita* Roberge), roya del tallo (*P. graminis* f.sp. *tritici* Erikss. y Henning), roya lineal (*P. striiformis* Westend.), carbones común y enano (*Tilletia caries* (DC.) Tul. y C. Tul., *T. foetida* (Wallr.) Liro, *T. controversa* J.G. Kühn, Hedwigia), carbón parcial (*T. indica* Mitra), cenicilla (*Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* É.J. Marchal), mancha foliares (*Septoria tritici* Desm., *S. nodorum* (Berk.) Berk., *S. avenae* A.B. Frank), tizón foliar (*Helminthosporium* spp.), tizón de la hoja por *Alternaria* (*A. triticina* Prasada y Prabhu), tizón de la espiga (*Fusarium* spp. Link), ergot (*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.), pudrición de la raíz (*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn) y tizón sureño (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) (Prescott *et al.*, 1986). El trigo y otros cereales de grano pequeño pueden ser atacados en diferentes órganos de la planta por una amplia gama de especies de *Fusarium*. (Reyes, 2012). Este patógeno plantea una doble amenaza a los cereales: (i) una reducción significativa de calidad de la semilla y rendimiento del grano, y (ii) contaminación con estrogénicos y micotoxinas como tricotecenos, lo que hace inadecuado para la alimentación humana o animal (Proctor, 1995, O'Donnell *et al.*, 2000). El Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y el Trigo (CIMMYT) ha identificado el tizón de la espiga como un factor importante que limita la producción de trigo en muchas partes del mundo (Xu, 2003). En nuestro país existen trabajos encaminados a determinar las especies de *Fusarium* y las toxinas que producen (Cerón, 2015). Sin embargo, estas investigaciones se han centrado en la parte sur y centro de nuestro país. Es por ello que se planteó el presente trabajo con los siguientes objetivos

OBJETIVO GENERAL

Conocer la diversidad de especies de *Fusarium* causantes del tizón de la espiga del trigo en el Noroeste de México y determinar el quimiotipo de tricotecenos presentes.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Aislar e identificar morfológica y molecularmente las especies de *Fusarium* causantes del tizón de la espiga del trigo en el Noroeste del país, incluyendo los estados de Baja California, Sinaloa y Sonora y Guanajuato.
- Analizar las relaciones filogenéticas entre la población de especies de *Fusarium* presentes en la espiga del trigo en México.

HIPÓTESIS

La variación en clima, región y variedades de trigo presentes en México nos hace pensar que más de una especie de *Fusarium* está ocasionando el síntoma de tizón de la espiga del trigo en la región Noreste de nuestro país. Esta diversidad de especies puede ser diferenciada por características patogénicas, morfológicas, morfométricas, moleculares y quimiotípicas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Fusariosis o tizón de la espiga

La fusariosis, sarna o tizón de la espiga (*Fusarium* head blight, FHB), es una enfermedad económicamente devastadora de los cultivos de cereales. Afecta a todos los cereales de grano pequeño: el trigo (*Triticum* spp.), cebada (*Hordeum vulgare*), centeno (*Secale cereale*), avena (*Avena sativa*) y triticale (x *Triticosecale*). La mayoría de las pérdidas económicas ocurren en la producción de trigo y cebada (Wegulo *et al.*, 2008). En los últimos 15 años, el FHB alcanzó niveles epidémicos en América del Norte, resultando en pérdidas de trigo y cebada de los Estados Unidos de Norteamérica de casi \$ 3 mil millones de dólares (Windels, 2000, Starkey *et al.*, 2007). El primer registro de la enfermedad fue hecho en Inglaterra por Smith en 1884 (Parry *et al.*, 1995). *Fusarium gramineum* es el principal agente causal, el cual es un parásito

facultativo. En México, esta enfermedad se observó en 1977 en el área del Altiplano de Jalisco, aunque en esa ocasión no se precisó la especie del patógeno responsable (Ireta y Gilchrist, 1994). Además de causar daño a las espigas, también puede infectar las raíces y corona ya que a menudo es transmitido por el suelo, causando pudriciones de la raíz y la corona (Wegulo *et al.*, 2008).

Los primeros síntomas del tizón de la espiga ocurren poco tiempo después de la floración. Las espiguillas enfermas muestran blanqueamiento prematuro a medida que el patógeno crece y se disemina dentro de la espiga. Una o más espiguillas ubicadas en la parte superior, media o inferior de la espiga pueden blanquearse. También puede infectar el tallo debajo de la espiga causando una coloración marrón. En un ambiente cálido y húmedo, pueden aparecer agregaciones de esporas de color rosa-salmón en el raquis y en las glumas de espiguillas individuales. Más adelante aparecen peritecios negros azulados en la superficie de las espiguillas afectadas. A medida que los síntomas progresan, el hongo coloniza el grano en desarrollo causando que se encoja y se arrugue dentro de la espiga. Con frecuencia, los granos infectados tienen una apariencia áspera y arrugada, que varía de rosa, gris claro a marrón claro (McMullen *et al.*, 2008, Schmale y Bergstrom, 2003). Los granos infectados de trigo duro pierden su translucidez ambarina y se tornan opacos (McMullen *et al.*, 2008).

La combinación de factores que puede conducir a tener mayores pérdidas de rendimiento y calidad: abundante inóculo, períodos prolongados o repetidos de humedad y alta humedad durante la floración y el desarrollo del grano, y el uso de un cultivar susceptible (McMullen *et al.*, 2008).

Ciclo de la enfermedad y epidemiología de la enfermedad

La naturaleza del inóculo inicial de *Fusarium* se encuentra en el suelo o restos de trigo, que sobrevive como peritecios inmaduros, micelio saprofítico o como clamidosporas en reposo de paredes gruesas, depende de la especie. Este inóculo puede resultar en la infección de plántulas causando la muerte. Durante la antesis y el período de desarrollo temprano de la semilla, los conidios o ascosporas transportados por el aire pueden infectar las espiguillas y en desarrollo del tizón (Xu, 2003). La mayoría de las especies de *Fusarium* se propagan por dispersión de conidios que son dispersados o salpicado a nuevos hospedantes. La producción de conidios está fuertemente influenciada por la temperatura y la humedad (Xu, 2003, Yuen y Schoneweis, 2007).

Entre las especies que causan FEB, *F. graminearum* tiene una ventaja epidemiológica porque forma abundantes peritecios (*Gibberella zeae*) que conservan su viabilidad hasta 16 meses y son abundantes en primavera. Las condiciones cálidas y húmedas son favorables para su maduración (Markell y Francl, 2003, Shah *et al.*, 2017) favoreciendo la producción de ascosporas. La producción de ascosporas parece depender críticamente de la humedad del suelo. Cuando el contenido de humedad del suelo es inferior al 30 %, no hay producción de ascosporas y cuando es superior al 80 % la producción es máxima. Las temperaturas mínimas y óptimas para la producción de ascosporas son 7-10 °C y 15-20 °C, respectivamente (Xu, 2003). Brown *et al.*, (2001) obtuvo una cepa genéticamente modificada de *G. zeae* mediante la supresión de todo el locus MAT, que controla la reproducción sexual. Las inoculaciones de campo mostraron que la cepa modificada produjo menos incidencia de la enfermedad y menos tricotecenos que la cepa silvestre, lo que indica que las ascosporas juegan un papel importante en el desarrollo de las epidemias de la FEB y la producción de micotoxinas asociadas (Xu, 2003).

Las ascosporas son descargadas con fuerza en el aire, lo que aumenta considerablemente la distancia de dispersión (Xu, 2003). Las ascosporas de *F. graminearum* que aterrizan en un florete comienza la infección siempre que el flósculo esté en antesis. *F. graminearum* puede infectar los tejidos de espiga desde la antesis hasta las últimas etapas del desarrollo del grano (Del Ponte *et al.*, 2007, Shah *et al.*, 2017). El hongo requiere una película de agua en la superficie del flósculo para la germinación de ascosporas y temperaturas de 20 a 30 °C para el crecimiento de hifas. Dadas estas condiciones, las hifas pueden penetrar directamente en los tejidos de la gluma o entrar en el florete a través del canal estigmático y eventualmente invadir el ovario. A partir de esta infección, el hongo puede extenderse a las espiguillas superiores e inferiores en la misma espiga al crecer a través del raquis. El trigo generalmente florece durante un período de diez días. La supresión de las infecciones iniciales y la propagación de hifas en las espigas durante este período de susceptibilidad es el objetivo de la resistencia actual y las estrategias químicas y biológicas de control de la enfermedad (Yuen y Schoneweis, 2007).

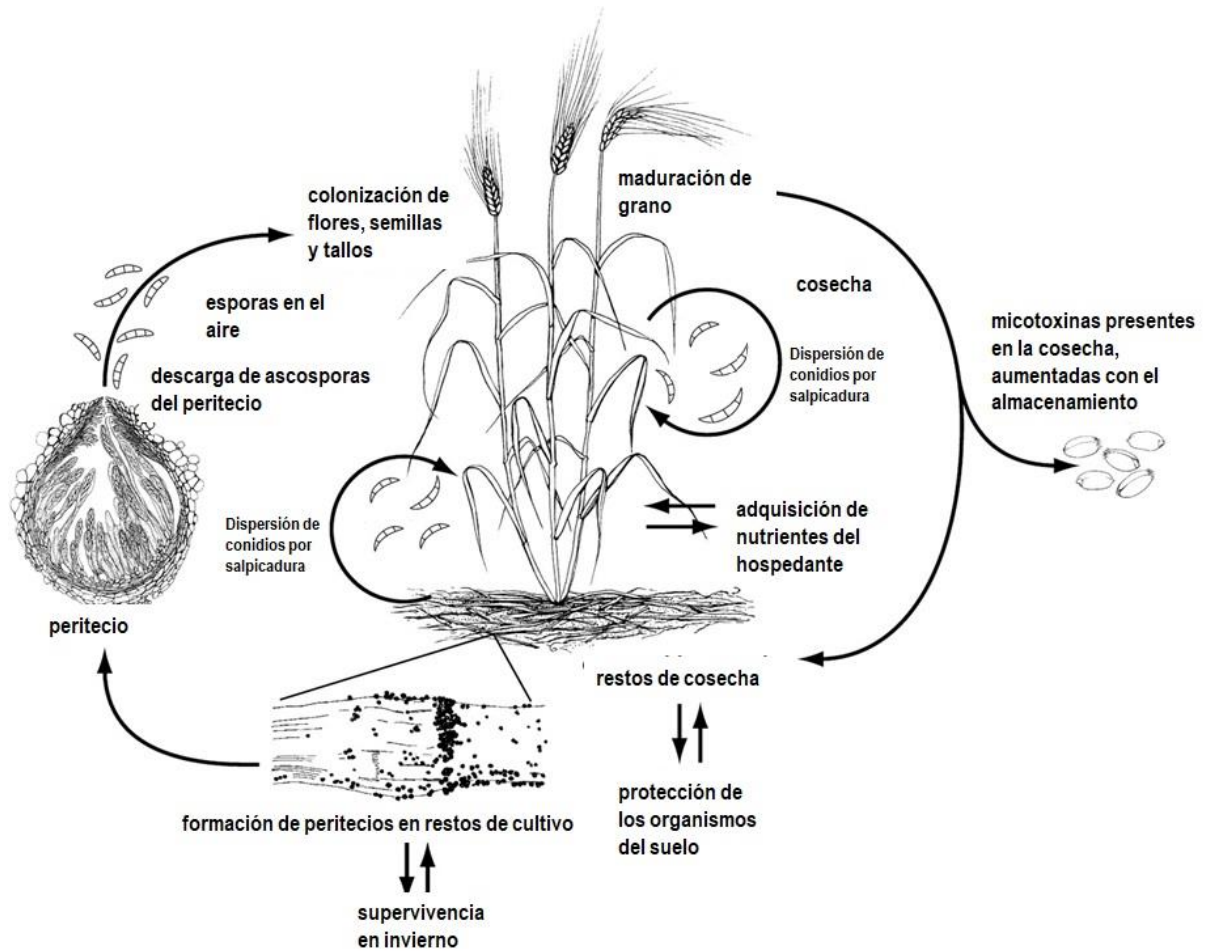


Figura 1. El ciclo de vida de *F. graminearum* (fase sexual, *G. zeae*), agente causal del tizón de la espiga en el trigo. Tomado de Trail, F. 2009. For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era. Update on the *Fusarium graminearum* Genome. Plant Physiol. Vol. 149. Downloaded from on May 31, 2018 - Published by www.plantphysiol.org Copyright © 2009 American Society of Plant Biologists. All rights reserved.

Agentes causales

Fusarium es el agente causal de las enfermedades más destructivas en cereales cultivados a nivel mundial (Snyder y Hansen, 1940, Ma *et al.*, 2013). En una encuesta reciente entre la comunidad internacional de fitopatólogos, dos especies de *Fusarium*: *F. graminearum* y *F. oxysporum* se ubicaron en cuarto y quinto lugar, respectivamente, en la lista de los 10 hongos patógenos más importantes de plantas (Dean *et al.*, 2012).

Los principales agentes causales del tizón de la espiga son *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *Microdochium nivale* var. *nivale* y var. *majus* (Xu, 2003, McMullen *et al.*, 2008). La distribución y dominancia de estos patógenos están en gran medida determinado por parámetros climáticos, particularmente temperatura y humedad. *F. graminearum* y *F. culmorum* son las especies más comunes y virulentas. En regiones cálidas y húmedas *F. graminearum* predomina, en clima frío *F. culmorum*, mientras que en zonas marítimas más frescas se favorece a *M. nivale* (Parry *et al.*, 1995, Xu, 2003). También se han reportado *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. cerealis* Burgess, Nelson and Toussouns, *F. equiseti* (Corda) Sacc., *F. sporotrichioides* Sherb., *F. tricinctum* (Corda) Sacc., *F. acuminatum* Ell., *F. subglutinans* (Wollenw and Reinking) Nelson., *F. solani* (Martius) Apple y Wollenweber, *F. oxysporum* Schlecht. Emend., *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *F. semitectum* Berk. Rav. y *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg (Aoki *et al.*, 2014, Bottalico y Perrone, 2002).

Varias especies dentro del género *Fusarium* pueden causar FHB, las epidemias en Norteamérica son causadas por *F. graminearum* (O'Donnell *et al.*, 2000). Es la principal causa de Fusariosis de los cereales en todo el mundo, produce necrosis limitada, infecta los tejidos florales durante la antesis y se extiende a las flores no infectadas a través del eje central de la inflorescencia, daña los granos y los contamina con toxinas (Ma *et al.*, 2013).

Diagnóstico

Se inicia identificando los síntomas en campo si esto no es posible se revisa los granos buscando los síntomas descritos anteriormente. Los aislamientos se obtienen a partir del método de papel secante como lo describe Neergaar en 1977, técnica estandarizada por el Centro Nacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) (Warham *et al.*, 1997).

La identificación morfológica fue el carácter único de diagnóstico durante mucho tiempo antes de que llegaran las técnicas moleculares. Los caracteres morfológicos y fisiológicos de *Fusarium* pueden verse influenciados por temperatura, luz, humedad y medio de cultivo en que se establezca el aislamiento (Leslie y Summerell, 2006).

Con la era genómica se estandarizaron protocolos de identificación molecular como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y técnicas basadas en el uso de marcadores moleculares (Wang *et al.*, 2011). Un marcador molecular es un sitio dentro del genoma que permite evidenciar variación (polimorfismos) de la secuencia del ADN entre individuos. Dentro del género *Fusarium*, los marcadores moleculares han sido ampliamente utilizados para identificar especies que en un principio fueron descritas como una única morfoespecie. Marcadores como polimorfismos amplificados aleatoriamente (randomly amplified polymorphic RAPD), polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (amplified fragment length polymorphism AFLP), polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (restriction fragment length polymorphism RFLP), polimorfismos de nucleótido simple (single nucleotide polymorphism SNP) y el número variable de repeticiones en tándem (variable number of tandem repeat VNTR) por mencionar algunos, han sido extensivamente utilizados en el estudio de la diversidad genética (Wang *et al.*, 2011).

Los análisis de secuencias de ADN, ya sea directamente o como fragmentos de un protocolo de fraccionamiento de ADN genómico, se están volviendo comunes. Para análisis de la relación taxonómica entre especies se utilizan secuencias genómicas de uno o varios genes, por ejemplo, β -tubulina (tub-2), factor de elongación de traducción 1- α (tef-1), histona H3 o porciones del ribosomal nuclear o mitocondrial la región de codificación de ARN (Leslie y Summerell, 2006).

Para el caso particular del tizón de la espiga de trigo se estandarizaron dos metodologías para la identificación de especies: un análisis de concordancia genealógica para el reconocimiento de especies filogenéticas (Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition GCPSR) (Taylor *et al.*, 2000) y genotipificación multilocus (Multilocus Genotyping Test, MLGT) basado en el análisis de varios genes (Ward *et al.*, 2008). Estas utilizan los genes, factor de elongación(EF-1 α), α tubulina (α -TUB), β -tubulina (TUB2), histona H3 (HIS), reductasa (RED), 3- O tricoteceno acetiltransferasa (TRI), la región intergénica ITS/28S y los genes MAT (MAT1-1-3, MAT1-1-2, MAT1-1-1, y MAT1-2-1) (Taylor *et al.*, 2000, Ward *et al.*, 2008).

Manejo de la enfermedad

Como con todas las enfermedades de plantas, el FHB puede controlarse teóricamente usando alguna o todas estas estrategias generales: exclusión o cuarentena, resistencia del hospedante, fungicidas químicos, control biológico y prácticas culturales (Yuen and Schoneweis, 2007).

Existen varias estrategias para el manejo del FHB en la producción de granos pequeños. Su efectividad varía dependiendo de las condiciones ambientales durante la temporada de crecimiento, especialmente antes, durante y después de la floración, y la susceptibilidad del cultivar. Las prácticas culturales como el riego, cultivares resistentes o tolerantes a la plantación, control químico, control biológico, pronóstico de enfermedades y estrategias de cosecha que minimizan la pérdida de calidad del grano y reducen el DON. La integración de dos o más prácticas de gestión es más efectiva y, por lo tanto, recomendada (Wegulo *et al.*, 2015).

Resistencia

La interacción del huésped-patógeno está tipificada por una carrera evolutiva de armamentos en la que una especie desarrolla mecanismos contra otros para sobrevivir. Los hongos patógenos evolucionan más rápido que el hospedante y pueden evitar las barreras de resistencia de las plantas debido a los cambios de virulencia por mutaciones y la recombinación genética (Dweba *et al.*, 2016). Se han llevado a cabo desde la década de 1990 manipulación de genes que confieren resistencia a *F. graminearum* a través de diversas técnicas de fitomejoramiento y biotecnología, actualmente la investigación se centra en identificar y clonar los genes implicados en las respuestas de defensa, ya que se ha observado que cuando se modifican características arquitectónicas como altura de la planta, espigas con estigma corto y baja densidad de florete hay menos incidencia de la enfermedad (Yuen y Schoneweis, 2007, Dweba *et al.*, 2016).

Se han propuesto cinco mecanismos de resistencia al FHB: tipo I es la resistencia a la infección inicial, y el tipo II previene la propagación de la infección dentro de la espiga; tipo III es resistencia a la infección al grano; el tipo IV es tolerancia por lo que se mantienen los rendimientos y calidad del grano a pesar de la presencia de la enfermedad; y el tipo V es habilidad del huésped para degradar toxinas responsable de la virulencia (Gilbert y Tekauz, 2000). La resistencia de la planta hospedante integrada con otras prácticas de manejo será la estrategia de manejo más prometedora y efectiva para el control de FHB y otros hongos patógenos. Sin embargo, esta estrategia no garantiza una alta resistencia a FHB ya que la resistencia se romperá debido a los cambios de virulencia de *F. graminearum*. Por lo tanto, la estrategia integrada de manejo de enfermedades parece ser una opción adecuada (Dweba *et al.*, 2016).

El trigo duro (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) es una de las ocho subespecies de trigo tetraploide (AABB), y es mucho más susceptible a FHB que el trigo para pan hexaploide (AABBDD). Los productores han examinado las fuentes resistentes en varias subespecies de *T. turgidum*. El trigo silvestre (*T. turgidum* subsp. *dicoccoides*) ha sido el principal foco de resistencia alternativa al trigo tetraploide; sin embargo, los malos rasgos agronómicos han impedido su uso en programas de mejoramiento. La fuente de resistencia mejor caracterizada y más ampliamente utilizada en el trigo hexaploide es el cultivar chino, 'Sumai3' (Foroud y Eudes, 2009).

Manejo del cultivo

La contaminación de los granos y productos por micotoxinas comienza en el campo con la infección de la planta por *Fusarium*. La acumulación de micotoxinas a menudo ocurre durante el crecimiento del hongo en el campo. Por lo tanto, el control de estas toxinas depende principalmente de la reducción de la incidencia de infección de campo por los patógenos micotoxigénicos (Yuen y Schoneweis, 2007). Se recomienda la siembra escalonada de los cultivos de grano pequeño o los cultivares de siembra que difieren en días hasta la madurez; esto reduce el riesgo de la floración de toda la cosecha de un productor o de un llenado temprano de grano durante un período favorable para la infección por FHB (McMullen *et al.*, 2008). Los cultivares con períodos de floración más cortos pueden verse afectados menos severamente que aquellos con períodos de floración más largos (Wegulo *et al.*, 2015).

Rotación de cultivos

La rotación de cultivos es efectiva para reducir los niveles de FHB. Se debe considerar la rotación de cultivos gramínea-hoja ancha. El mayor riesgo de infección FHB es cuando los

granos pequeños se plantan en los residuos de granos pequeños infectados con FHB del año pasado o en los residuos de maíz del año pasado. Las especies de *Fusarium* que causan FHB (en particular, *F. graminearum*) también atacan el maíz, causan la pudrición del tallo, la raíz y la oreja, y sobreviven durante varios años en los residuos de maíz (Yuen y Schoneweis, 2007, McMullen *et al.*, 2008).

Sistema de labranza

Las prácticas de labranza que entierran los residuos reducen el potencial de inóculo, porque el hongo sobrevive mejor en los residuos que quedan en la superficie del suelo. En prácticas mínimas o sin labranza, la distribución y otros residuos puede permitir una descomposición más rápida de la paja, reduciendo el potencial de inóculo. Cortar o moler el residuo de maíz para reducir el tamaño de los trozos de tallo restantes también puede favorecer una desintegración más rápida del tejido infectado (Yuen y Schoneweis, 2007, McMullen *et al.*, 2008).

Control

Control químico

Los fungicidas han sido ampliamente empleados, proporcionando protección limitada contra la enfermedad, porque incluso los mejores fungicidas no son completamente efectivos para controlar el FHB. Se deben considerar estos factores que contribuyen a la efectividad de los fungicidas, (i) resistencia al cultivo, (ii) clima, (iii) rentabilidad económica o ganancia de rendimiento, (iv) tipo y dosis de fungicidas y (v) insumos de manejo, que en su vez, incluya el calendario y la frecuencia de la aplicación. Una serie de fungicidas que incluyen carbendazim, hexaconazol, mancozeb, benomil, procloraz, propiconazol, tebuconazol y triadimenol son útiles para el control de FHB. Sin embargo, ninguno de estos productos

químicos ha dado como resultado un control completo de FHB. El tebuconazol y captan podrían inhibir directamente el crecimiento del patógeno en el residuo de cosecha. Una estrategia alternativa para explotar los fungicidas activos contra *F. graminearum* sería aplicar los productos químicos justo antes de la floración para eliminar los peritecios (Yuen y Schoneweis, 2007, Dweba *et al.*, 2016).

Los estudios de aplicación han demostrado que el control de enfermedades con estos fungicidas mejora cuando se dirigen en un ángulo tanto hacia adelante como hacia atrás, o con boquillas individuales dirigidas hacia la espiga, todo en un ángulo de 30 grados horizontal. Hacer aplicaciones del fungicida puede reducir el daño y lograr reducciones en la severidad de 50% a 60 % cuando se aplican en el inicio de la floración en el trigo y el trigo duro, y la cebada. Los fungicidas triazólicos se recomiendan para la supresión de FHB porque son sistémicos localmente y se ha demostrado que reducen tanto el FHB como el DON (McMullen *et al.*, 2008).

Control biológico

El uso de agentes de control biológico es un método potencial para la reducción de *F. graminearum* y la producción asociada de toxinas por la naturaleza de la enfermedad, debido a que la infección ocurre solo en un corto periodo la floración (Xu y Nicholson, 2009 , Dweba *et al.*, 2016, Shah *et al.*, 2017). Las cepas de *Pseudomonas flourescens* MKB 158 y MKB 249, y la cepa 202 de *P. frederiksbergensis* redujeron la severidad de los síntomas de FHB y la contaminación de micotoxinas en trigo y cebada en más del 23% (Khan y Doohan, 2009). Sin embargo, aún no se ha logrado la erradicación completa y oportuna la enfermedad (Dweba *et al.*, 2016). *Bacillus*, *Streptomyces* y *Lysobacter* son candidatos por afectar la producción de ascosporas en peritecios por producir enzimas líticas y antibióticos además inhiben la esporulación de *F. graminearum* (Yuen y Schoneweis, 2007).

Taxonomía del género *Fusarium*

Fusarium derivado del latín *fusus* (huso), que describe las típicos conidios septados (macroconidios) producidas por la mayoría de las especies (Geiser *et al.*, 2013). La diversidad de especies sugiere que proviene de un antiguo grupo, siendo unos de los primeros en aparecer en la evolución de los Ascomycetos (Nelson, 2001).

La taxonomía de *Fusarium* ha sufrido una serie de cambios durante los últimos 100 años. La base de todos los sistemas taxonómicos modernos es el trabajo de Wollenweber y Reinking (1935), antes de esta publicación había alrededor de 1,000 especies de *Fusarium* descritas, frecuentemente una especie por hospedante. Wollenweber y Reinking (1935) proporcionó un sistema basado en 16 secciones, 65 especies y 77 variedades y formas infraespecíficas. El primer avance significativo en los estudios taxonómicos de *Fusarium*, titulado "Die Fusarien", fue publicado por Wollenweber y Reinking (1935) (Aoki *et al.*, 2014). Estaba en sección que contenía especies que estaban unidas por caracteres morfológicos críticos, por ejemplo, morfología macroconidial y pigmento. Bilai (1955), hizo los primeros trabajos que examinaron la variación de la colonia y caracteres fisiológicos se debe en respuesta a la temperatura, humedad y composición de los medios de cultivo donde crece la colonia. Ella mostró que el rango de variabilidad de algunas características en varias especies fue equivalente a la observada en secciones enteras del género y propuso una revisión de la taxonomía del género y la combinación de las secciones *Liseola* con *Elegans* y *Gibbosum* con *Discolor*. Estas combinaciones fueron criticadas por Nelson *et al.* 1981, pero ahora parecen más razonables de acuerdo a estudios filogenéticos. Booth durante 1960-1970 incluye claves para las secciones y especie de *Fusarium* en su publicación *The Genus Fusarium* (1971) donde se introduce el uso de la morfología de las células conidiógenas, especialmente las que producen los microconidios, como una característica de diagnóstico a nivel de especie. La morfología de

células conidiógenas es ahora esencial para distinguir algunas de las especies en las secciones *Liseola* y *Sporotrichiella* (Leslie y Summerell, 2006).

En 1983 Paul E. Nelson, T. A. Toussoun, y Walter F. O. Marasas publicaron un manual de identificación para *Fusarium*. Esta guía muy popular para el género combina información útil sobre el aislamiento y el cultivo, fotografías en color para distinguir la variación de pigmentación, y excelentes fotomicrografías de muchas especies. El volumen acompañante abarca micotoxinas, que recientemente ha sido actualizado por Desjardines en su obra *Fusarium mycotoxins: Chemistry, genetics and biology*, (2005) (Leslie y Summerell, 2006).

Estado taxonómico actual del género *Fusarium*

La mayoría de los investigadores de *Fusarium* utilizan actualmente porciones de dos sistemas como base para identificar especies de *Fusarium* y describir nuevos taxa. La mayoría de las especies aún se basan en conceptos morfológicos. La aplicación del concepto de especie biológica y filogenética a *Fusarium* ha comenzado y sin duda continuarán. Estos enfoques se han utilizado con mayor frecuencia para las especies cuyo estado ha sido cuestionado. Su aplicación ha reavivado muchas de las controversias que se han agitado discusiones de la taxonomía de *Fusarium* (Leslie y Summerelle, 2006). Estos enfoques han llevado a la separación clara de *F. graminearum* Grupos 1 y 2, en *F. graminearum* y *F. pseudograminearum*.

También se han adoptado taxones subspecíficos como *Formae speciales* comúnmente utilizada en *Fusarium*. Estos taxones distinguen las formas patogénicas de una especie particular en un hospedante que generalmente no son morfológicamente distinguibles (Leslie y Summerell, 2006). En algunos casos hay subdivisión adicional en razas fisiológicas o grupos de combatividad vegetativa (siglas en inglés VCG).

El concepto de especie varía mucho dentro del género. Conceptos de especie morfológica, especie biológica y especie filogenética todos tienen una contribución que hacer hacia un concepto de lo que es una especie en *Fusarium*. Los conceptos de especies fúngicas, en la práctica, han evolucionado desde estrictamente descripciones morfológicas, a través de la adopción del concepto de especie biológica, a una convocatoria de conceptos de especies basadas en la filogenia (Harrington y Rizzo, 1999, Leslie y Summerell, 2006). El concepto de especie biológica ha sido ampliamente aplicado en la sección de *Liseola* y proporcionó la génesis para la agrupación de algunas de las especies en *Gibberella* complejo *fujikuroi*. Las especies biológicas eran denominadas "poblaciones de apareamiento" de una especie morfológica (Leslie y Summerelle, 2006).

Los estudios más informativos sobre sistemática, genética de poblaciones y biología evolutiva de *Fusarium* son (i) aquellos que incorporan aislamientos de ecosistemas naturales, (ii) aquellos que se enfocan en aislamientos de poblaciones de hospedantes nativos y especies hermanas de hospedantes domesticados, o (iii) aquellos que evalúan aislamientos de campos atendidos por agricultores indígenas de subsistencia que puede haber conservado genotipos de patógenos de plantas antiguas dentro de las poblaciones de hospedantes y patógenos correspondientemente (Leslie y Summerelle, 2006). El concepto de especie ha cambiado, la especie debe compartir características morfológicas (especie morfológica), ser fértil con otros miembros del mismo grupo (especie biológica), provenir de un ancestro común (un filogenético especies) (Hawksworth, 2012). Los linajes estrictamente asexuales, por definición, no pueden acomodarse en un concepto de especie biológica. Dentro de *Fusarium*, los datos moleculares se han utilizado para ayuda a resolver grupos que luego se describieron como especies, con ayuda de caracteres morfológicos distintivos.

Actualmente se estima que *Fusarium* comprende al menos 300 especies filogenéticas. Sin embargo, menos de la mitad han sido descritas formalmente (Aoki *et al.*, 2014). Debido a los cambios en el nuevo Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Hongos y Plantas (ICNAFP) adoptado en el Congreso Botánico Internacional en Melbourne, Australia en 2011, no se permite la creación de nombres anamorfos y teleomorfos para *Fusarium* y otros hongos después de enero 1, 2013, y los nombres preexistentes de anamorfos y teleomorfos deben unificarse (Hawksworth 2012; Aoki *et al.*, 2014).

4.2 La clasificación de los complejos de especies

A partir del año 2011, por acuerdo del Código Internacional de Nomenclatura Botánica, se declaró como correcto y preferible el uso del nombre científico del teleomorfo en comparación al anamorfo (Artículo 59.1). Sin embargo para el caso de *Fusarium* el anamorfo es de uso extensivo, en parte porque el estado sexual de muchas de las especies es hasta ahora desconocido y/o raramente observado en campo, tanto así que sólo el 20% de los teleomorfos de las especies se conoce (Aoki *et al.*, 2014). Ante tal problemática y aunado a la aplicación de la biología molecular a la sistemática y taxonomía del género, en 2014 se propuso la denominación del anamorfo *Fusarium* como la más conveniente y correcta dentro de la comunidad científica, sin el uso adicional del estado sexual de las especies (Geiser *et al.*, 2013).

Dentro del sistema de clasificación de las especies de *Fusarium* la mayoría de los fitopatógenos están anidados en cuatro complejos de especies con base en la filogenia del género (Aoki *et al.*, 2014) a continuación se muestran los complejos:

- 1) Complejo *F. fujikuroi* (FFSC). Mediante pruebas de capacidad reproductiva permitió la identificación de 13 especies biológicas dentro se reproducen

sexualmente y son todas heterotálicas de FFSC. En este grupo se incluyen agentes causales de la enfermedad Bakanae del arroz, la pudrición de la mazorca del maíz, el cáncer del pino y especies productoras de micotoxinas infectando maíz. Los anamórfos de las especies biológicas dentro de este complejo se han descrito formalmente: *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *F. sacchari* (EJ Butler y Hafiz Khan) W. Gams, *F. fujikuroi* Nirenberg, *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach y Nirenberg, *F. subglutinans* (Wollenw. y Reinking) PE Nelson, Toussoun y Marasas, *F. thapsinum* Klittich, JF Leslie, PE Nelson y Marasas, *F. nygamai* LW Burgess y Trimboli, *F. circinatum* Nirenberg y O'Donnell, *F. konzum* Zeller, Summerell y JF Leslie, *F. xylarioides* Steyaert, *F. musae* van Hove, Waalwijk, Logrieco y Ant. Moretti, *F. temperatum* Scaufl. y Munaut., Y *F. tuiense* Lima, Pfenning y Leslie.

2) Complejo *F. sambucinum* (FSSC). Aquí se incluyen a los agentes causales del tizón de la espiga en trigo y cebada así como especies productoras de micotoxinas tipo tricotecenos A y B. Siete diferentes especies causales del tizón de la espiga han sido agrupados: *F. culmorum* (W.G. Smith) Sacc., *F. cerealis* (Cooke) Sacc. (syn. *F. crookwellense* L.W. Burgess, P.E. Nelson y Toussoun), *F. sambucinum* Fuckel, *F. sporotrichioides* Sherb., *F. poae* (Peck), *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. acuminatum* Ellis y Everh., *F. tricinctum* (Corda) Sacc., *F. graminearum sensu stricto* Schwabe.

3) Complejo de especies de *Fusarium graminearum* (FGSC): Estas especies inducen el tizón de la espiga de trigo y la cebada, y contaminan el grano con micotoxinas como tricotecenos. Boutigny, (2014) menciona que hasta ese momento 15 especies habían sido identificadas y descritas formalmente dentro de la FGSC. Estas 15

especies incluyen: *F. graminearum*, *F. gerlachii*, *F. louisianense*, *F. asiaticum*, *F. ussurianum*, *F. nepalense*, *F. vorosii*, *F. acaciae-mearnsii*, *F. aethiopicum*, *F. boothii*, *F. mesoamericanum*, *F. austroamericanum*, *F. cortaderiae*, *F. brasiliicum* y *F. meridionale* (Starkey *et al.* 2007, Sarver *et al.*, 2011).

- 4) Complejo de especies de *F. oxysporum* (FOSC): Estas especies causan marchitamientos vasculares. Distribuidos en todo el mundo, son extremadamente comunes en suelos y plantas, causando marchitez vascular, pudrición de corona y raíz. Se han reconocido e informado más de 100 *formae speciales* (ff sp.) y razas de *F. oxysporum*.

Actualmente se reconocen como especies separadas a *Fusarium redolens* que se ubica en el complejo de especies *F. redolens* (FRSC) junto con *F. hostae*, *F. udum* está anidado dentro del clado africano de la FFSC (O'Donnell *et al.*, 2013). *Fusarium nisikadoi* T. Aoki y Nirenberg, *F. commune* Skovgaard, Nirenberg y O'Donnell y *F. miscanthi* W. Gams, Klammer y O'Donnell están filogenéticamente dentro de los grupos FOSC y FFSC y juntos forman parte de *F. nisikadoi* (FNSC) (Geiser *et al.*, 2001, O'Donnell *et al.*, 2013).

- 5) Complejo *F. solani* (FSSC). Causan la pudrición de corona y raíz. La morfoespecie comprende al menos 60 especies distintas filogenéticamente. Se han descrito varias *formae speciales* adicionales, sin teleomorfo conocido, causando marchitez y pudriciones en diversos hospedantes.

- 6) Complejo *F. tricintum* (FTSC). Que incluye a algunas de las especies causales del tizón de la espiga: *F. tricintum* (Corda) Saccardo, *F. avenaceum* (Fries) Saccardo y *F. acuminatum* Ellis y Everhart.

7) Complejo *F. lateritium* (FLSC). Incluye patógeno de la muerte regresiva, tizón de ramas, pudrición de cuello, cancro, mancha foliar y pudrición de fruta.

8) Complejo *F. incarnatum-equiseti* (FIESC). Donde destacan *F. equiseti* y *F. incarnatum* (Corda) Saccardo.

Identificación de especies de *Fusarium*

Fusarium es un género cosmopolita de hongos filamentosos conocido por fitopatólogos y micólogos como uno de los hongos más difíciles para distinguir especies. La dificultad de clasificar este grupo es por la amplia variedad en sus características morfológicas, esporas meióticas (sexuales) y hasta tres tipos de esporas mitóticas (asexuales). No todas las esporas son producidas por todas las especies y características fisiológicas, incluyendo virulencia, son usadas en taxonomía. Además menos del 20% de especies tienen un ciclo sexual conocido (Snyder y Hansen, 1940, Ma *et al.*, 2013).

Un concepto de especie ha sido un principio central desde los orígenes de la biología como ciencia. Las implicaciones de este término han cambiado a lo largo de los años: las entidades fijas, inmutables y claramente distintas del período de Lineo dio paso a las unidades más variables e integrales de la era posdarwiniana. Para muchos taxónomos antes y después de Darwin, la especie simplemente ha implicado el reconocimiento de grupos de individuos morfológicamente similares que difieren de otros grupos similares.

Conceptos de especie morfológica, especie biológica y especie filogenética todos tienen una contribución que hacer hacia un concepto de lo que es una especie en *Fusarium*. Los

conceptos de especies fúngicas, en la práctica, han evolucionado desde descripciones morfológicas, a través de la adopción del concepto de especie biológica, a una convocatoria de conceptos de especies basadas en la filogenia (Harrington y Rizzo, 1999, Leslie y Summerell, 2006).

Especie biológica: Grupos de poblaciones que de hecho o potencialmente se cruzan. Hay dificultades prácticas con la aplicación de un concepto biológico de especie para *Fusarium*, por incluir altos niveles de reproducción asexual, para un organismo homotálico, como *F. graminearum*, es más difícil ya que su reproducción sexual es bajo condiciones de laboratorio (Leslie y Summerelle, 2006).

Especie filogenética: El concepto de especie filogenética se aplican ampliamente en *Fusarium*, y pueden ser útiles para especies que no producen regularmente una etapa sexual, o para aquellos que son principalmente o exclusivamente homotálicos. Linajes estrictamente asexuales, por definición, no pueden ser acomodados en un concepto de especie biológica (Leslie y Summerelle, 2006).

Especie morfológica: Se basan en la idea de que un "tipo" o individuo morfológico puede representar la variación dentro de una especie entera. Las especies morfológicas bajo las definiciones de Linneo están delimitadas por dos criterios principales: (i) consistencia dentro de las especies (morfológicas), y (ii) interrupciones bruscas en la consistencia entre las especies (Leslie y Sumeerelle, 2006).

Caracterización morfológica

La caracterización morfológica es fundamental para la identificación y taxonomía de *Fusarium*. Sin embargo, las especies en el género varían significativamente tanto morfológicamente como fisiológicamente. Esta variación es en respuesta a ambientales (medios de cultivo, temperatura, luz y tiempo de incubación) (Leslie y Summerell 2006).

La morfología de los hongos limita la cantidad de caracteres potenciales disponibles. Si la especiación es impulsada principalmente por la adaptación fisiológica, entonces puede haber poca o ninguna presión de selección para cambios cualitativos o cuantitativos en la morfología. Las diferencias morfológicas entre especies hermanas pueden surgir lentamente a través de la deriva genética. Nos enfrentamos a especies que muestran solo diferencias cuantitativas en la morfología, con traslape en los rangos de tamaño de las esporas y estructuras de fructificación (Harrington and Rizzo, 1999; Leslie y Summerell, 2006). Demasiada superposición en los caracteres cuantitativos entre especies pueden colocar a un individuo en dos o más especies.

Los caracteres que se toman en cuenta para la identificación y caracterización de especies de *Fusarium* son morfometría de macroconidios, microconidios, células conidiogénicas y clamidosporas. Los macroconidios son las principales estructuras para la identificación morfológica de las especies. En ocasiones la morfología de estos es clave para la diferenciación de especies. La primera característica que se describe generalmente es el tamaño. La longitud total de la espora debe ser considerada incluyendo la célula apical y la célula basal. Septación (rango y el promedio de septos por espora). Leslie y Summerell (2006) describen tres formas básicas de macroconidios: las esporas son rectas, delgadas con forma similar al de una aguja. Las esporas presentan una curvatura dorsiventral consistente a lo largo. Los macroconidios en los que el lado dorsal (superior) es claramente más curvado que el lado

ventral (inferior). En estas esporas, las células en el medio de la espora generalmente son más anchas que las células en los extremos. La forma de la célula apical y basal (o célula pie) es una delimitante importante para algunas especies. Hay cuatro formas generales de la célula apical: roma, papilada, ganchuda y estrecha progresiva hacia la punta. La célula basal o pie, también tiene cuatro formas generales: forma de pie, forma pie alargada, marcada la forma de pie y apenas con muesca o pobremente desarrolla la forma de pie (Leslie y Summerell, 2006).

Los microconidios no se producen por todas las especies de *Fusarium*, por lo que su sola presencia es un carácter importante para la identificación. El tamaño es el primer carácter microconidial (rango y promedio de largo y ancho). Septos (0 o 1, pero algunas especies llegan a tener dos septos). Las formas más comunes son: ovalada, reniforme (forma de riñón), obovoide (casi oval con una base truncada, piriforme (forma de pera), napiforme (forma de nabo), globosa (esférica), y fusiforme (similar a un huso). Un solo cultivo puede producir microconidios con más de una forma. Las células conidiógenas son de dos tipos básicos: monofialides y polifialidas. La diferencia se debe a la cantidad de aberturas por célula a través de las cuales se producen los conidios. Las monofialides tienen solo una abertura por célula, mientras que los polifiales tienen más de uno. La longitud de las células conidiógenas también es importante, largas y cortas. Los microconidios pueden disponerse individualmente, en cadenas o en falsas cabezas. La longitud de las cadenas observadas puede variar desde unos cuantos conidios hasta muy largas (figura 2) (Leslie y Summerell, 2006).

Las clamidosporas son importantes en muchas descripciones de especies de *Fusarium*. Sin embargo, evolutivamente no están bien conservados, y las especies que producen clamidosporas pueden estar estrechamente relacionadas con aquellas que no lo hacen. Las clamidosporas se pueden formar individuales, en parejas, en grupos y en cadenas. A menudo

tardan mucho tiempo (más de 6 semanas) en producir y es posible que no se produzcan en grandes cantidades.

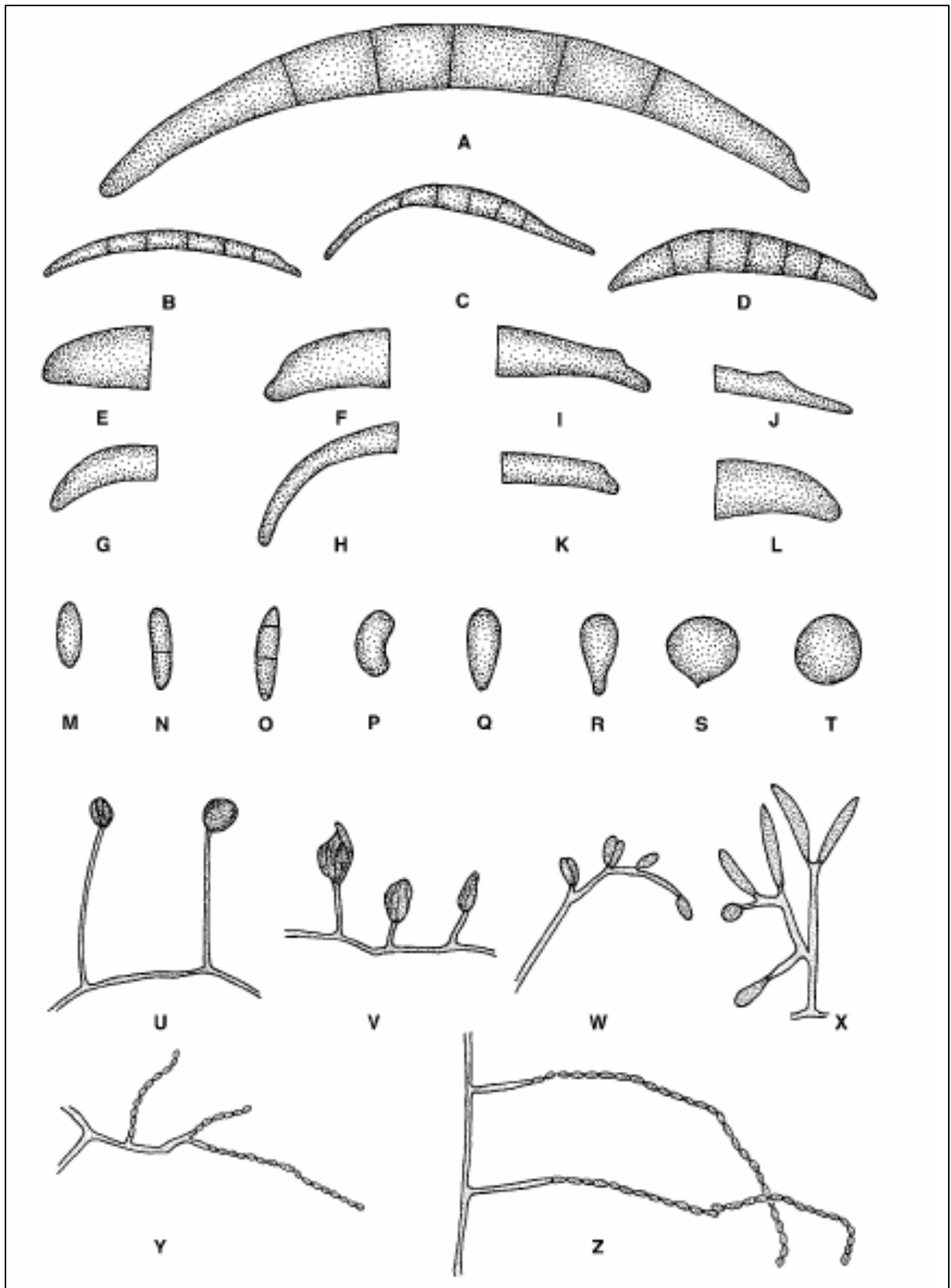


Figura 2. Caracterización morfológica de *Fusarium*. **A-D:** Formas de macroconidios. **A.** Macroconido típico de *Fusarium*, célula apical (izquierda) y basal (derecha). **B.** Macroconidio

en forma de aguja (*F. avenaceum*). **C.** Macroconidio con curvatura dorsiventral (*F. equiseti*). **D.** Macroconidio con el lado dorsal más curvado que el ventral (*F. crookwellense*). **E-H:** Formas de la célula apical. **E.** Roma (*F. culmorum*). **F.** Papilada (*F. sambucinum*). **G.** Ganchuda (*F. lateritium*). **H.** Estrecha (*F. equiseti*). **I-L:** Formas de la célula basal. **I.** Forma de pie (*F. crookwellense*). **J.** Forma de pie alargada (*F. longipes*). **K.** Ligeramente marcada la forma de pie (*F. avenaceum*). **L.** Pobrementemente desarrollada (*F. solani*). **M-T:** Formas de microconidios. **M.** Oval. **N.** Oval bicelular. **O.** Oval tricelular. **P.** Reniforme. **Q.** Ovoide con la base truncada. **R.** Piriforme. **S.** Napiforme. **T.** Globosa. **U-X:** Morfología de fiálides. **U.** Monofiálides largas (*F. solani*). **V.** Monofiálides cortas (*F. oxysporum*). **W.** Polifiálides (*F. polyphialidicum*) **X.** Polifilides (*F. semitectum*). **Y-Z:** Cadenas de microconidios. **Y.** Cadenas cortas (*F. nygamai*). **Z.** Cadenas largas (*F. verticillioides*). Tomado de Leslie y Summerell, 2006.

Identificación molecular

Los caracteres morfológicos pueden ser insuficientes para la identificación de especies. Los estudios de ADN requieren equipos, reactivos y experiencia técnica más sofisticada, pero el proceso de identificación es más rápido y confiable.

Las secuencias utilizadas comúnmente para el estudio de hongos se encuentran los genes que codifican para ARN ribosómicos (ARNr) y sus regiones espaciadoras internas (ITS). Actualmente se tiene la tendencia a secuenciar más de un gen con el fin de realizar análisis multigénicos para incrementar la fiabilidad de los resultados. Los genes utilizados para *Fusarium*, suelen ser genes estructurales que codifican proteínas como β -tubulina (BT2, TUB), factor de elongación 1 α (EF-1 α) y la calmodulina (CAL) (O'Donnell *et al.*, 2000, Taylor y Fisher, 2003). El gen EF-1- α es el más ampliamente utilizado dentro del género *Fusarium* para

finés de identificación y filogenia (Leslie *et al.*, 2007) mientras que el gen ITS ha mostrado no ser el más adecuado dentro de la sección Liseola.

La identificación molecular de las especies de complejo *F. graminearum* (FGSC) se basa en el uso de numerosos genes constitutivos integrados en un análisis de concordancia genealógica para el reconocimiento de especies filogenéticas (siglas en inglés GCPSR) (Taylor *et al.*, 2000). Este involucra el uso de numerosos genes como el factor de elongación (*EF-1 α*), α -tubulin (*α -TUB*), β -tubulin (*TUB2*), histona H3 (*HIS*), reductasa (*RED*), región intergénica ITS/28S y *MAT* (*MAT1-1-3*, *MAT1-1-2*, *MAT1-1-1*, y *MAT1-2-1*) (O'Donnell *et al.*, 2004). El análisis GCPSR utilizando 12 genes reveló que aquellas especies productoras de micotoxinas tricoteceno tipo B podían ser agrupadas en un único clado (Clado B), el cual contiene a cinco especies heterotalicas: *F. cerealis*, *F. culmorum* (W. G. Smith) Sacc., *F. lunulosporum* Gerlach, *F. pseudograminearum* y *F. dactylis*, así como a 16 especies filogenéticas biogeográficamente estructuradas (Aoki *et al.*, 2012).

Ward *et al.*, (2008) desarrollaron genotipificación multilocus (*Multilocus Genotyping Test*, MLGT) basado en el análisis de varios genes. Es uno de los métodos que ha permitido la identificación de numerosas especies filogenéticas. Este ensayo se basa en el uso de oligonucleótidos específicos para cada especie o variación químico-específica del tipo de micotoxinas. Estas sondas son específicas para los genes constitutivos *RED*, *MAT* y *EF-1 α* y los genes responsables de la biosíntesis de tricotecenos (*TRI101*, *TRI12*, *TRI3*) (Ward *et al.*, 2008).

GCPSR y MLGT han permitido el reconocimiento de especies filogenéticas dentro de *F. graminearum*. Hasta ahora han sido identificadas 16 especies homotalicas dentro del FGSC

las cuales son: *F. graminearum*, *F. gerlachii*, *F. louisianense*, *F. asiaticum*, *F. ussurianum*, *F. nepalense*, *F. vorosii*, *F. acaciae-mearnsii*, *F. aethiopicum*, *F. boothii*, *F. mesoamericanum*, *F. austroamericanum*, *F. cortaderiae*, *F. brasilicum* y *F. meridionale* (Aoki *et al.*, 2012; Boutigny *et al.*, 2014; Sarver *et al.*, 2011; Starkey *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011).

Las especies de FGSC son productoras de micotoxinas tipo tricotecenos, por lo que el estudio de las especies y perfiles tóxicos es de gran importancia. La identificación de las especies dentro del complejo *F. graminearum* es útil para definir la evolución del género (Gagkaeva y Yli-Mattila, 2004) y el desarrollo de estrategias de diagnóstico o de control más específicas y convenientes

Micotoxinas en *Fusarium*

Fusarium produce una diversidad de metabolitos secundarios (micotoxinas), como los tricotecenos y fumonisinas (Woloshuk y Shim, 2013), que contaminan los productos y subproductos agrícolas, haciéndolos inadecuados para ser consumidos por humanos y animales. También pueden actuar como factores de virulencia en las enfermedades de plantas (Ma *et al.*, 2013).

Los metabolitos secundarios son moléculas orgánicas de bajo peso molecular que no son esenciales para el crecimiento normal, pero pueden proporcionar una ventaja. Los metabolitos secundarios de hongos son diversos en estructura y actividad biológica (Ma *et al.*, 2013). *F. graminearum* produce ocho familias de metabolitos secundarios: aurofusarin, butenolida, chlamydosporol, culmorin, ciclonerodiol, fusarinas, tricotecenos (Foroud y Eudes, 2009, Ma *et al.*, 2013).

En general, las toxinas se clasifican de acuerdo a la especie fúngica de la que se aislaron, a su estructura química y al modo de acción. Sin embargo, una sola especie puede producir varias toxinas y una toxina puede ser producida por diferentes especies fúngicas (Santillan *et al.*, 2017). Las especies de *Fusarium* producen una diversidad extraordinaria de metabolitos secundarios biológicamente activos. Las micotoxinas se clasifican en función de sus orígenes biogénicos. Los policétidos son la clase más grande de micotoxinas producidas por especies de *Fusarium*, así como la clase cuya biología molecular es la más avanzada. Se han usado para demostrar la importancia de enniatinas, fumonisinas y tricotecenos en la patogénesis de las plantas (cuadro. 2) (Maier *et al.*, 2006, Desjardins y Proctor 2007).

Cuadro 1. Principales micotoxinas producidas las especies de *Fusarium* causantes del tizón de la espiga en trigo, Desjardins, 2006.

Especie	Micotoxinas reportadas
<i>F. acuminatum</i>	Aurofusarina, clamidosporol, enniatinas, moniliforminas, tricotecenos.
<i>F. avenaceum</i>	Aurofusarina, beauvericina, clamidosporol, eniatinas, fusarinas y moniliforminas.
<i>F. cerealis</i>	Aurofusarina, butenolidos, culmorina, ciclonerodiol, ácido fusarico, fusarinas, tricotecenos, zearelenona.
<i>F. culmorum</i>	Aurofusarina, butenolidos, clamidosporol, culmorina, ciclonerodiol, ciclonerotriol, ácido fusarico, fusarinas, moniliformina, tricotecenos, zearelenona.
<i>F. equiseti</i>	Bauvericina, equisetina, fusarocromanona, moniliformina, tricotecenos, zearelenona.
<i>F. graminearum</i>	Aurofusarina, butenolidos, clamidosporol, culmorina, ciclonerodiol, fusarinas, tricotecenos, zearalenona.
<i>F. oxysporum</i>	Eniatinas, fumonisinas, ácido fusarico, moniliformina, naftazarina, sambutoxina.

<i>F. poae</i>	Aurofusarina, beauvericina, butenolidos, culmorina, ciclonerodiol, eniatinas, fusarinas, tricotecenos.
<i>F. proliferatum</i>	Beauvericina, enitianinas, fumonisinas, ácido fusarico, fusaproliferina, moniliformina.
<i>F. pseudograminearum</i>	Tricotecenos, zearalenona.
<i>F. semitectum</i>	Tricotecenos, equisetina, moniliformina, sambutoxina.
<i>F. solani</i>	Ácido fusarico, naftoquinonas, tricotecenos.
<i>F. sporotrichioides</i>	Aurofusarina, beauvericina, butenolidos, culmorina, eniatinasfusarinas, moniliformina, tricotecenos.
<i>F. subglutinans</i>	Fumonisininas.
<i>F. tricinctum</i>	Butenolida, clamidosporol, enniatinas, fusarina y moniliformina.
<i>F. verticillioides</i>	Ácido fusarico, fumonisinas, fusarinas, naftoquinonas.

Tricotecenos

De todas las micotoxinas de *Fusarium* descubiertas hasta la fecha, los tricotecenos se han asociado más fuertemente con toxicosis crónicas y mortales de humanos y animales (Desjardins y Proctor 2007). El principal mecanismo de toxicidad es la inhibición de la síntesis de proteínas ribosómicas. Los tricotecenos de *Fusarium* son sesquiterpenos tricíclicos que contienen un doble enlace entre los carbonos 9 (C-9) y 10 y un anillo de 12,13-epóxido. Los tricotecenos también se caracterizan por diversos patrones de oxigenación y esterificación en las posiciones C-3, C-4, C-7, C-8 y C-15. Los tricotecenos comprenden una gran familia de compuestos, de los cuales el diacetoxyscirpenol, la toxina T-2, el nivalenol y el deoxinivalenol (DON) son los más importantes en los cereales (Desjardins y Proctor 2007; Foroud y Eudes, 2009). El hongo productor de DON primario es *F. graminearum*, el cual es principal causante de tizón de la hoja por *Fusarium* (FHB) (Yuen y Schoneweis, 2007).

Se han identificado cuatro tipos de tricotecenos a partir de hongos productores: A, B, C y D. Los principales tricotecenos tipo A en las especies de *Fusarium* incluyen la toxina T-2 y

la toxina HT-2, que poseen una función de isovalerato en C-8. *F. sporotrichioides* y *F. poae* son algunos de los principales productores de tricoteceno tipo A. Los tricotecenos tipo A son altamente tóxicos. Se ha reportado que T-2 es aproximadamente diez veces más tóxico en mamíferos que DON. DON es la toxina más prevalente asociada con FHB, y pertenece a los tricotecenos más fitotóxicos tipo 3 que presentan una cetona en C-8. *F. culmorum* y *F. graminearum* producen principalmente DON, NIV y sus derivados. Los tricotecenos tipo C y D, respectivamente, caracterizados por un segundo epóxido (C-7,8 o C-9,10) o un macrociclo unido por éster (C-4,16), no están asociados con FHB (Starkey *et al.*, 2007, Foroud y Eudes, 2009).

El impacto de *F. graminearum* y sus micotoxinas

La infección del garrón por *Fusarium* produce sustancias tóxicas llamadas micotoxinas. Las micotoxinas contaminan a los cereales, los cuales se infestan con el hongo antes y durante la cosecha o el almacenamiento. Los efectos de las toxinas cuestan millones de dólares anualmente en pérdidas a nivel mundial en salud humana y animal (Vasanthi y Bhat, 1998). La micotoxina más común asociada con el grano es el deoxinivalenol o DON, una micotoxina que puede causar vómitos y rechazo del alimento en animales no rumiantes. La presencia de esta toxina también puede dar lugar a importantes descuentos en los precios en el mercado e incluso a rechazar la compra si los niveles de DON son altos (McMullen *et al.*, 2008, Wu *et al.*, 2014).

La presencia de granos infectados con *Fusarium* no significa automáticamente que las micotoxinas estén presentes. La ocurrencia, cantidad y tipo de micotoxinas pueden depender de varios factores como es medio ambiente, especies de hongos presentes, la gravedad de la infección y la variedad de cultivo (McMullen *et al.*, 2008).

La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) ha establecido los siguientes niveles para DON en alimentos:

- 1 parte por millón (ppm) para productos terminados para el consumo humano.
- No hay estándar para el grano sin procesar en el proceso de molienda.
- Ganado de más de 4 meses de edad 10 ppm (50 por ciento de la dieta).
- Aves: 10 ppm (50 por ciento de la dieta)
- Porcinos: 5 ppm (20 por ciento de la ración)
- Todos los demás animales: 5 ppm (40 por ciento de la dieta)

Las plantas pueden convertir la estructura química de las micotoxinas como un mecanismo de defensa para prevenir los efectos xenobióticos (Dweba *et al.*, 2016). Investigación sobre la detección y el monitoreo de micotoxinas enmascaradas de *F. graminearum* se está convirtiendo en algo tan esencial en el grano de trigo y los productos secundarios como estas micotoxinas pueden acumularse en cantidades significativas durante el desarrollo de la enfermedad FHB (Dweba *et al.*, 2016).

La exposición aguda a altas concentraciones de tricotecenos en animales experimentales induce anorexia, diarrea, y vómito; además, en dosis extremadamente altas, los efectos adicionales pueden incluir hemorragia gastrointestinal, leucocitosis, conmoción respiratoria, reducción del flujo sanguíneo y, en el peor de los casos, la muerte. La exposición crónica de animales a dosis moderadas de tricotecenos limita el consumo de alimentos, reduce la ganancia de peso, disminuye las funciones inmunológicas y puede causar defectos en el desarrollo. Los tricotecenos no se acumulan en los tejidos, ni tampoco son causantes de cáncer. Diversos estudios toxicológicos sobre tricotecenos en animales experimentales se han enfocado principalmente sobre la toxina T-2 y DON (Wu *et al.*, 2014).

Las micotoxinas son uno de los riesgos más importantes asociados al consumo de cereales y en algunos casos también un impacto negativo en la calidad de los alimentos y subproductos. Para preservar la salud pública y la producción de ganado por la ocurrencia de micotoxinas, los países desarrollaron medidas como la introducción de niveles máximos o recomendados para alimentos y subproductos. A nivel internacional, la Comisión Codex Alimentarius (CAC) emite legislación sobre alimentos y subproductos. El CAC, establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), ha publicado normas internacionales, directrices y códigos de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por micotoxinas en alimentos y subproductos; en el documento CAC / RCP 51-2003 se incluyen toxinas de *Fusarium* en cereales. El CAC ha propuesto recientemente un borrador de los límites máximos para consumo humano de DON en trigo crudo, maíz, granos de cebada y sus derivados a 2000 y 1000 ppb, respectivamente (Ferrigo *et al.*, 2016).

Las regulaciones específicas a nivel de país son proclamadas por organismos autorizados, por ejemplo, Comisión Europea, Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), Agencia de Salud Pública de Canadá (PHAC), Agencia de Vigilancia de Salud para Brasil (ANVISA), Alimentos y Drogas Administración de China (CFDA) y el Servicio Federal de Rusia para la Vigilancia de la Protección de los Derechos del Consumidor y Bienestar (Ferrigo *et al.*, 2016).

Es pertinente que en México se implementen regulaciones para controlar las cantidades permisibles de tricotecenos que ingresan a la cadena alimenticia para evitar que el grano contaminado ingrese a la cadena alimentaria en cantidades inseguras.

LITERATURA CITADA

- Aoki, T, Ward, T., Kistler, H., y O'Donnell, K. 2012. Systematics, phylogeny and trichothecene mycotoxin potential of *Fusarium* head blight cereal pathogens. *Mycotoxins*, 62(2) :91–102. doi: <https://doi.org/10.2520/myco.62.91>.
- Aoki, Takayuki, O'Donnell, K., y Geiser, D. M. 2014. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, 80(3), 189–201. doi:10.1007/s10327-014-0509-3.
- Bottalico, A., and Perrone, G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 611–624. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1020635214971>.
- Boutigny, A. L., Ward, T.J., and Ballois, N. 2014. Diversity of the *Fusarium graminearum* species complex on French cereals. *European journal of plant Pathol* 138: 133–148. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0312-6>.
- Cerón-Bustamante, M. 2015. Tesis. Caracterización morfológica y molecular de especies de *Fusarium* causantes del tizón de la espiga del trigo en México. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
- Chandra, N. S., Wulff, E. G., Udayashankar, a C., Nandini, B. P., Niranjana, S. R., Mortensen, C. N., y Prakash, H. S. 2011. Prospects of molecular markers in *Fusarium* species

- diversity. *Applied microbiology and biotechnology*, 90(5):1625–39.
doi:10.1007/s00253-011-3209-3.
- Dean, R., van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., and Foster, G. D. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13:414-430.
- Desjardins, A. E. 2006. *Fusarium* Mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology, American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
- Desjardins, A. E. y Proctor, R. H. 2007. Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 119:47-50.
- Dweba, C. C., Figlan, S., Shimelis, H. A., Motaung, T. E., Sydenham, S. Mwadzingeni, L. Tsilo, T. J. 2016. *Fusarium* head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. *Crop Protection* 91:114-122. doi: 10.1016/j.cropro.2016.10.002.
- Ferrigo, D., Raiola A. and Causin R. 2016. *Fusarium* Toxins in Cereals: Occurrence, Legislation, Factors Promoting the Appearance and Their Management. *Molecules*. 21(5):627. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules21050627>.
- Foroud, N. A. and Eudes F. 2009. Trichothecenes in cereal grains. *International Journal of Moleculat Sciences*, 10: 147–173.

- Geiser, D. M., Aoki, T., Bacon, C.W., Baker, S.E., Bhattacharyya, M.K., et al. 2013. One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use. *Phytopathology* 103:400–8.
- Gilbert, J. and A. Tekauz. 2009. Review: Recent developments in research on fusarium head blight of wheat in Canada, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22 (1):1-8. doi:10.1080/07060660009501155.
- Harrington, T. C., and D. M. Rizzo. 1999. Defining species in the fungi, p. 43-71. *In* Worrall, J. J., ed. *Structure and Dynamics of Fungal Populations*, Kluwer Academic Publishers: Boston Massachusetts.
- Harris LJ, Desjardins AE, Plattner RD, Nicholson P, Butler G, Young YC, Weston G, Proctor RH, Hohn TM. Possible role of trichothecene mycotoxins in virulence of *Fusarium graminearum* on maize. *Plant Dis.* 83:954–960.
- Hawksworth, D. L. 2012. Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition, *IMA Fungus: The Global Mycological Journal*, 3(1):15–24. doi:10.5598/imafungus.2012.03.01.03.
- Horberg, H. M. 2002. Patterns of splash dispersed conidia of *Fusarium poae* and *Fusarium culmorum*. *European Journal of Plant Pathology.* 108:73–80. doi:10.1023/A:1013936624884.

Inifap. 2011. Agronomía del trigo en el sur de Sonora. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Noroeste Campo Experimental Norman E. Borlaug Ciudad Obregón, Sonora, México. Libro Técnico no.6. ISBN 978-607-425-588-1. Consultado en <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/3255/AGRONOMIADELTRIGOENELSURDESONORA.pdf?sequence=1> el día 2 de noviembre de 2017.

J. Ireta M. y L. Gilchrist S. 1994. Roña o tizón de la espiga del trigo. Informe especial de trigo No. 20. CIMMYT. Distrito Federal, México.

Khan, M. R and Doohan, F. M. 2009. Bacterium-mediated control of *Fusarium* head blight disease of wheat and barley and associated mycotoxin contamination of grain. *Biological Control*. 48: 42-47. doi: 10.1016/j.biocontrol.2008.08.015.

Khan, M. R. and F.M. Doohan. 2009. Bacterium-mediated control of *Fusarium* head blight disease of wheat and barley and associated mycotoxin contamination of grain. *Biol. Control*, 48:42-47.

Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. United States of America: Blackwell Publishing. p. 388.

Leslie, J. F., Anderson, L. L., Bowden, R. L., and Lee, Y.-W. 2007. Inter and intra specific genetic variation in *Fusarium*. *International journal of food microbiology*, 119(1-2):25-32. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.059.

- Ma, L.-J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., Kazan, K. 2013. *Fusarium* Pathogenomics. Annual Review of Microbiology 67:399-416. doi: 10.1146/annurev-micro-092412-155650.
- Martinez, B. A. y López, F. L. 2002. Guía para producir trigo en plano en los valles de Mexicali, y San Luis R. C., Son. Folleto para productores no. 38. INIFAPPRODUCE, CIR Noroeste, SAGARPA.
- McMullen, M. P., Zhong, S. and Neate, S. 2008. "Fusarium Head Blight (Scab) of Small Grains" (revised). NDSU Extension Service, PP-804, North Dakota State University, USA.
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Beth, K. T. and Howard, H. C. 2000. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. PNAS 97:7905–7910. doi: 10.1073 / pnas.130193297.
- O'Donnell, K., Nirenberg, H., Aoki, T. and Cigelnik, E. 2000. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. Mycoscience, 41:61–78. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1007/BF02464387>.
- Parry, D. W., Jenkinson, P. and McLeod, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. Plant Pathol. 44: 207-238.

Pestka, J. J. 2010. Toxicological mechanisms and potential health effects of deoxynivalenol and nivalenol. *World Mycotoxin Journal*. 3(4): 323-347.

Prescott, J.M., Burnett, P.A., Saari E.E., *et al.* 1986. Enfermedades y plagas del trigo: una guía para su identificación en el campo. CIMMYT. México, D. F., México.

Ramos-Gamiño, F. 2013. La ciencia a tu alcance: Maíz trigo y arroz. Los cereales que alimentan el mundo. Ed. Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Monterrey, Nuevo León, México. Consultado en <http://eprints.uanl.mx/3649/1/maiztrigoarroz.pdf> el día 3 de noviembre del 2017.

SAGARPA. 2015. Manual gráfico para la descripción varietal de trigo (*Triticum* spp.). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. ISBN: 978-607-7668-82-8. Consultado el 13 de noviembre del 2017, https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/183825/MG_Trigo_VerElec.pdf.

Santillán-Mendoza, R., Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, S. P., Vázquez-Marrufo, G., Montero-Castro, J. C. y Benítez-Malvido, J. 2017. Micotoxinas: ¿Qué son y cómo afectan a la salud pública? Universidad Nacional Autónoma de México. *Revista Digital Universitaria*. Vol. 18, Núm. 6. URL: <http://revista.unam.mx/vol.18/num6/art46/index.html>.

Sarver, B. A. J., Ward, T. J., Gale, L. R., Broz, K., Kistler, H. C., Aoki, T., *et al.* 2011. Novel *Fusarium* head blight pathogens from Nepal and Louisiana revealed by

multilocus genealogical concordance. *Fungal Genetics and Biology*. 48: 1096–1107.
doi: 10.1016/j.fgb.2011.09.002.

Sarver, B., Ward, T., Gale, L., Broz, K., Corby Kistler, H., Aoki, T., Nicholson, P., Carter and O'Donnell, K. 2011. Novel *Fusarium* head blight pathogens from Nepal and Louisiana revealed by multilocus genealogical concordance. *Fungal Genetics and Biology*. 48, 1096–1107. DOI:10.1016/j.fgb.2011.09.002.

Schmale III, D.G. and G.C. Bergstrom. 2003. *Fusarium* head blight in wheat. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2003-0612-01.

SIAP, 2017. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/264712/Boletin_mensual_de_la_produccion_trigo_septiembre_2017.pdf.

Snyder, W. and Hansen, H. 1940. The Species Concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 27(2): 64-67. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2436688>.

Starkey, D. E., Ward, T. J., Aoki, T., Gale, L. R., Kistler, H. C., Geiser, D. M., Suga, H., Tóthg, B., Varga, J. and O'Donnell, K. 2007. Global molecular surveillance reveals novel *Fusarium* head blight species and trichothecene toxin diversity. *Fungal genetics and biology*. 44(11):1191–2 04. doi:10.1016/j.fgb.2007.03.001.

- Taylor, J. and Fisher, M. 2003. Fungal multilocus sequence typing - it's not just for bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* 6:351-356.
- Taylor, J. W., Jacobson, D.J., Kroken, S. Kasuga, T., Geiser, Hibbett, D. H. and Fisher, M. C. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genet. Biol.*, 31: 21-32.
- Trail, F. 2009. For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era. Update on the *Fusarium graminearum* Genome. *Plant Physiol.* Vol. 149. Downloaded from on May 31, 2018 - Published by www.plantphysiol.org Copyright © 2009 American Society of Plant Biologists.
- Wang, E., Norred, W. P., Bacon, C. W., Riley, R. T. and Merrill, A. H. 1991. Inhibition of Sphingolipid Biosynthesis by Fumonisin. *Journal of Biological Chemistry*, 266(22):14486–14490.
- Wang, J., Ndoye, M., Zhang, J., Li, H. and Liao, Y. 2011. Population structure and genetic diversity of the *Fusarium graminearum* species complex. *Toxins* 3: 1020–1037. Tomado de <http://www.mdpi.com/2072-6651/3/8/1020/htm>.
- Ward, T. J., Clear, R. M., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Gaba, D., Patrick, S., Starkey, D. E., Gilbert, J., Geiser, D. M. and Nowicki, T. W. 2008) An adaptive evolutionary shift in *Fusarium* head blight pathogen populations is driving the rapid spread of more toxigenic *Fusarium graminearum* in North America. *Fungal genetics and biology: Fungal Genetics and Biology.* 45(4): 473–84. doi:10.1016/j.fgb.2007.10.003.

- Wegulo, S. N., Jackson, T. A., Baenziger, P. S., Carlson, M. P. and Hernandez, J. 2008. *Fusarium* Head Blight of Wheat. University of Nebraska, Lincoln.
- Windels, C. E. 2000. Economic and social impacts of fusarium head blight: changing farms and rural communities in the northern great plains. *Phytopathology*. 90:17–21.
- Woloshuk, C.P and ShimW-B. 2013. Aflatoxins, fumonisins, and trichothecenes: a convergence of knowledge. *FEMS Microbiol. Rev.* 37:94–109. doi: 10.1111/1574-6976.12009.
- Wu, F., Groopman, J. D. y Pestka, J. J. 2014. Public health impacts of foodborne mycotoxins. *Annual Review of Food Science and Technology*. 5:351-372.
- Xu, X. 2003. Effects of environmental conditions on the development of fusarium ear blight. *European Journal of Plant Pathology*. *European Journal of Plant Pathology*. 109(7):683-689. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1026022223359>.
- Yli-Mattila, Tapani, Paavanen-Huhtala, S., Bulat, S. A., Alekhina, I. A., y Nirenberg, H. 2002. Molecular, morphological and phylogenetic analysis of the *Fusarium avenaceum*/*F. arthrosporioides*/*F. tricinctum* species complex –a polyphasic approach. *Mycological Research*, 106(6): 655–669. doi:10.1017/S0953756202006020.

Yuen, G. Y. and S. D. Schoneweis. 2007. Strategies for managing Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *International Journal of Food Microbiology* 119: 126–130. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.033.

CAPÍTULO I. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LAS ESPECIES DE *Fusarium* CAUSANTES DEL TIZÓN DE LA ESPIGA EN TRIGO EN EL NORESTE DE MÉXICO

1.1 RESUMEN

Región Noroeste (Baja California, Sonora y Sinaloa) aporta más de la mitad de la producción de trigo del país. Una de las enfermedades más frecuente que se presenta en este cultivo es la fusariosis de la espiga (FHB) causada por el complejo *Fusarium graminearum* y otras especies del género. *Fusarium* disminuye la producción y además contamina con micotoxinas como tricotecenos que son dañinas para el hombre y los animales que consumen el trigo o sus derivados. Se tomaron muestras de grano de trigo de Baja California, Sonora, Sinaloa y Guanajuato que presentaban síntomas parecidos a FHB. Mediante la técnica de papel secante y congelación se aislaron 137 colonias de *Fusarium* que fueran caracterizadas morfológica y molecularmente mediante el gen factor de elongación (EF1- α). Se encontraron las siguientes especies en la región noreste de país; FFSC: *F. circinatum*, *F. temperatum*, *F. proliferatum* y *F. nygamai*; FCSC: *F. nelsonii*, FO SC: *F. oxysporum* y FIESC: *F. incarnatum* y en Guanajuato las especies predominantes fueron FSAMSC: *F. boothii* y *F. sporotrichioides*, FIESC: *F. equiseti*; FTSC: *F. avenaceum*.

Palabras clave: Tizón de la espiga, *F. incarnatum*, EF-1 α

1.2 ABSTRACT

Northwest Region (Baja California, Sonora and Sinaloa) in Mexico contributes more than half of the country's wheat production. One of the most frequent diseases that occur in this crop is Fusarium Head Blight (FHB) caused by the *Fusarium graminearum* complex and other species of the genus *Fusarium* decreases production and also contaminates with mycotoxins such as trichothecenes that are harmful to humans and animals that consume wheat or its derivatives. Samples of wheat that show FHB symptoms were collected from Baja California, Sonora, Sinaloa and Guanajuato. Using the blotting and freezing technique, 137 *Fusarium* colonies were isolated. These colonies were morphologically and molecularly (EF1- α) characterized. The following species were found in the northeast region of the country; FFSC: *F. circinatum*, *F. temperatum*, *F. proliferatum* and *F. nygamai*; FCSC: *F. nelsonii*, FOOSC: *F. oxysporum* and FIESC: *F. incarnatum* and in Guanajuato the predominant species were FSAMSC: *F. boothii* and *F. sporotrichioides*, FIESC: *F. equiseti*; FTSC: *F. avenaceum*.

Key words: Spicata blight, *F. incarnatum*, EF-1 α

1.3 INTRODUCCIÓN

Fusarium es el agente causal de las enfermedades más destructivas en cereales. En 2012 en una encuesta entre la comunidad internacional de fitopatólogos *F. graminearum* se ubicaba en cuarto lugar en la lista de los 10 hongos patógenos más importantes de plantas (Dean *et al.*, 2012, Ma *et al.*, 2013).

El tizón de la espiga es una enfermedad económicamente devastadora, produce grandes pérdidas de rendimiento y calidad en el trigo en las regiones húmedas y semihúmedas del mundo (Palazzini *et al.*, 2017). Afecta a todos los cereales de grano pequeño: el trigo (*Triticum* spp.), cebada (*Hordeum vulgare*), centeno (*Secale cereale*), avena (*Avena sativa*) y triticale (x *Triticosecale*) (Wegulo *et al.*, 2008). En los últimos 15 años, el FHB alcanzó niveles epidémicos en América del Norte, resultando en pérdidas de trigo y cebada de casi \$ 3 mil millones de dólares (Windels, 2000, Starkey *et al.*, 2007).

Los síntomas del tizón de la espiga ocurren poco tiempo después de la floración. Las espiguillas enfermas muestran blanqueamiento prematuro a medida que el patógeno crece y se disemina dentro de la espiga. Una o más espiguillas ubicadas en la parte superior, media o inferior de la espiga pueden blanquearse. También puede infectar el tallo debajo de la espiga causando una coloración marrón. Los granos infectados de trigo duro pierden su translucidez ambarina y se tornan opacos (McMullen *et al.*, 2008).

La identificación morfológica fue el carácter único de diagnóstico durante mucho tiempo antes de que llegaran las técnicas moleculares. Los caracteres morfológicos y fisiológicos de *Fusarium* pueden verse influenciados por temperatura, luz, humedad y medio de cultivo en que se establezca el aislamiento (Leslie y Summerelle, 2006). Con la era genómica

se estandarizaron protocolos de identificación molecular como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y técnicas basadas en el uso de marcadores moleculares (Wang *et al.*, 2011). Actualmente se estima que *Fusarium* comprende al menos 300 especies filogenéticas. Sin embargo, menos de la mitad han sido descritas formalmente (Aoki *et al.*, 2014).

Los caracteres que se toman en cuenta para la identificación y caracterización de especies de *Fusarium* son morfometría de macroconidios, microconidios, células conidiogénicas y clamidosporas. Los macroconidios son las principales estructuras para la identificación morfológica de las especies. En ocasiones la morfología de estos es clave para la diferenciación de especies (Leslie y Summerell 2006).

Los objetivos de este trabajo fueron: 1) Aislar *Fusarium* de granos de trigo con síntomas de cuatro estados de México, Baja California, Sonora, Sinaloa y Guanajuato; 2) Identificar morfológica y molecularmente los aislados de *Fusarium*; 3) Determinar las relaciones filogenéticas entre las especies que conforman la población de *Fusarium* en la espiga de trigo

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1 Zona de estudio

Durante los ciclos de cultivo de 2016-2017, se colectaron granos con síntomas de tizón de la espiga de diversas variedades de trigo en el Noreste de México. Las regiones de estudio fueron los estados de Baja California, Sinaloa y Sonora, además de Guanajuato en la región central de nuestro país:

Baja California: Predomina el clima muy seco (69 %) y seco (24 %). La temperatura media anual es de 18 a 19 °C. Las temperaturas más mayores a 30 °C, se presentan en los meses de mayo a septiembre y debajo de 5 °C, en el mes de enero (INEGI, 2017).

Las lluvias son muy escasas, alrededor de 200 mm de precipitación total anual. En la región noroeste del estado se encuentran los climas templado y seco con lluvias de invierno, condición muy particular, y en el resto del país las lluvias son en verano; esta característica ha permitido que en el clima seco con lluvia de invierno, favorezca el cultivo de vid y olivo. Debido a la escasa precipitación la actividad agrícola es baja, pero en la región se cultiva: algodón, trigo, aceituna, la vid, el jitomate y el ajonjolí (INEGI, 2017).

Sinaloa: El 48% del estado presenta clima cálido subhúmedo localizado en una franja noreste-sureste que abarca desde Choix hasta los límites con Nayarit, el 40 % es clima seco y semiseco presentes en una franja que va desde El Fuerte hasta Mazatlán, el 10% es muy seco y se localiza en la zona de Los Mochis, el restante 2% es clima templado subhúmedo localizado en las partes altas de la Sierra Madre Occidental (INEGI, 2017).

La temperatura media anual del estado es alrededor de 25 °C, las temperaturas mínimas promedio son alrededor de 10.5 °C en el mes de enero y las máximas promedio pueden ser mayores a 36 °C durante los meses de mayo a julio. Las lluvias se presentan en el verano durante los meses de julio a septiembre, la precipitación media del estado es de 790 mm anuales (INEGI, 2017).

Sinaloa es muy importante como productor agrícola nacional, las principales áreas de cultivo se encuentran en los climas secos y semisecos, por lo que requiere riego siendo los principales

cultivos: maíz, frijol, papa, cártamo, soya, algodón, sorgo, garbanzo y cártamo entre otros. En la región que presenta clima cálido subhúmedo se cultiva jitomate, sandía, melón y hortalizas (INEGI, 2017).

Los municipios que se muestrearon es este estado fueron Ahome y El fuerte: los ejidos y comunidades de Ahome fueron Los Mochis, El carrizo, Sinaloa de Leyva, Emigdio Ruiz, La pitahaya y El Fuerte Mayo. En el municipio del El fuerte fueron los ejidos de Tepic, Los parajes y Jahura.

Sonora: El 48% del estado presenta clima seco y semiseco localizado en la Sierra Madre Occidental, el 46.5% presenta clima muy seco, localizado en las Llanuras Costera del Golfo y Sonorense 4 % es templado subhúmedo se encuentra hacia el este del estado y el restante 1.5% presenta clima cálido subhúmedo localizado hacia el sureste (INEGI, 2017).

La temperatura media anual es alrededor de 22 °C, la temperatura máxima promedio es de 38 °C y se presenta en los meses de junio y julio, la temperatura mínima promedio es de 5 °C y se presenta en el mes de enero. La precipitación media estatal es de 450 mm anuales, las lluvias se presentan en verano en los meses de julio y agosto (INEGI, 2017).

El clima en el estado es una limitante para la agricultura, sin embargo se cultiva trigo, algodón, cártamo, sandía, ajonjolí, garbanzo, sorgo, maíz y vid, principalmente con riego, en la regiones de clima seco y semiseco de los Valles de El Yaqui, Mayo y Guaymas (INEGI, 2017).

En Sonora los lugares muestreados fueron Cajeme, Navojoa (Valle del Mayo), Obregón, Benito Juárez (Villa Juárez), Huatabampo y Bacobampo.

Guanajuato: El 43% de la superficie del estado está representado por clima seco y semiseco, localizado principalmente en la región norte; 33 % de la superficie, hacia la parte suroeste y este, se presenta el clima cálido subhúmedo y 24 % restante presenta clima templado subhúmedo. La temperatura media anual es de 18 °C. La temperatura promedio más alta es alrededor de 30°C, se presenta en los meses de mayo y junio y la más baja, alrededor de 5.2 °C, en el mes de enero (INEGI, 2017).

Las lluvias se presentan en verano, principalmente en los meses de junio a septiembre, la precipitación media del estado es de aproximadamente 650 mm anuales. Gracias al tipo de suelo y clima, Guanajuato es un estado que se caracteriza por su producción agrícola de cultivos como maíz, frijol, cebada, trigo, linaza, garbanzo, además de durazno, manzana ajo, alfalfa, avena, cebada, centeno, jitomate, remolacha, sorgo y chabacano entre otros (INEGI, 2017).

Determinación del tamaño de muestra

Para determinar el tamaño de muestra se consideró un tamaño poblacional de 1000 semillas, con una confiabilidad de 95% y un error de 13%, el tamaño de muestra fue de 60 semillas por muestra.

$$n = \frac{N Z^2_{\alpha/2} p_n q_n}{N e^2 + Z^2_{\alpha/2} p_n q_n}$$

La frecuencia de los aislamientos se calculó en base al total de los aislamientos secuenciados para saber que especie era la más predominante.

1.4.2 Aislamiento y purificación

Se realizó el aislamiento y la determinación de la incidencia de *Fusarium* en grano de trigo mediante la técnica de papel secante y congelación reportada por Neergaar en 1977, estandarizada por el Centro Nacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Los granos se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % durante tres minutos y se enjuagaron 3 veces en agua destilada estéril un minuto cada una. Para después colocarse en cámara húmeda en cajas de germinación de semillas con papel filtro estéril humedecido con 2 mL de agua destilada estéril. Se dejó incubar por 48 horas, alternando 12 horas luz y 12 horas oscuridad a temperatura ambiente y posteriormente se incubaron a -20°C por 24 horas con el objetivo de matar el embrión, para obtener un sustrato de desarrollos de los hongos no inhibido por la resistencia de las plantas (Warham *et al.*, 1997). Por último las cajas se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días alternando 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

El aislamiento se llevó a cabo considerando las características de crecimiento del micelio y color (Warham *et al.* 1997, Leslie y Summerell, 2006), en papa-dextrosa-agar (PDA). La purificación se realizó por la técnica de cultivo monosporico y punta de hifa (Leslie y Summerell, 2006) en cajas Petri con medio PDA natural (dextrosa y agar BD Bioxon™ y con jugo de papa natural).

1.4.3 Identificación molecular de los aislados

Para la identificación molecular se amplificó la región parcial del gen factor de elongación 1- α (*EF 1- α*). La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 μ L; 50 mM de MgSO₄, 2 mM de cada nucleótido (dNTP's), 0.6 mM de cada oligonucleótidos EF1 (5'-ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3') y EF2 (5'-GGAAGTACCAGTGATCATG-3') y 1 U/ μ L de la enzima Platinum Taq High Fidelity polimerasa (Invitrogen™). La reacción se

colocó en un termociclador en las siguientes condiciones: 94 °C por 90 s de desnaturalización inicial, 35 ciclos a 94°C por 30 s, 53°C por 30 s, 68°C por 45 s cada uno (O'Donnell *et al.*, 1998). El producto de PCR se visualizó en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio para ver el amplicón de \approx 700 pares de bases (pb). Después se purificó en vacío con las placas de filtración MultiScreen-PCR96 (Millipore) siguiendo el protocolo que describe el fabricante.

La secuenciación de los productos de PCR se llevó a cabo con el kit de secuenciación BigDye v3.1 Terminator (Applied Biosystems™) analizado en ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems™). Cada una de las secuencias fueron editadas y manualmente alineadas usando el programa Sequencher (version 4.10, Gene Codes). Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las depositadas en las bases de datos Fusarium MLST (O'Donnell *et al.*, 2010) y Fusarium ID (Geiser *et al.*, 2004), desarrolladas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y la Universidad de Pensilvania respectivamente.

1.4.4 Identificación cultural y morfológica

La descripción de la colonia se hizo en aislados crecidos en PDA natural, en cultivos de 8 días de crecimiento a 25-28°C y alternando 12 horas luz con 12 horas oscuridad. Se utilizó el medio Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) (1 g de KH_2PO_4 , 1 g de KNO_3 , 0.5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g de KCl, 0.2 g de glucosa, 0.2 g de sacarosa y 14 g Agar en 1L de agua destilada) incubado a 25 °C alternando periodos de luz blanca y luz oscura 12 horas (Leslie y Summerell, 2006).

Se midieron 25 microconidios y 25 macroconidios de largo y ancho por cada especie. Los macroconidios se contaron el número de septos, se describió la forma de la célula apical y basal de acuerdo a lo descrito por Leslie y Summerell (2006). En los microconidios se observó

la formación en cadenas o simples, así como forma y tamaño. Se determinó el tipo de células conidiogénicas (monofialides y polifialides) que producían los aislamientos. La obtención de fotomicrografías se llevó a cabo en un microscopio con cámara iluminación de contraste de fases.

Otros caracteres secundarios útiles pueden ser datos fisiológicos sobre toxinas y otros metabolitos producidos, pero tales los datos no están comúnmente disponibles para diagnósticos de rutina.

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1 Síntomas colectados en campo

En una parcela donde se observaba el trigo aun en estado lecho se encontró espiguillas con blanqueamiento que se desatacaba de la población (figura. 2A). Se colectaron granos de espigas pequeñas que eran blanquecinas y tenían las aristas rizadas o estaban deformes.



Figura 1.1. Síntomas colectados en campo. A) Trigo en estado lechoso. B-D) Espigas pequeñas con aristas deformes.

Los granos colectados parecían deshidratados con una apariencia áspera y arrugada figura 2.



Figura 1.2. A) y B) Granos de trigo colectados en la region Noreste de México arrugados y asperos.

1.5.2 Identificación molecular

Del muestreo realizado se obtuvieron 137 aislamientos de cuatro estados de la República Mexicana durante los ciclos de cultivo 2016 y 2017. De las cuales se identificaron 62 morfoespecies. En base en la amplificación parcial del gen EF- α y tomando en cuenta los valores más altos de identidad obtenidos en las bases de datos *Fusarium* MLST (O'Donnell *et al.*, 2010), *Fusarium* ID (Geiser *et al.*, 2004), Genbank se identificaron 12 especies.

El objetivo fue conocer la diversidad de especies de *Fusarium* que se encuentran en la espiga del trigo en el Noroeste de México para determinar la presencia del tizón de la espiga. En el total del muestreo se encontraron las siguientes especies y cada una de esas se alineo un número de veces las cuales se graficaron para la frecuencia: FFSC: *F. circinatum* (9), *F. temperatum* (11), *F. proliferatum* (1) y *F. nygamai* (4); FTSC: *F. avenacium* (1), FO SC: *F.*

oxysporum (10); FCSC: *F. nelsonii* (1). FSAMSC: *F. boothii* (6) y *F. sporotrichioides* (3), y FIESC: *F. equiseti* (5), *F. scirpi* (2) y *F. incarnatum* (9) (Fig. 1.3).

F. scirpi y *F. equiseti* tiende a estar en regiones áridas y semiáridas, particularmente en el suelo (Leslie y Summerell, 2006). Ello puede explicar el porque estasa especies fueron detectadas en Sonora y zonas secas de Guanajuato.

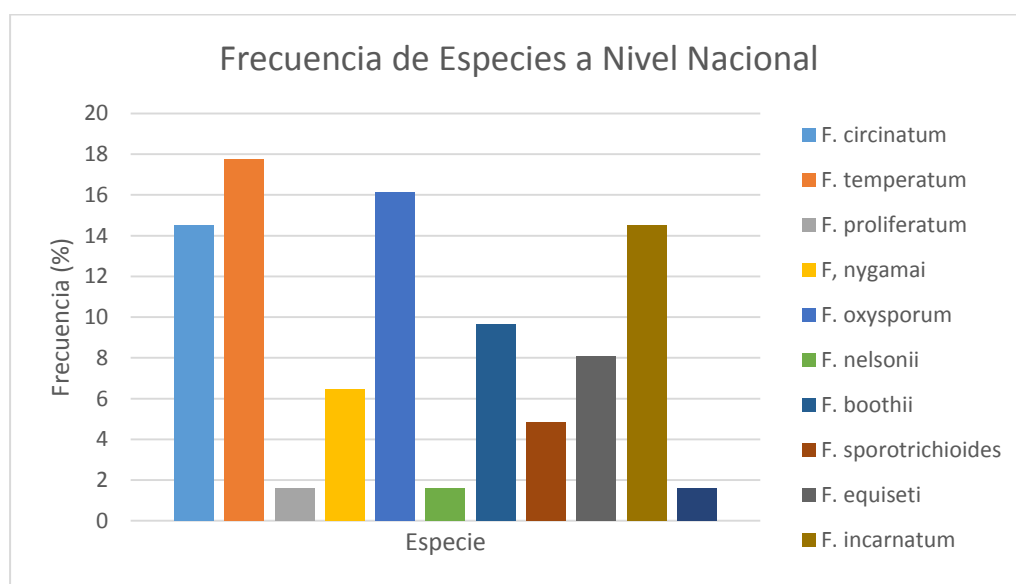


Figura 1.3. Distribución de frecuencias de las especies de *Fusarium* asociados a la espiga de trigo de la Región Noreste (Baja California, Sonora y Sinaloa) y Guanajuato aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017.

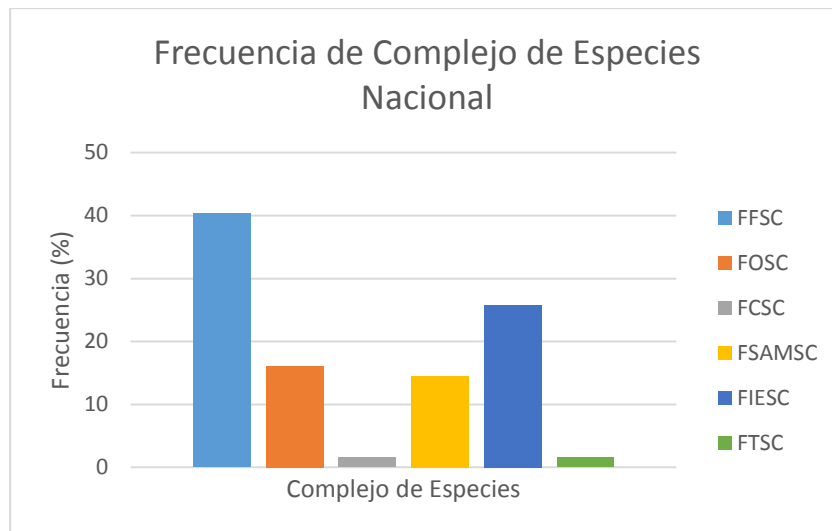


Figura 1.4. Distribución de frecuencias de los complejos de *Fusarium* presentes en la espiga de trigo en cuatro estados de la República Mexicana aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017.

Cuadro 1.1. Diversidad de especies de *Fusarium* de la espiga en trigo en cuatro estados de México.

Estado	Complejo de Especies	Especie (EF-1 α)	% de Incidencia por Región
Baja California	FFSC	<i>F. circinatum</i>	66,67
		<i>F. temperatum</i>	8,3
	FOSC	<i>F. oxysporum</i>	8,3
	FIESC	<i>F. incarnatum</i>	8,3
	FCSC	<i>F. nelsonii</i>	8,3
Sinaloa	FOSC	<i>F. oxysporum</i>	43,75
	FIESC	<i>F. incarnatum</i>	50
	FFSC	<i>F. temperatum</i>	6,25
Sonora	FFSC	<i>F. temperatum</i>	43,75
		<i>F. circinatum</i>	6,25
		<i>F. nygamai</i>	18,75
	FIESC	<i>F. equiseti</i>	31,25
Guanajuato	FSAMSC	<i>F. boothii</i>	33,3

		<i>F.sporotrichioides</i>	16,67
	FFSC	<i>F.temperatum</i>	11,11
		<i>F. proliferatum</i>	5,56
		<i>F. nygamai</i>	5,56
	FIESC	<i>F. scirpi</i>	11,11
	FTCS	<i>F. avenaceum</i>	5,56
	FOSC	<i>F. oxysporum</i>	11,11

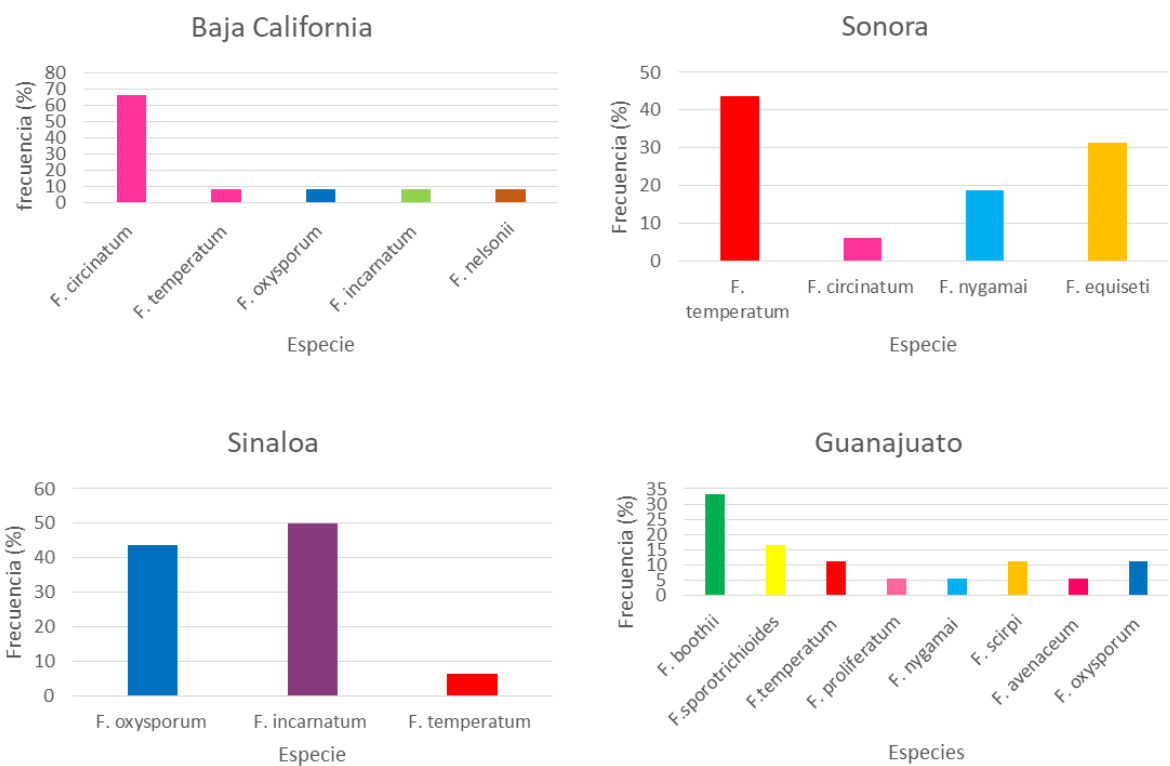


Figura 1.5. Distribución de frecuencias de las especies de *Fusarium* asociados a la espiga de trigo en 4 estados de la República Mexicana aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017.

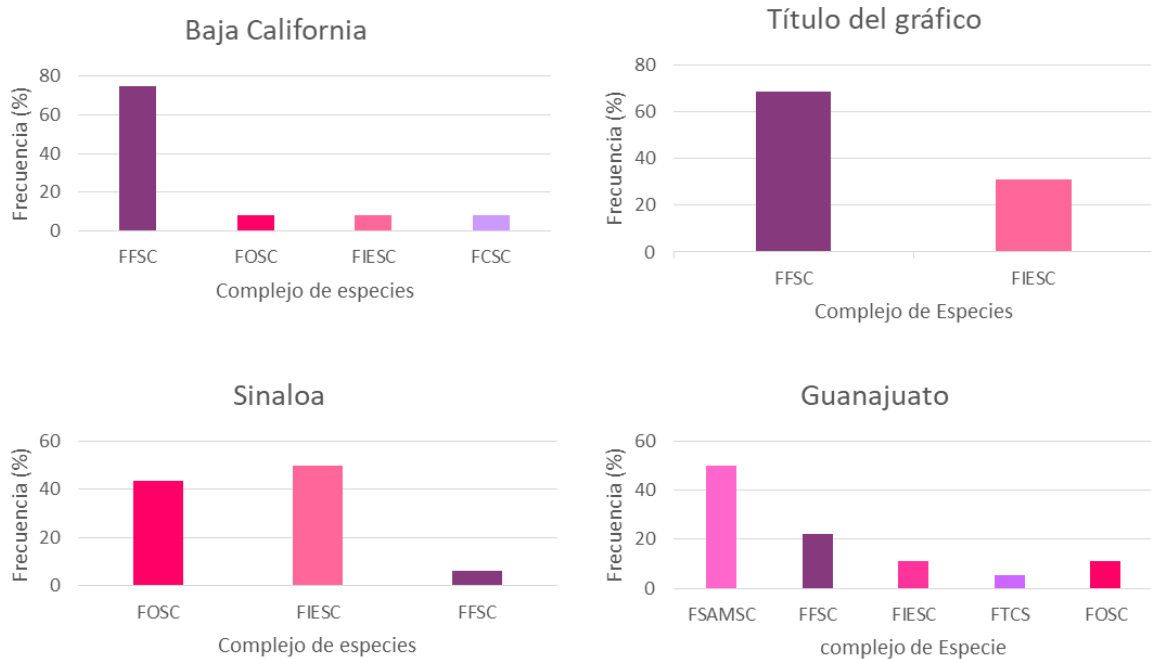


Figura 1.6. Distribución de frecuencias de las Complejo de especies de *Fusarium* asociados a la espiga de trigo en 4 estados de la República Mexicana aislados durante los ciclos de cultivo de 2016-2017.

En el estado de Baja California se obtuvieron 12 diferentes, las cuales se identificaron como: FFSC; *F. circinatum* (66.67 %), FOOSC; *F. oxysporum* (8.3 %), FIESC; *F. incarnatum* (8.3 %) y FCSC: *F. nelsonii* (8.3 %). En este estado se encontraron cuatro especies diferentes siendo el más predominante *F. circinatum* (figura 1.5A). Por otro lado, *F. circinatum*, previamente conocido solo como un patógeno de coníferas, demostró ser capaz de colonizar el maíz (Swett y Gordon, 2009) y otras especies de pastos (Swett y Gordon, 2012) sin inducir ningún síntoma. *F. circinatum* puede colonizar raíces, brotes y mazorcas de maíz, y hay la posibilidad de transmisión de semilla a semilla (Swett y Gordon, 2015).

Sinaloa se aislaron 16 diferentes las cuales se identificaron como: FOOSC; *F. oxysporum* (43.75 %), FIESC; *F. incarnatum* (50 %) y FFSC; *F. temperatum* (6.25%) (figura 1.5B).

En Sonora se encontraron 14 aislamientos diferentes los cuales se identificaron como: FFSC; *F. temperatum* (43,75%), *F. circinatum* (6,25%), *F. nygamai* (18,75%) y FIESC *F. equiseti* (31,25%), siendo *F. temperatum* más frecuente (figura 1.5C).

En Guanajuato se observó una mayor diversidad de *Fusarium*: FSAMSC: *F. boothii* (33.3 %), *F. sporotrichioides* (16.67 %), FFSC: *F. temperatum* (11.11 %), *F. proliferatum* (5.56 %), *F. nygamai* (5.56 %), FIESC: *F. scirpi* (11.11 %), FTCS: *F. avenaceum* (6.56 %) y FOOSC: *F. oxysporum* (11.11 %) (Cuadro 1.1), en este estado se encontraron especies que causan el tizón de la espiga del trigo y coincide con lo encontrado por Cerón (2015).

F. temperatum fue descrito por primera vez en el año 2001 infectando granos de sorgo en Etiopia, Nigeria, Sudáfrica y EUA. Lanza (2016) lo identificó causando tizón en plantas de maíz, estos aislamientos anteriormente se habían identificado como *F. subglutinas*, pero secuenciando el gen EF-1 α usando los iniciadores EF1 y EF2 las secuencias resultantes fueron comparadas en el BLAST de GenBank y se homologaron con *F. temperatum* (Lanza *et al.*, 2016). Hasta 2015, esta especie ha sido reportada como agente causal del tizón de la espiga en trigo (Cerón, 2015). Además se ha observado en maíz en Bélgica como especie emergente (Scauflaire *et al.*, 2011). Probablemente la infección en trigo por *F. temperatum* proviene del cultivo de maíz que se siembra en alrededores de los lotes del trigo o del inóculo que se queda en el suelo cuando se rota los cultivos trigo- maíz.

F. incarnatum fue el más frecuente en Sinaloa con 62.5 % de los aislamientos de este estado. Castellá y Cabañes (2014), realizaron el primer estudio molecular del complejo de *F. incarnatum - equiseti* en trigo español. Estos autores detectaron su presencia en trigo. Debido

a importancia y variedad de las micotoxinas producidas por FIESC se resalto la posible contribución a la contaminación por micotoxinas del trigo español (Castellá y Cabañes, 2014).

La importancia de *F. sporotrichioides* ha aumentado debido a que infectan cereales de grano pequeño causando tizón de la espiga (FHB). Esta especie produce micotoxinas T-2 y HT-2, que son tricotecenos tipo A. A pesar de que *F. sporotrichioides* se ha convertido en una especie de gran importancia en cereales de grano pequeño, su ecología es poco conocida (Logrieco *et al.*, 2003, Nazari *et al.*, 2014).

1.5.3 Análisis filogenético

La relación evolutiva de las especies de *Fusarium* en la espiga de trigo en México fue inferida analizando las secuencias del gen EF-1 α utilizando el método UPGMA. La figura 1.7 muestra el árbol óptimo con la suma de la longitud de la bifurcación = 8.64210403. El porcentaje de árboles replicados en el que los taxones asociados se agruparon en la prueba de arranque de 1000 réplicas. Las distancias evolutivas se calcularon usando el método Jukes-Cantor y están en las unidades del número de sustituciones de bases por sitio. La variación de la tasa entre los sitios se modeló con una distribución gamma (0.5). El análisis involucró 73 secuencias de nucleótidos. Se eliminaron todas las posiciones que contenían lagunas y datos faltantes. Hubo un total de 273 posiciones en el conjunto de datos final. Evolutivo análisis se realizaron en MEGA7 (figura 1.7).

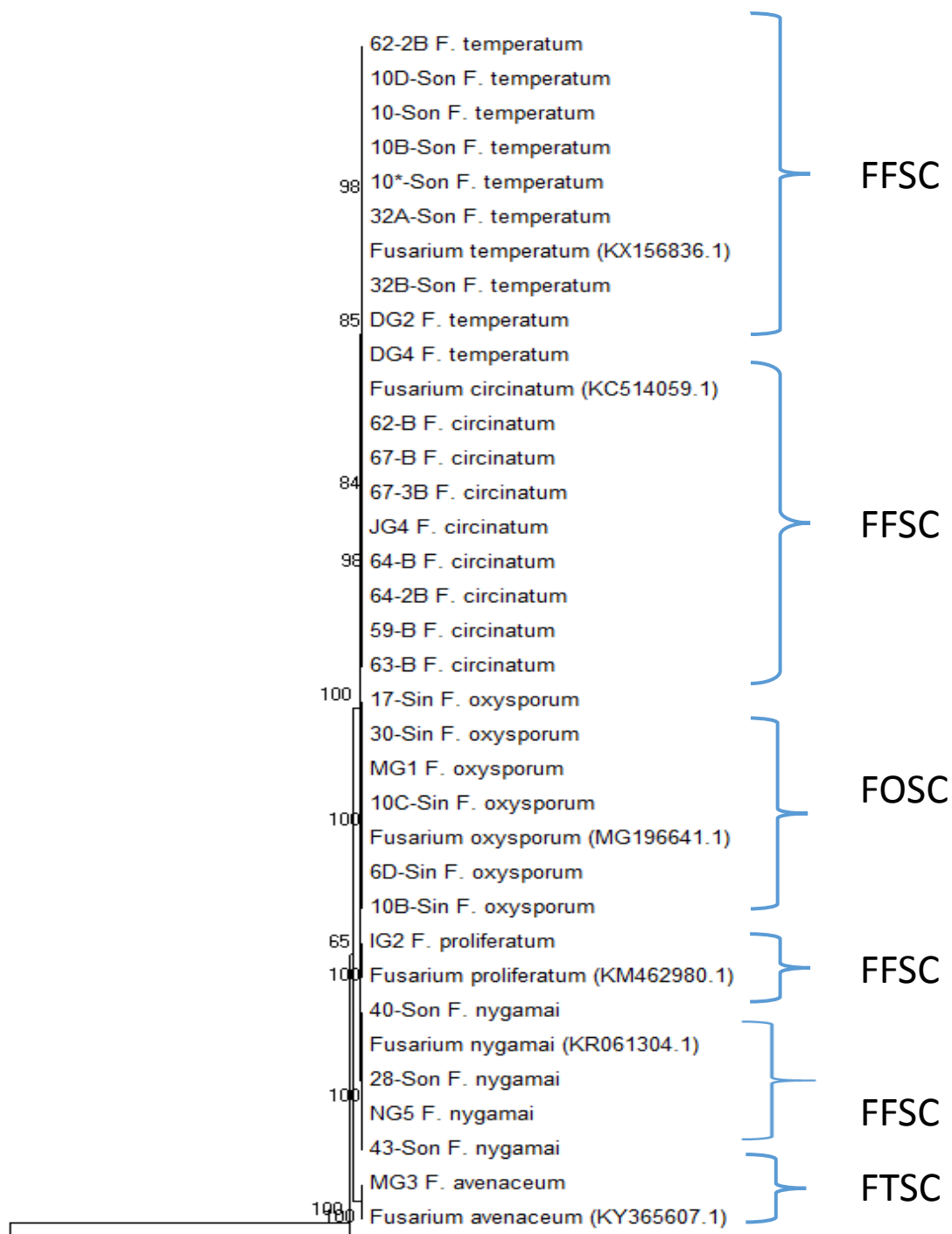


Figura 1.7. Análisis filogenético de 62 aislados de *Fusarium* de la espiga en trigo de cuatro estados de la República Mexicana. La historia evolutiva de las especies fue inferida por el método de UPGMA. El análisis se llevó a cabo en MEGA 7.0 analizando 273 nucleótidos codificantes para el gen EF-1 α .

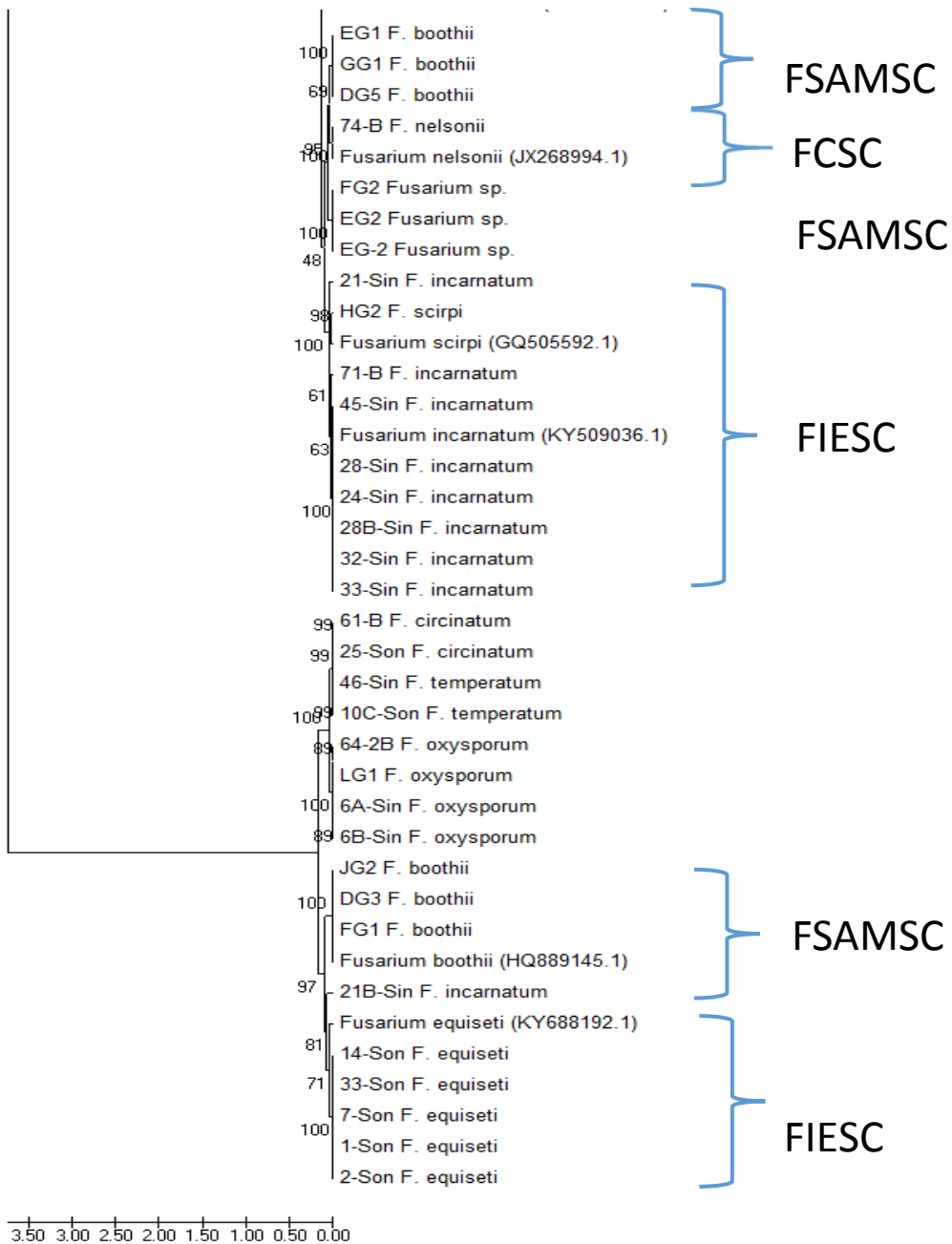


Figura 1.7. Continuación. Análisis filogenético de 62 aislados de *Fusarium* de la espiga en trigo de cuatro estados de la República Mexicana. La historia evolutiva de las especies fue inferida por el método de UPGMA. El análisis se llevó a cabo en MEGA 7.0 analizando 273 nucleótidos codificantes para el gen EF-1 α .

La diversidad genética y las relaciones filogenéticas entre los miembros del complejo FIESC (O'Donnell *et al.*, 2009, O'Donnell *et al.*, 2012) los ubica en 2 ramas el tipo A y B, se separa claramente a *incarnatum* de *equiseti*.

1.5.4 Descripción de las especies

1.5.4.1 *Fusarium circinatum* Nirenberg y O'Donnell emend. Britz, Coutinho

A los siete días en medio PDA desarrollo abundante micelio de color blanco y un pigmento oscuro en el agar. Se encontraron hifas sinuosas. Macroconidios hialinos, escasos, 3 septos, $25-30 \times 3.3-3.8 \mu\text{m}$, delgados casi rectos. La célula apical curvada y célula basal en forma de pie poco desarrollada. Microconidios sin septos, hialinos, ovoides, de $3 \times 7.5 \mu\text{m}$ producidos en monofialides y polifialides. No se observaron clamidosporas. Las características descritas por Nelson, (2001) y Leslie y Summerell (2006) y los resultados encontrado al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden para *F. circinatum*.

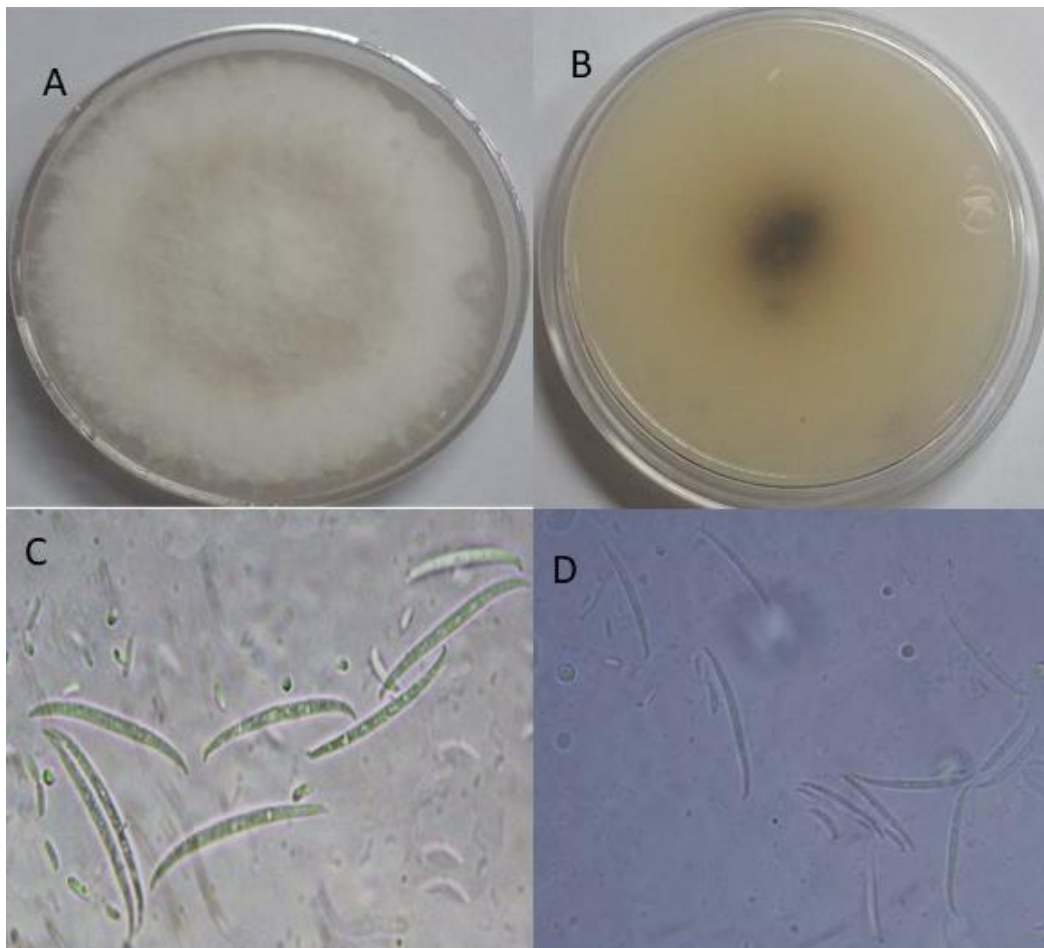


Figura 1.8. Caracterización cultural y morfológica de *F. circinatum*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios a 100x y D) Macroconidios a 40x de 7 días en medio SNA.

1.5.4.2 *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder y Hansen

En medio PDA micelio blanco floccoso con pigmentos en el agar. Características de conidios en SNA. Macroconidios hialinos, 3 septos, falcados, 30-43 x 3.5-5. Célula apical cónica curvada. Célula basal en forma de pie. Microconidios se originan en fialides simples y cortas, abundantes formando falsas cabezas, hialinos, ovales, 6-9 x 2.5- 3 μm . Las características descritas por Holliday (1980) y Leslie y Summerell (2006) y los resultados encontrado al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden para *F. oxysporum*.

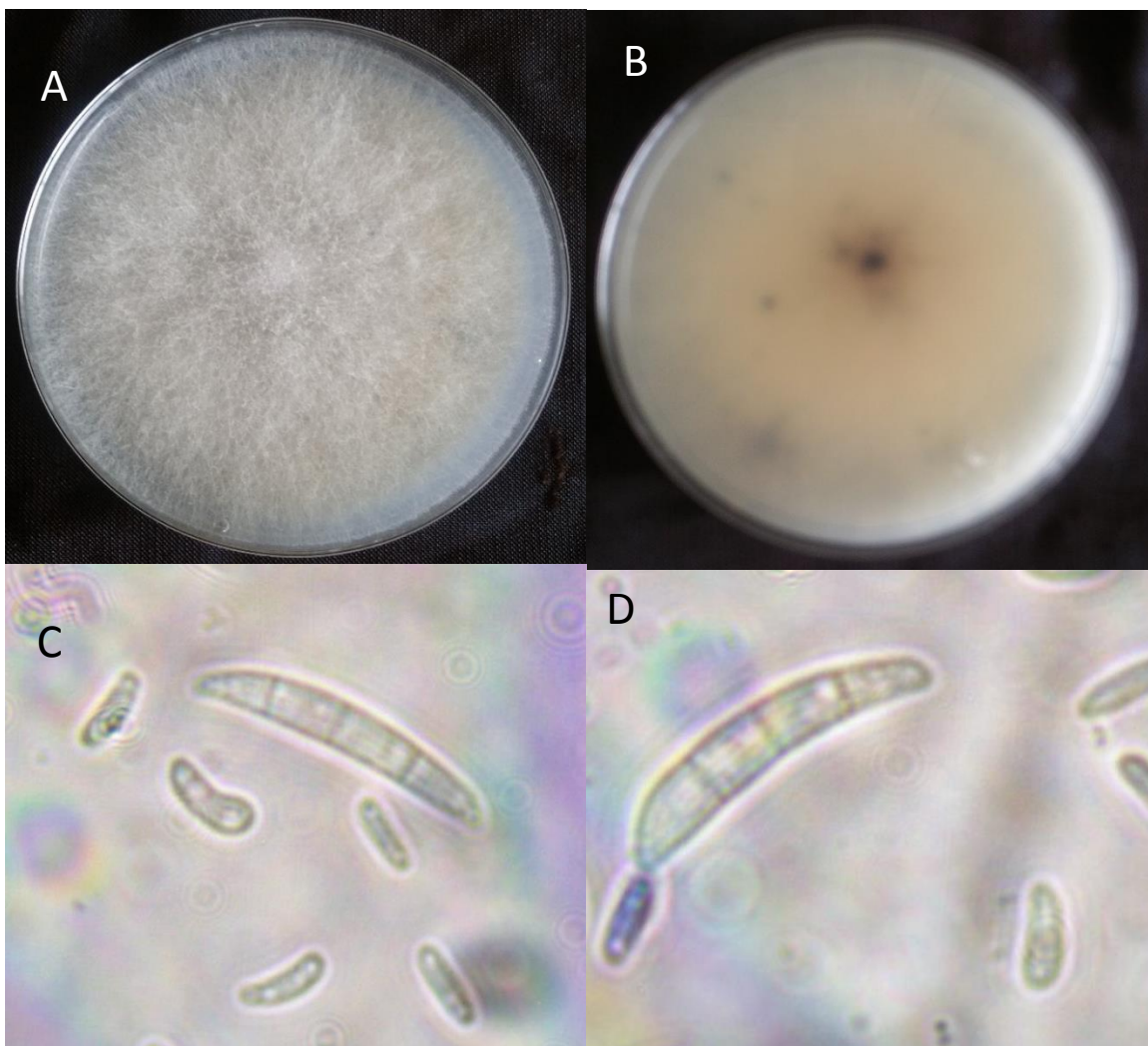


Figura 1.9. Caracterización cultural y morfológica de *F. oxysporum*. A) Colonia en medio PDA anverso. B Colonia en PDA reverso. C) y D) Macroconidios y microconidios a 100x de 7 días de crecimiento en medio SNA.

1.5.4.3 *Fusarium boothii* O'Donnell

En medio PDA, crecimiento abundante de micelio aéreo, inicialmente de blanco después la colonia se puso rojo. Macroconidios hialinos, con 4-7 septos, de 22-30 x 2.-2.5 μm , lado dorsal con una curvatura casi paralela al lado ventral. La célula apical estrecha y la célula basal en forma de pie. No se observó la presencia de microconidios y clamidosporas. Las características descritas por Starkey *et al.* (2007) los resultados encontrado al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden para *F. boothii*.

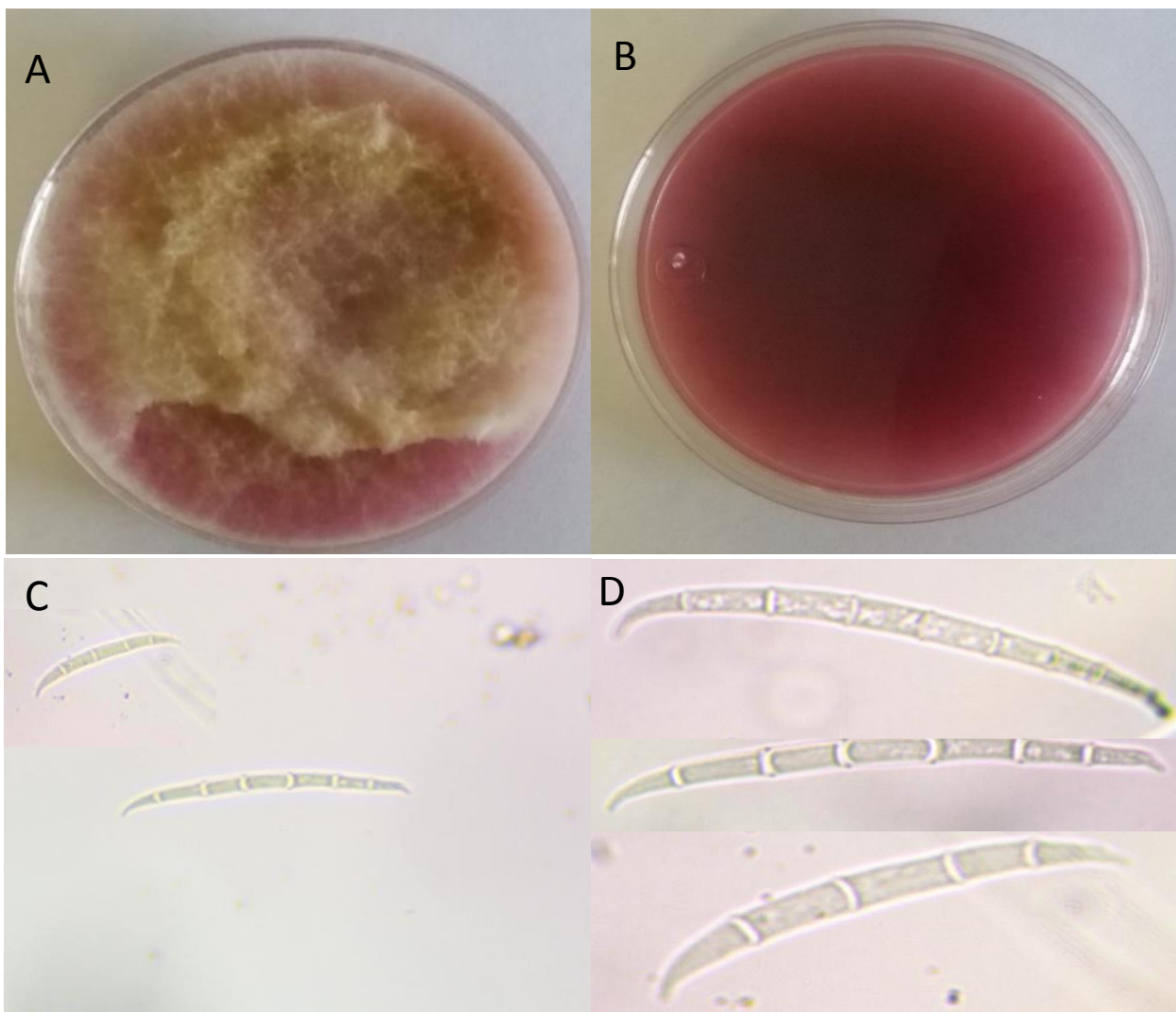


Figura 1.10. Caracterización cultural y morfológica de *F. boothii*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios a 40x y D) Macroconidios a 100x de 7 días en medio SNA.

1.5.4.4 *Fusarium temperatum* J. Scauflaire y F. Munaut

Las colonias en PDA tienen micelio aéreo floccoso, al inicio de blanco a rosa pálido y se tornó violeta claro. Esporodocios naranja pálido en PDA. Macroconidios hialinos, con 4 y 5 septos, más común los de 4 septos, falcados, célula basal en forma de pie y célula apical en pico curvada, 22-50 x 2-4 μm . Microconidios abundantes, hialinos en monofialides y polifialides. Las características descritas por Scauflaire *et al.* (2011) y los resultados encontrado al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden para *F. temperatum*.

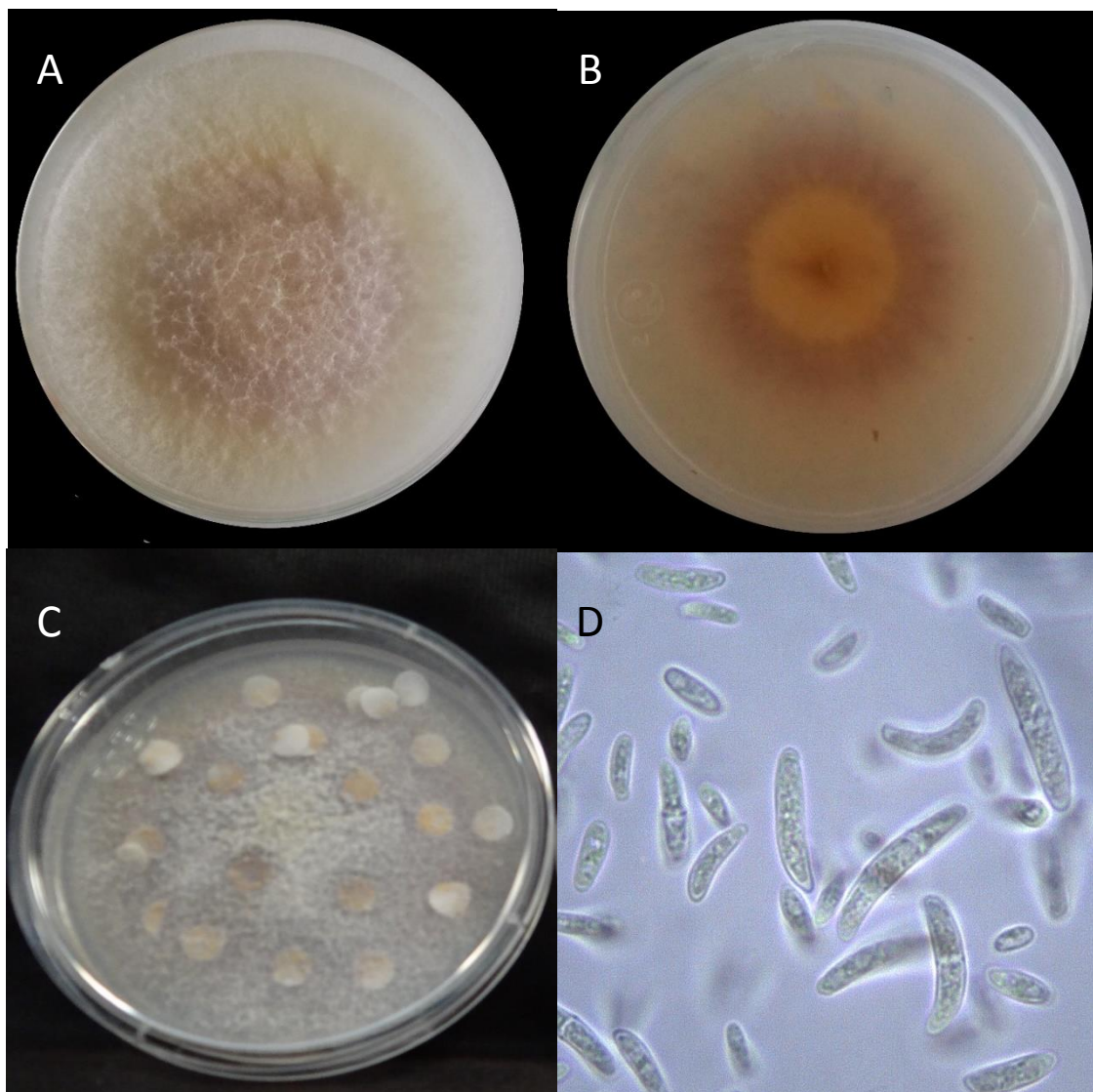


Figura 1.11. Caracterización cultural y morfológica de *F. temperatum* A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Esporodocios sobre papel filtro y D) Conidios de 7 días en medio SNA.

1.5.4.5 *Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo

En medio PDA crece rápidamente y produce abundante micelio blanco pero después se torna café claro con la edad. El agar se pigmenta de color café oscuro y manchas cafés oscuras. Los macroconidios hialinos, largos, delgados, pronunciada curvatura dorsiventral de 5 septos, célula apical larga en forma de látigo. Célula basal en forma de pie alargada. Microconidios ausentes, las características coinciden para *F. equiseti* según Leslie y Summerell (2006).

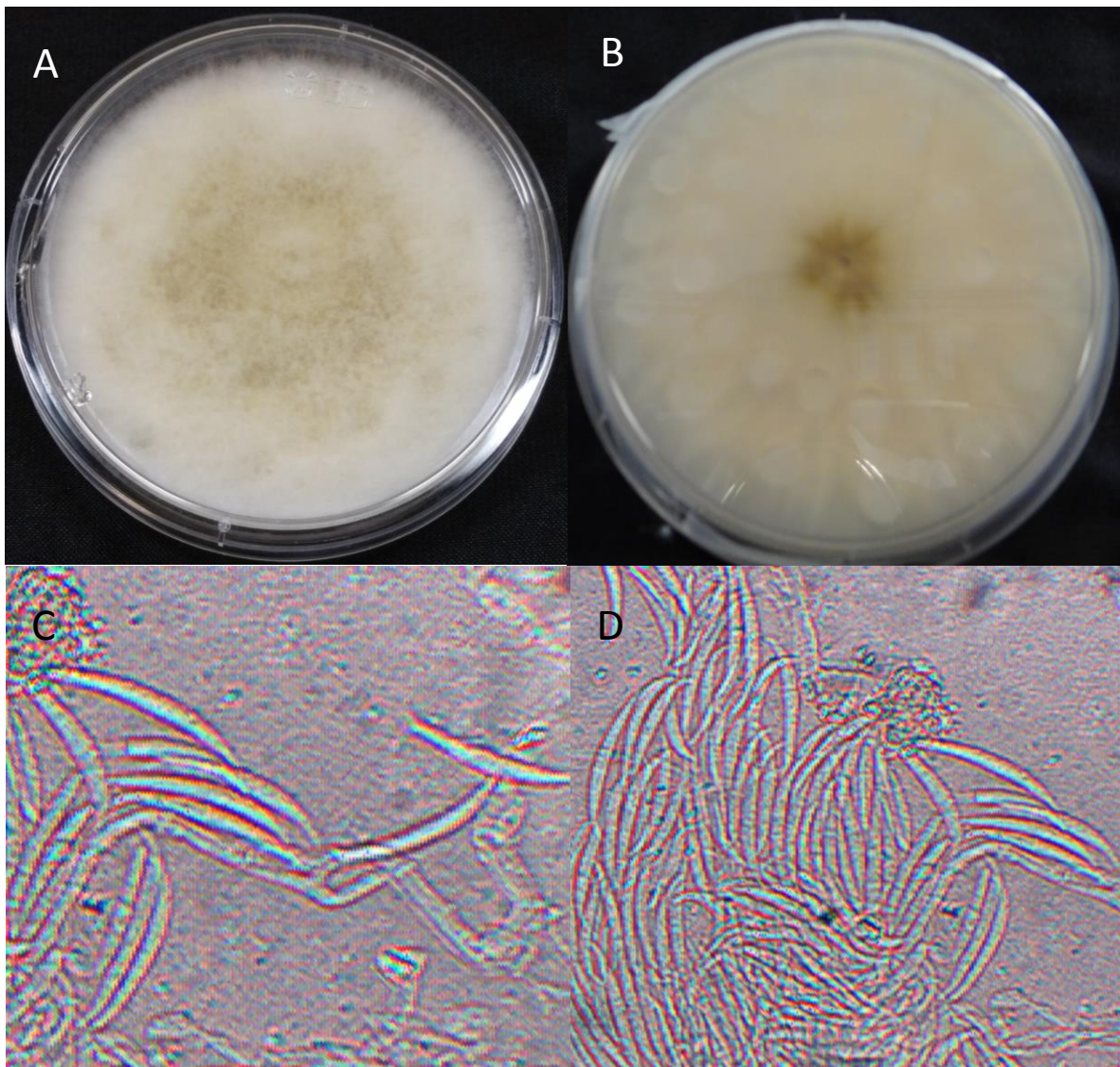


Figura 1.12. Caracterización cultural y morfológica de *F. equiseti*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) y D) Macroconidios a 100x de 7 días en medio SNA.

1.5.4.6 *Fusarium scirpi* Lambotte y Fautrey

En medio PDA produce abundante micelio blanco pero después se torna café a marrón con la edad. El agar se pigmenta con manchas cafés oscuras. Los macroconidios hialinos, largos, delgados, pronunciada curvatura dorsiventral de 5 septos. Célula apical alargada. Célula basal en forma de pie alargada. Microconidios elipsoides de 0 a 3 septos, las características descritas por Leslie y Summerell (2006) y los resultados encontrado al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden para *F. scirpi*.

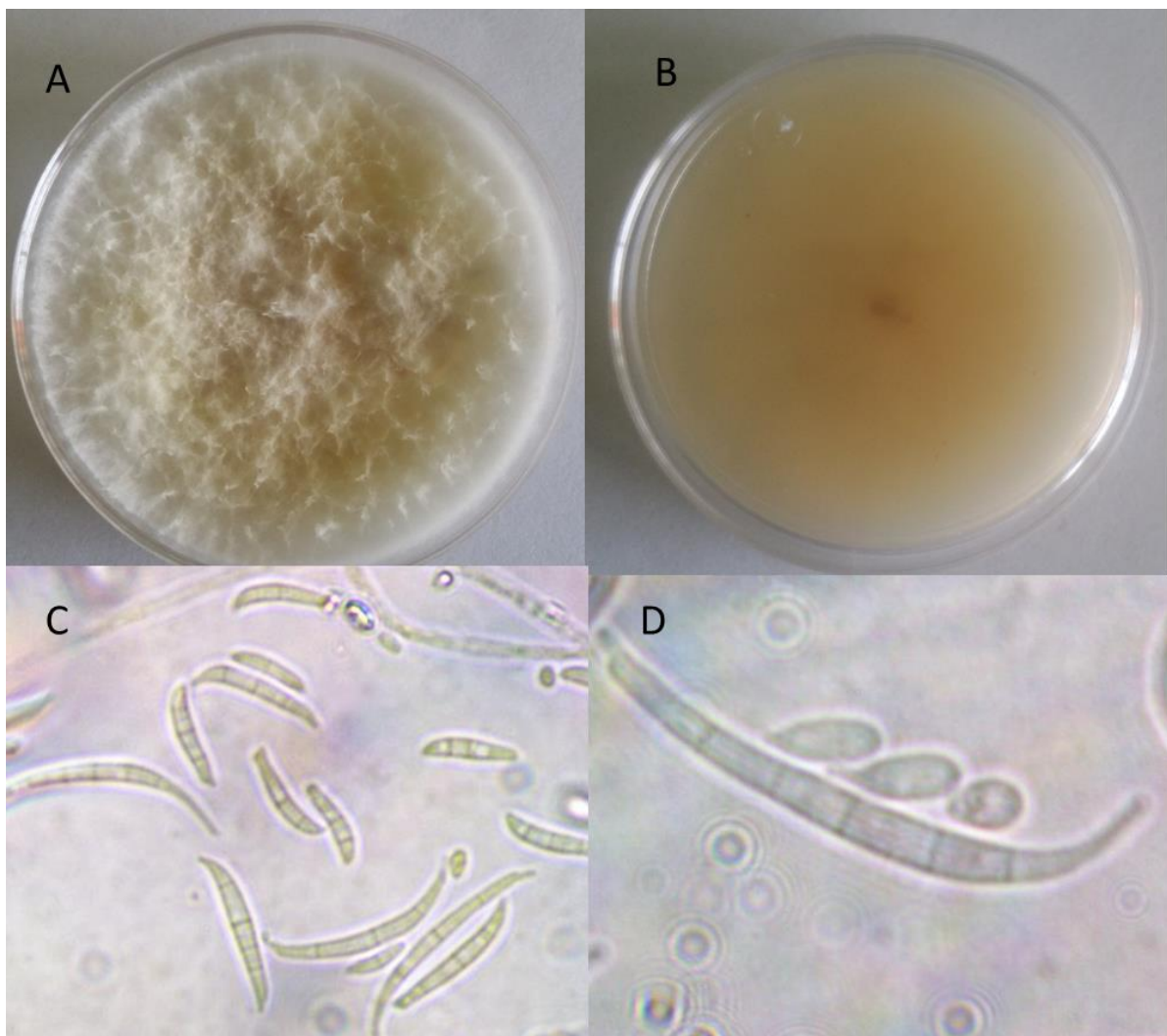


Figura 1.13. Caracterización cultural y morfológica de *F. scirpi* A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios y microconidios a 40x y D) Macro y micro a 100x en medio SNA.

1.5.4.7 *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg

En medio PDA abundante micelio inicialmente blanco después se torno color violeta-purpura, el agar se pigmento de purpura. Macroconidios hialinos, delgados, casi rectos, en mayoría de 3 septos. Célula apical curvada. Célula basal poco desarrollada. Microconidios hialinos, ovalados, sin septos, en cadenas sobre monofialides y polifialides formando falsas cabezas. Las características mencionadas coinciden con Nelson, (2001) y Leslie y Summerelle (2006) y los resultados al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden para *F. proliferatum*.

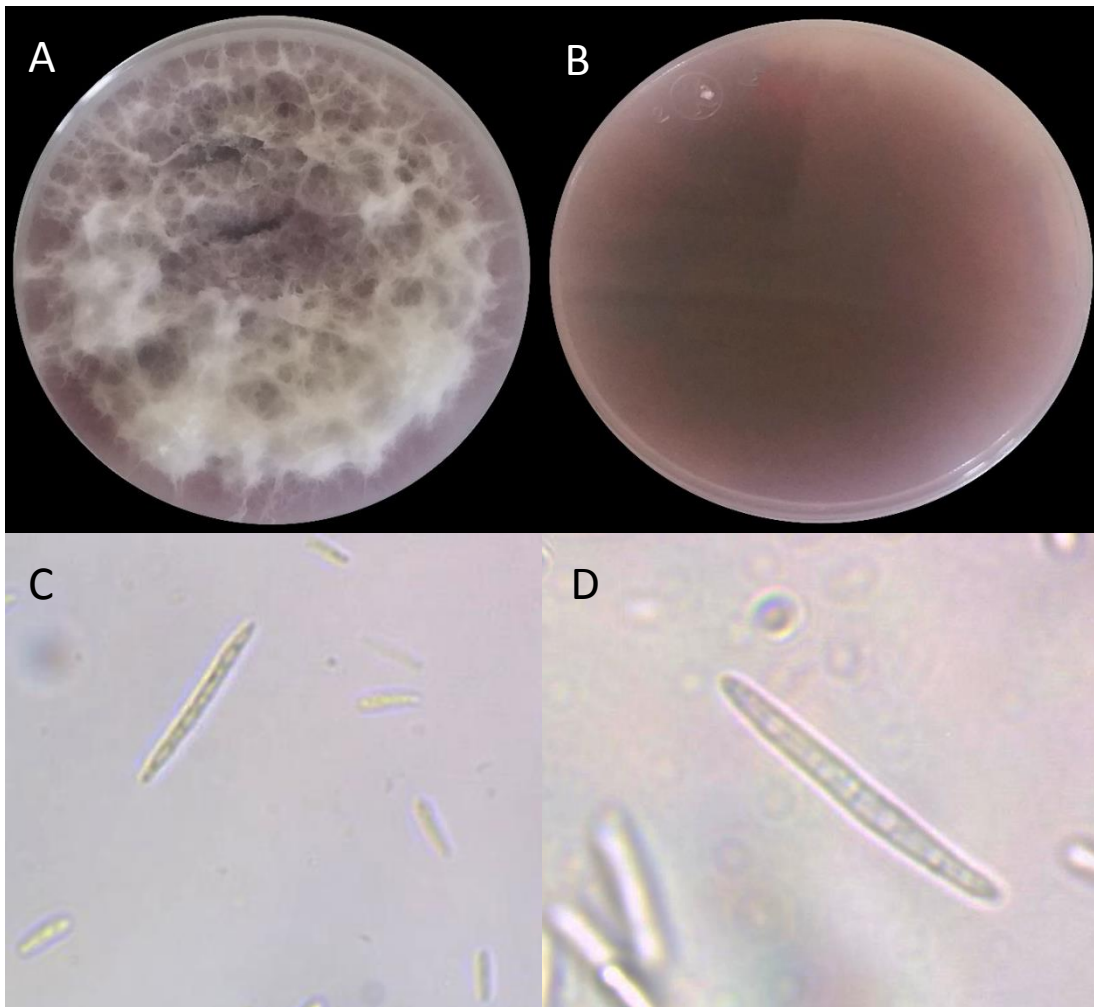


Figura 1.14. Caracterización cultural y morfológica de *F. proliferatum*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios y microconidios a 40x y D) Macroconidios a 100x de 7 días en medio SNA.

1.5.4.8 *Fusarium incarnatum* (Roberge) Sacc

En medio PDA micelio aéreo algodonoso, pigmento en el agar de color anaranjado pálido. Macroconidios hialinos, ligeramente curvados, en mayoría de 3 septos. Célula apical curvada y afilada. Célula basal en forma de pie. Presenta mesoconidios. No hubo presencia de microconidios. Las características encontradas coinciden con la descripción de Song *et al.*, (2014) para *F. incarnatum*, también los resultados encontrado al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden.

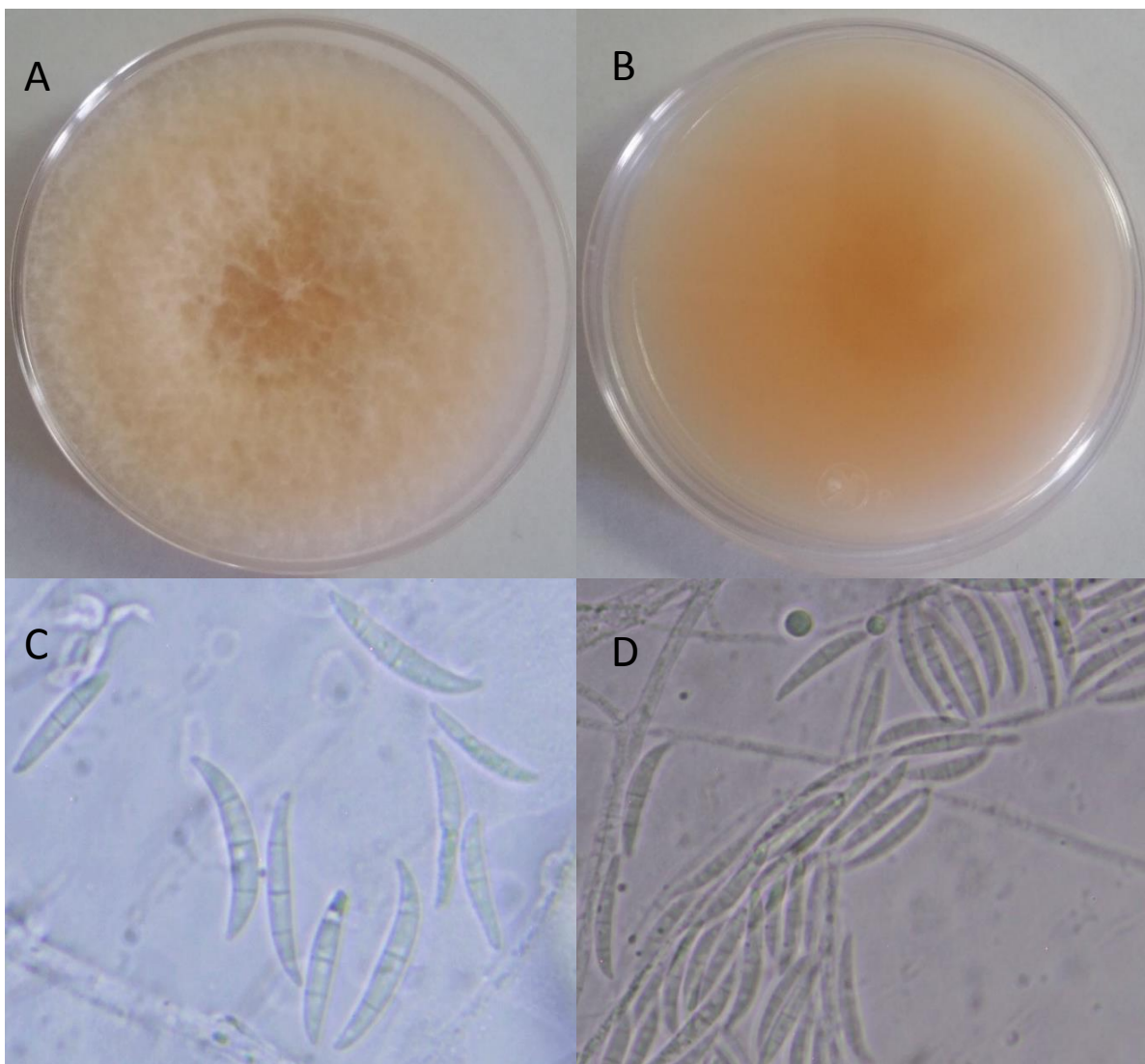


Figura 1.15. Caracterización cultural y morfológica de *F. incarnatum*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) y D) Macroconidios a 40x de 7 días en medio SNA.

1.5.4.9 *Fusarium nygamai* Burgess y Trimboli

El micelio inicialmente blanco que cambio a violeta con la edad, con pigmentos violetas producidos en el agar. Polifialides abundantes. Microconidios en cadena de 2 a 10, elipsoide a clavado con 0 septas, 5-15 x 2-3. Macroconidios de 3 septos la mayoría, 25-54 x 2.5-3.5 μm , célula basal en forma de pie, célula apical curvada. Las características descritas por Burgess y Trimboli (1986) y Leslie y Summerelle (2006) y los resultados encontrado al comparar la secuencia EF-1 α en el Genbank coinciden para *F. nygamai*.

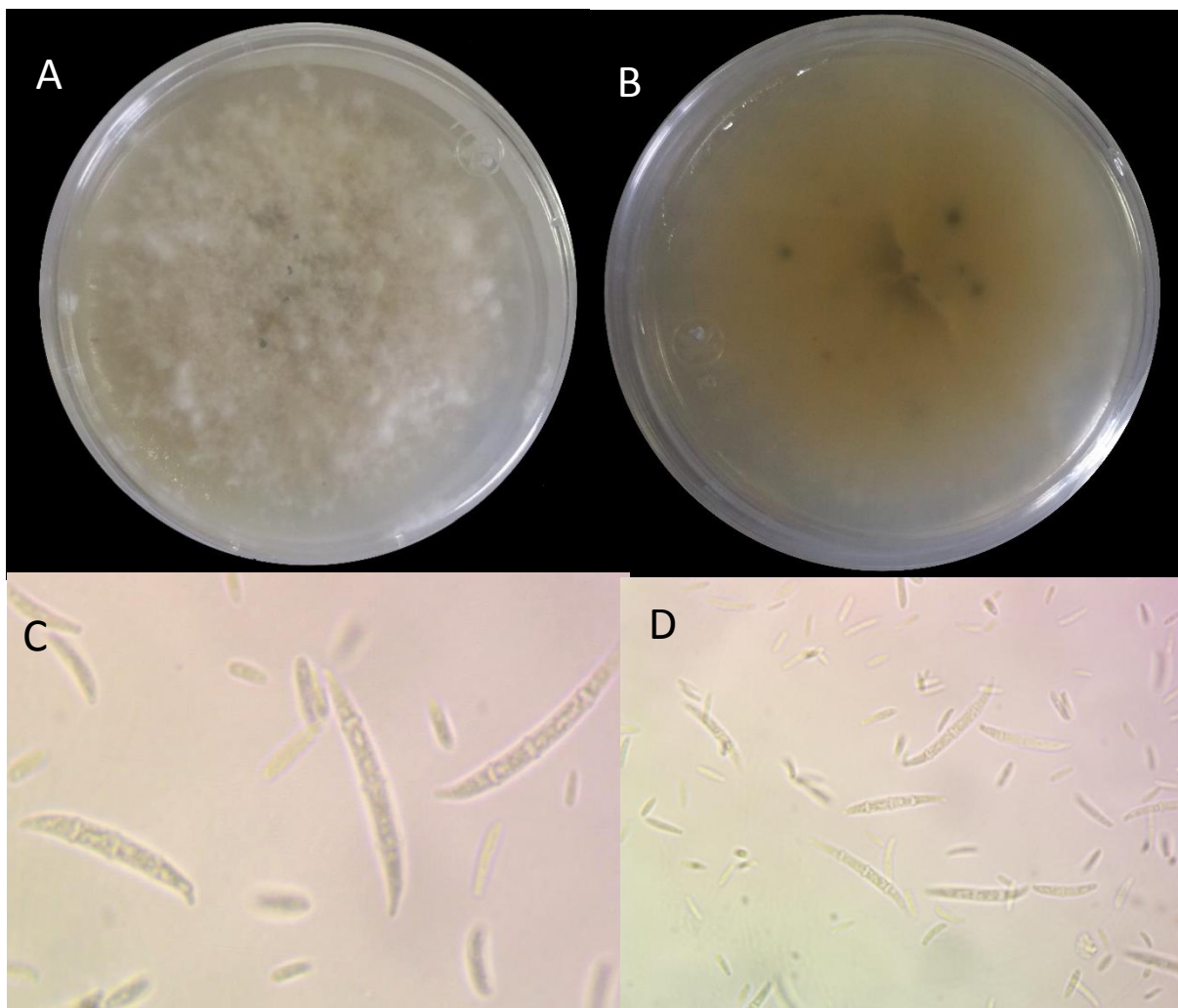


Figura 1.16. Caracterización cultural y morfológica de *F. nygamai*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios a 40x y D) Macroconidios y microconidios a 40x, 7 días en medio SNA.

1.5.4.10 *Fusarium sporotrichioides* Sherbakoff

En PDA micelio aéreo abundante, inicialmente crema y oscurece al transcurso de los días, se produce pigmentos rojizo en el agar. Macroconidios falcados en forma de luna, de 3 a 5 septos predominante 3. Celula apical curvada terminada en punta. Celula basal pobremente desarrollada. Microconidios piriformes aceptados, fusoides de 1 y 2 septos. Mesoconidios fusoides de 3 septos. Presencia de mono y polifialides (Leslie and Summerell 2006).

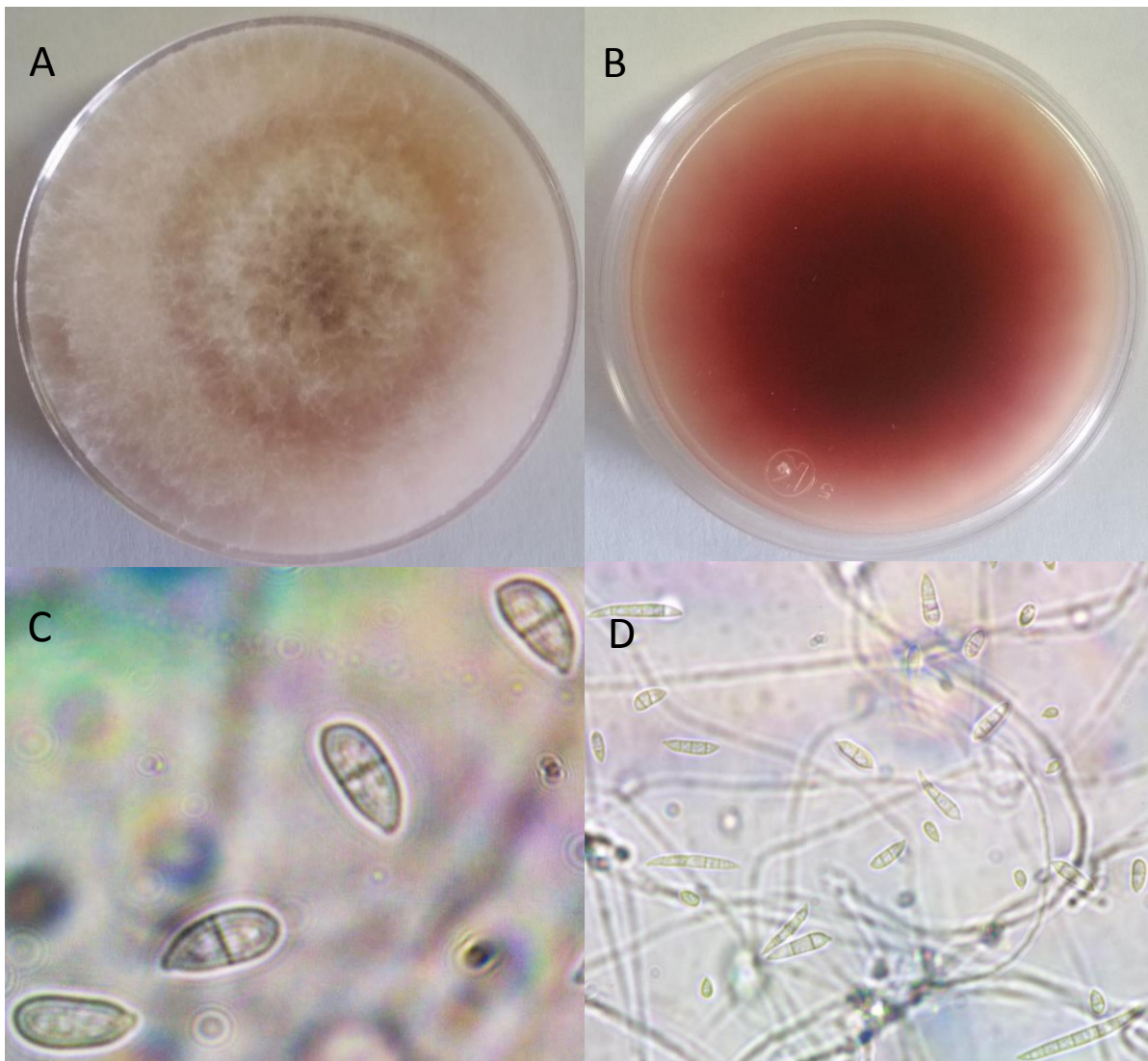


Figura 1.17. Caracterización cultural y morfológica de *F. sporotrichioides*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Microconidios a 100x y D) Microcnidios, mesoconidios y macroconidios de 7 días en medio SNA.

1.5.4.11 *Fusarium avenaceum* (Fries) Saccardo

En PDA crecimiento rápido y abundante del micelio, al principio blanco y después toma un color de amarillo. Macroconidios hialinos, rectos, delgados y largos en su mayoría 3 y 4 septos. Principalmente de 3 a 5 septos $24-46 \times 3-4 \mu\text{m}$. Célula apical alargada y curvada en la punta. Célula basal pobremente desarrolla en forma de pie. Las características coinciden con las descritas con Nelson, (2001) y Leslie y Summerelle (2006) para *F. avenaceum*.

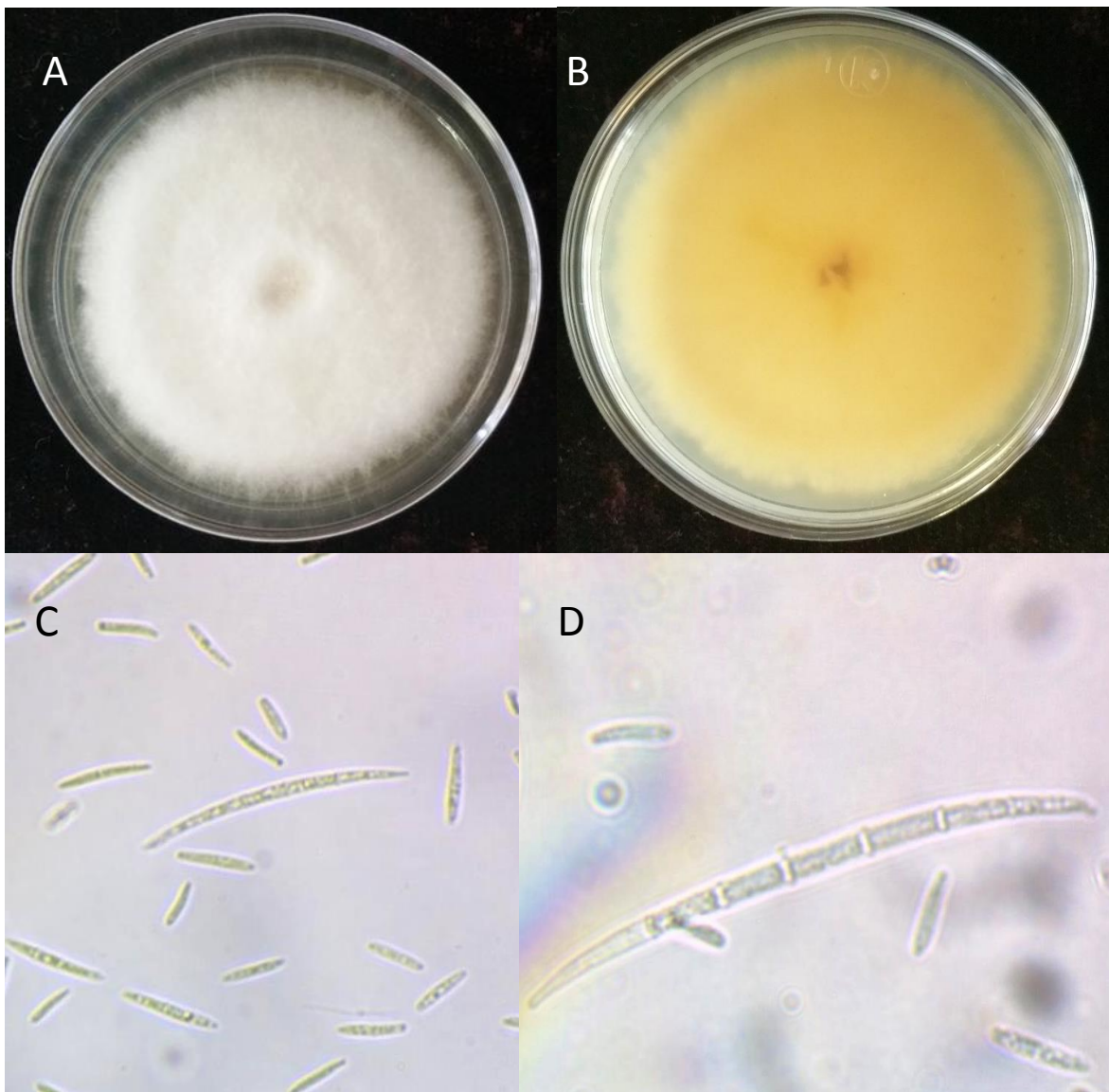


Figura 1.18. Caracterización cultural y morfológica de *F. avenaceum*. A) Colonia en medio PDA anverso. B) Colonia en PDA reverso. C) Macroconidios y microconidios a 40x y D) Macroconidios a 100x de 7 días en medio SNA.

1.5.4.12 *Fusarium nelsonii* Marasas y Logrieco

En PDA micelio blanco flucoso produce en algunos aislamientos pigmentos rojos en el agar. Macroconidios curvados y falcados, la mayoría con 3 septos. Célula apical curvada en forma de pico. Célula basal en forma de pie desarrollado. Microconidios de cero a un septo, fusiforme o ligeramente curvados, estas características coinciden con *F. nelsonii* según lo reportado por Marasas *et al.* (1998) y Leslie y Summerelle, (2006).

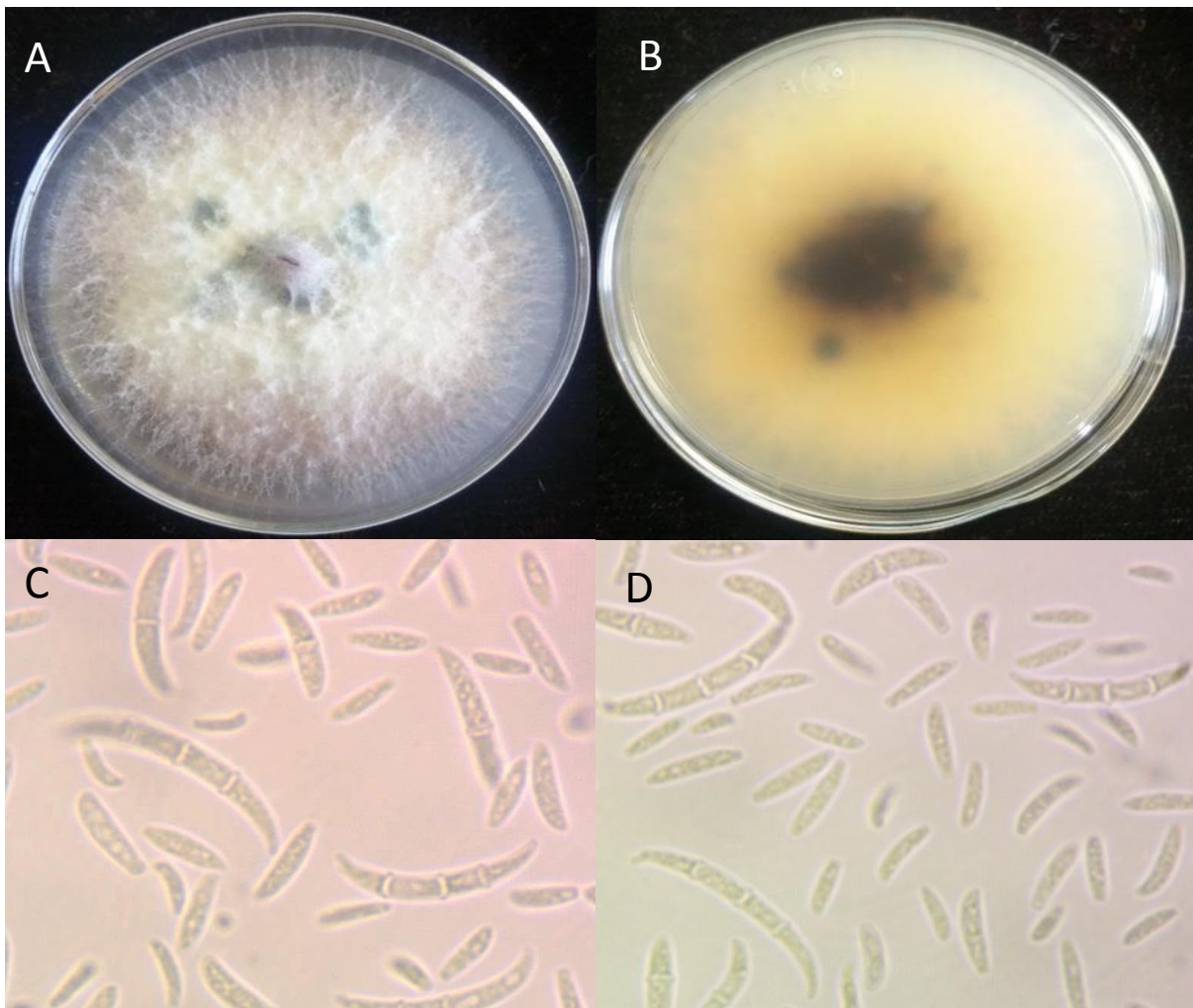


Figura 1.19. Caracterización cultural y morfológica de *F. nelsonii*. A) Colonia en medio PDA lado anverso. B) Colonia en PDA lado reverso. C) Macroconidios a 100x y D) Macroconidios y microconidios a 100x, 7 días en medio SNA.

CONCLUSIONES

La relación entre los hongos y hospedantes las plantas en este caso el trigo, es de vital importancia por la cría e ingeniería de cultivos para la resistencia a la infección por *Fusarium* y la contaminación por micotoxinas.

Con el muestreo realizado en la zona productora de trigo en la región noreste del País se concluye en los estados de Baja California, Sonora y Sinaloa no están presente el complejo *Fusarium graminearum* y las especies que causan el tizón del trigo. Por lo tanto los trigos duros y harineros no están contaminado por las micotoxinas que producen estos hongos.

En el estado de Guanajuato si está presente la enfermedad del tizón de la espiga por lo tanto se requiere medidas para el control de esta enfermedad y la contaminación de micotoxinas que se producen en el trigo. En Guanajuato se encontró *F. boothii*, *F. avenaceum* y *F. sporotrichioides* los que están reportados que causan el tizon de la espiga y contaminan el grano con tricotecenos.

LITERATURA CITADA

- Aoki, Takayuki, O'Donnell, K. and Geiser, D. M. 2014. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, 80(3), 189–201. doi:10.1007/s10327-014-0509-3.
- Castella, G. and Cabañes, F. J. 2014. Phylogenetic diversity of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolated from Spanish wheat. *Antonie van Leeuwenhoek*. 106 : 309-317. doi: 10.1007/s10482-014-0200-x.
- Cerón-Bustamante, M. 2015. Tesis. Caracterización morfológica y molecular de especies de *Fusarium* causantes del tizón de la espiga del trigo en México. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
- Dean, R., van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J. and Foster, G. D. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13 : 414-430.
- Holliday, P. 1980. *Fungus diseases of tropical crops*. Cambridge University Press. 624p.
- Lanza, F. E., Mayfield, D. A and Munkvold, G. P. 2016. First Report of *Fusarium temperatum* Causing Maize Seedling Blight and Seed Rot in North America. *Plant Disease*. 100(5):1019-1019.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. United States of America: Blackwell Publishing. p. 388.

- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A. and Perrone, G. 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 645-667. doi: 10.1023/A:1026033021542.
- Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., Kazan, K. 2013. *Fusarium* Pathogenomics. *Annual Review of Microbiology* 67:399-416. doi: 10.1146/annurev-micro-092412-155650.
- Marasas, W. F. O., J. P. Rheeder, A. Logrieco, P. S. Van Wyk, and Jean H. Juba. 1998. "*Fusarium nelsonii* and *F. musarum*: Two New Species in Section *Arthrosporiella* Related to *F. camptoceras*. *Mycologia* 90(3): 505-13. doi:10.2307/3761409.
- McMullen, M. P., Zhong, S. and Neate, S. 2008. "*Fusarium* Head Blight (Scab) of Small Grains" (revised). NDSU Extension Service, PP-804, North Dakota State University, USA.
- Nazari, L., Patteri, E., Terzi, V., Morcia, C. and Rossi, V. 2014. Influence of temperature on infection, growth, and mycotoxin production by *Fusarium langsethiae* and *F. sporotrichioides* in durum wheat. *Food Microbiology*. 39:19-26. doi: 10.1016/j.fm.2013.10.009.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania.

- Palazzini, J. M., Yerkovich, N., Alberione, E., Chiotta, M. and Chulze, S. N. 2017. Reprint of “An integrated dual strategy to control *Fusarium graminearum* sensu stricto by the biocontrol agent *Streptomyces* sp. RC 87B under field conditions”. *Plant Gene*. 11(A): 2-7. Doi: 10.1016/j.plgene.2017.07.002.
- Scauflaire, J., Gourgue, M., and Munaut, F. 2011 (2017). *Fusarium temperatum* sp. nov. from maize, an emergent species closely related to *Fusarium subglutinans*. *Mycologia*, 103:586–597. Doi: <https://doi.org/10.3852/10-135>.
- Song, M., Yun, H. Y. and Kim, Y. H. 2014. Antagonistic *Bacillus* species as a biological control of ginseng root rot caused by *Fusarium* cf. *incarnatum*. *Journal of Ginseng Research*. 38:136-145. doi:10.1016/j.jgr.2013.11.016.
- Starkey, D. E., Ward, T. J., Aoki, T., Gale, L. R., Kistler, H. C., Geiser, D. M., Suga, H., Tóth, B., Varga, J. and O'Donnell, K. 2007. Global molecular surveillance reveals novel *Fusarium* head blight species and trichothecene toxin diversity. *Fungal genetics and biology: FG y B*, 44 11: 1191–204. doi:10.1016/j.fgb.2007.03.001.
- Swett, C. L and Gordon, T. 2009. Colonization of corn (*Zea mays*) by the pitch canker pathogen, *Fusarium circinatum*: Insights into the evolutionary history of a pine pathogen *Phytopathology*, 99:126-S127.
- Swett, C. L and Gordon, T. 2012. First report of grass species (Poaceae) as naturally occurring hosts of the pine pathogen *Gibberella circinata* *Plant Disease*, 96: 908–908

- Swett, C. L and Gordon, T.2015. Endophytic association of the pine pathogen *Fusarium circinatum* with corn (*Zea mays*), Fungal Ecology. 13: 120-129. Doi: 10.1016/j.funeco.2014.09.003.
- Wang, J., Ndoye, M., Zhang, J., Li, H. and Liao, Y. 2011. Population structure and genetic diversity of the *Fusarium graminearum* species complex. Toxins 3: 1020–1037. Retrieved from <http://www.mdpi.com/2072-6651/3/8/1020/htm>.
- Warham, E.J, Butler, L.D. y Sutton, R.C. 1997. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo.
- Windels, C.E. 2000. Economic and social impacts of fusarium head blight: changing farms and rural communities in the northern great plains. Phytopathology. 90:17–21.