UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE

UNIDAD REGIONAL LOS MOCHIS

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

MAESTRÍA EN FITOPATOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

TESIS:

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR, MORFOLÓGICA Y PATOGÉNICA DE *Fusarium* spp. ASOCIADAS A PUDRICIÓN EN RAÍZ Y TALLO EN MAÍZ EN SINALOA

PRESENTA:

DANIELA COSSIO CÓRDOBA

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN FITOPATOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

Directores de Tesis:

Dr. Rubén Félix Gastélum

Dra. Alma Rosa Solano Báez

Los Mochis, Sinaloa, México, agosto 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE

VICERRECTORÍA ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Asunto: **carta conclusión de tesis para opción de grado**.
Los Mochis Sinaloa, a 28 de junio 2023

Dra. Karla Mariela Sandoval Cota
Jefa del Departamento de Investigación y Posgrado
Unidad Regional Los Mochis
Presente.-

Habiendo constatado que las observaciones realizadas por el comité revisor han sido atendidas en la obra, el suscrito en la calidad de director de tesis, doy por concluido el trabajo siguiente:

Nombre del maestrante: **Daniela Cossio Córdoba** Matrícula: **21021140**

Nombre de Tesis: **"Caracterización molecular, morfológica y patogénica de *Fusarium* spp. asociadas a la pudrición de raíz y tallo del maíz (*Zea mays* L.) en Sinaloa".**

Nombre del Programa Educativo: **Maestría en Fitopatología y Medio Ambiente.**

Atentamente.

Dr. Rubén Félix Gastélum
Director de Tesis

UAdeO
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE

El presente trabajo de investigación titulado **"Caracterización molecular, morfológica y patogénica de *Fusarium* spp. asociadas a la pudrición de raíz y tallo del maíz (*Zea mays* L.) en Sinaloa"** realizado por la **Lic. Daniela Cossio Córdoba** con matrícula: **21021140**, dirigido por los integrantes del Comité de Tesis abajo indicados, ha sido aprobado por el mismo y aceptado como requisito parcial, para la obtención del grado de Maestra en Ciencias.

COMITÉ DE TESIS:

Dr. Rubén Félix Gastélum
Director de Tesis

Dra. Alma Rosa Solano Báez
Co-Directora de Tesis

Dra. Karla Yeriana Leyva Madrigal
Asesora

Dra. Elizabeth García León
Asesora

Los Mochis, Sinaloa a 28 de junio de 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Los Mochis, Sinaloa, el día 28 del mes junio del año 2023, la que suscribe Daniela Cossio Córdoba alumna del Programa Educativo de Maestría en Fitopatología y Medio Ambiente con número de matrícula 21021140, de la Unidad Regional Los Mochis manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del: Dr. Rubén Félix Gastélum y Dra. Alma Rosa Solano Báez y cede los derechos del trabajo titulado "Caracterización molecular, morfológica y patogénica de *Fusarium* spp. asociadas a la pudrición de raíz y tallo del maíz (*Zea mays* L.) en Sinaloa.", a la Universidad Autónoma de Occidente para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Daniela Cossio C.

Lic. Daniela Cossio Córdoba

El presente trabajo de investigación fue realizado en el Laboratorio de Interacción Planta-Patógeno y el Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Los Mochis.

AGRADECIMIENTOS

Primero quiero agradecerle a DIOS por la oportunidad que me dio de poder culminar esta etapa importante de mi vida, por darme fuerzas y no soltarme nunca de su brazo.

También, agradezco a Conahcyt por el apoyo con la beca otorgada y a la administración del programa de maestría porque sin su apoyo no fuera sido posible mi estancia aquí en México.

Agradezco a mi familia, a mi madre Vilma Lucia Cordoba Palacios y a mis hermanos Wladimir Cossio y Martha Paola Cossio por siempre apoyarme, por aconsejarme y siempre querer lo mejor para mí. Agradezco a mis amigas de Colombia Xilena, Carolina, Lucy, Angélica, Angela, por su paciencia y apoyo en este proceso. A mis madrinas Edith Rivas y Mireya Varela por sus constantes bendiciones y apoyo emocional que me han bridado siempre. A la familia Magaña Moreno que me acogió desde un inicio y siempre me apoyó; a los compañeros y amigos que conocí aquí en la maestría, que ahora son parte de mi familia, Héctor, Massiel, Luza, Ramón, Hugo, Manuel, Octavio, Jessica, Aleja, Romina, Felipe, Yuli, Luisito, Juan Luis, Michel, Danna, Estefanía, Irela y Alexa, estaré siempre agradecida con DIOS por ponerlos en mi camino y por siempre apoyarme cuando más lo necesité.

Al Dr. Rubén Félix Gastélum por ser un excelente director, por ser como un padre para mi y por su paciencia, amor y entrega. Gracias doctor por motivarme a querer enseñar con el mismo amor que usted lo hace y orientarme a ser una buena persona y profesional en todos los aspectos de mi vida. A la Dra. Alma Rosa Solano, por su paciencia y apoyo, por ayudarme en este proceso en un inicio y hacerme entender que el “orden y disciplina” es fundamental en la vida. A la doctora Karla Yeriana Leyva agradezco por toda la paciencia a mis quejas, comprensión, entrega y amor con la que siempre estuvo para mi; agradezco sus consejos y motivación para ayudarme a continuar a pesar de mis bajones y espero que nunca se le olvide que su valentía y fortaleza es la que nos motiva siempre a sus estudiantes. Agradezco a la Dra. Elizabeth García, por su adorable entrega y amor a lo que hace, por su disponibilidad y sobretodo por la orientación que siempre me dio. Y agradecerle a Dra. Arlene Mora por siempre estar para mi cuando lo necesité, por su apoyo y comprensión a todas mis dificultades y quejas, pero sobretodo, por siempre hacerme sentir como su hija, es una persona única que hace que veamos la vida de una forma diferente.

DEDICATORIA

A mi padre: Francisco Cossio Mosquera (QEPD), mi madre y mis hermanos por siempre confiar en mi y no nunca dejarme sola.

A mí por demostrarme ser capaz y poder sacar la fortaleza interna que no sabía que tenía.

RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta ampliamente cultivada en el mundo y se considera como uno de los alimentos de consumo básico de distintas poblaciones. En México gran parte del territorio es propicio para la producción del cultivo, siendo Sinaloa el principal productor. Estudios previos han consignado a algunas especies de *Fusarium* como agentes causales de pudrición de raíz y con en este cultivo, donde causan pérdidas que varían de 30% a 60%. En Sinaloa son pocos los estudios donde se han identificado especies de *Fusarium* asociadas a esta enfermedad, por lo que el objetivo de este trabajo fue caracterizar molecular, morfológica y patogénicamente a especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz y tallo. Los aislados incluidos en el presente estudio fueron proporcionados por Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Sinaloa y Universidad Autónoma de Occidente. Los aislados se caracterizaron molecular y morfológicamente para su identificación empleando un análisis multigénico con RPB2, TEF 1α e ITS. Esto permitió la identificación de *Fusarium fredkrugeri*, *Fusarium falciformis*. También se identificó a *Fusarium* sp. (F2R) como posible nueva especie asociada a la pudrición de raíz y tallo del maíz; de igual forma, *Fusarium* sp. (F6R), *Fusarium* sp. (F14R) y *Fusarium* sp. (F16T) no se determinó su identidad a nivel especie, por lo que se requieren estudios moleculares adicionales para determinar su identidad. Las características morfológicas de cada especie correspondieron a las reportadas dentro del complejo de especies de *Fusarium* burgessii, complejo de especies de *Fusarium sambucinum*, complejo de especies de *Fusarium fujikoroi*, complejo de especies de *Fusarium solani* y complejo de especies de *Fusarium incarnatum*-equiseti. Se observó variación en la patogenicidad de las especies de *Fusarium* en mención considerando las variables altura, grosor de base del tallo,

número de hojas, porcentaje de pudrición de raíz, peso seco de raíz, peso seco del follaje, longitud de mazorcas, diámetro de mazorcas y producción de grano (g) en las plantas que crecieron en suelo infestado artificialmente con las especies de *Fusarium* en condiciones de invernadero. *Fusarium verticillioides* se utilizó como testigo positivo cuya virulencia fue comparable a algunas de las especies de *Fusarium* incluidas en este estudio. En este trabajo se consignan nuevas especies de *Fusarium* como causantes de pudrición de raíz y tallo del maíz en Sinaloa, lo cual contribuirá a la implementación de estrategias de manejo de la enfermedad en el futuro.

Palabras clave: *Fusarium* spp., patogenicidad, maíz, pudrición, raíz, tallo

ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L.) is a widely cultivated plant in the world and is considered one of the staple foods of different populations. In Mexico, a large part of the territory is suitable for the production of this crop, including Sinaloa as the main producer. Previous studies have reported some species of *Fusarium* as causal agents of root and stalk rot in this crop, causing losses ranging from 30% to 60%. In Sinaloa, studies on *Fusarium* species associated with this disease are incipient; thus, the objectives of this study was to characterize molecular, morphological and pathogenic *Fusarium* species associated with root and stalk rot of maize. The isolates included in this study were provided by Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Sinaloa and Universidad Autónoma de Occidente. The isolates were molecularly and morphologically characterized for identification using multigenic analysis with the primers RPB2, TEF 1α and ITS. This allowed for the identification of *Fusarium fredkrugeri*, *Fusarium falciformis*. *Fusarium* sp. (F2R) was also identified as a possible new species associated with root and stalk rot of maize; similarly, *Fusarium* sp. (F6R), *Fusarium* sp. (F14R) and *Fusarium* sp. (F16T) were not identified at the species level; therefore, additional molecular studies are required to determine their identity at speciel level. The morphological characteristics of each species corresponded to those reported within the *Fusarium burgessii* species complex, *Fusarium sambucinum* species complex, *Fusarium fujikoroi* species complex, *Fusarium solani* species complex and *Fusarium incarnatum*-equiseti species complex. The pathogenicity of the above-mentioned species of *Fusarium* was demonstrated considering height of plants, stalk thickness, number of leaves, percentage of root rot, root dry weight, foliage dry weight, ear length, ear diameter and kernel weight in plants grown in artificially infested soil under

greenhouse conditions. *Fusarium verticillioides* was used as a positive control. *Fusarium* species included in the present study had a significant effect on plant growth and yield. In this work, new species of *Fusarium* are reported causing root and stalk rot of maize in Sinaloa, which will contribute to the implementation of management strategies for the disease in the future.

Keywords: *Fusarium* spp., pathogenicity, maize, rot, root, stalk

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS ..... **i**
ÍNDICE DE FIGURAS ..... **ii**
I. INTRODUCCIÓN GENERAL **1**
II. REVISIÓN DE LITERATURA **3**
2.1 Origen y distribución del cultivo 3
2.2 Descripción taxonómica y botánica 4
2.2.1 Taxonomía del maíz (GBIF, 2021): 6
2.3 Importancia mundial y nacional 6
2.4 Requerimientos edafoclimáticos 7
2.5 Problemas fitosanitarios 8
2.5.1 Enfermedades causadas por patógenos de origen en el suelo 9
2.6 Enfermedad de estudio 9
2.6.1 Clasificación taxonómica de *Fusarium* (EPPO, 2020) 10
2.6.2 Descripción morfológica del patógeno 10
2.6.3 Síntomas y ciclo de vida 11
2.6.4 Importancia y distribución de los patógenos asociados a la pudrición de raíz y tallo del maíz 12
2.6.5 Manejo de la pudrición de raíz y tallo 13
III. JUSTIFICACIÓN **15**
IV. HIPÓTESIS **16**
V. OBJETIVOS **16**
5.1 Objetivo general 16
5.2 Objetivos específicos 16
VI. MATERIALES Y MÉTODOS **17**
6.1 Obtención de aislados fúngicos 17
6.2 Purificación de hongos asociados a la pudrición de raíz y tallo en maíz 18
6.3 Identificación molecular de los aislados de *Fusarium* 19
6.3.1 Extracción de ADN 19
6.3.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) 20
6.3.3 Purificación y secuenciación 21
6.3.4 Análisis filogenéticos 22

6.4 Caracterización cultural de los aislados de *Fusarium* 22
6.5 Morfometría de los aislados de *Fusarium* asociados a la pudrición de raíz y tallo 23
6.6 Pruebas de patogenicidad 24
6.6.1 Experimentos en invernadero 24
6.7 Análisis estadístico de datos 26
VII. RESULTADOS 27
7.1 Identificación Molecular de los aislados 27
7.2 Caracterización morfológica 35
7.3 Pruebas de patogenicidad 42
7.3.1 Experimentos en invernadero 42
VIII. DISCUSIÓN 48
IX. CONCLUSIONES 52
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Etapas fenológicas del cultivo de maíz……... 4-5

Cuadro 2. Información relativa a los seis aislados obtenidos de *Fusarium* spp. obtenidos de plantas de maíz con síntomas de pudrición de raíz……. 17

Cuadro 3. Características morfológicas de los complejos de especies de *Fusarium* obtenidas de pudrición de raíz en plantas de maíz en Sinaloa……. 41

Cuadro 4 Efecto de *Fusarium* spp. sobre plantas de maíz a los 63 días después de la siembra…… 45

Cuadro 5. Efecto de siete especies de *Fusarium* en el Desarrollo de plantas de maíz, pudrición de raíz, peso seco de raíz y plantas y producción…….. 47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium burgessii*, inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF y RPB2. La secuencia del aislado *Fusarium arcuatisporum* LC12147 como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En azul se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa……..…….. 28

Figura 2. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium fujikoroi* inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF y RPB2. La secuencia del aislado *Fusarium nirenbergiae* CBS 744.97 se utilizó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En rosado se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa……..... 29

Figura 3. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium sambucinum*, inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF. La secuencia del aislado *Fusarium nelsonii* NRRL 13338 se utilize como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En rojo se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa…… 30

Figura 4. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium incarnatum-equiseti* inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF. La secuencia del aislado *Fusarium concolor* NRRL 13459 se utilzó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En Naranja se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa…… 33

Figura 5. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Neocosmospora* inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF. La secuencia del aislado *Geejayessia celtidicola* CBS 122202 se utilizó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En verde se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa…… 34

Figura 6. Características morfológicas de *Fusarium* sp. (F2R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. **A)** Colonia al anverso y reverso. **B)** Microconidios formando cabezas falsas. **C)** Microconidios. Barra de escala= 20µm…….. 36

Figura 7. Características morfológicas de *Fusarium* sp. (F6R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. **A)** Colonia al anverso y reverso. **B)** Clamidosporas en grupo. **C)** Macroconidios. Barra de escala= 20µm…..... 36

Figura 8. Características morfológicas de *Fusarium fredkrugeri* (F11R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. **A)** Colonia al anverso y reverso. **B)** Macroconidios y microconidios. **C)** Polifiálide. **D)** Esporodoquios. Barra de escala= 20µm……..... 37

Figura 9. Características morfológicas de *Fusarium* sp. (F14R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. **A)** Colonia al anverso y reverso. **B)** Macroconidios y microconidios. **C)** Polifiálide. **D)** Esporodoquios. Barra de escala= 20µm……..... 38

Figura 10. Características morfológicas de *Neocosmospora falciformis* (F15R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. **A)** Colonia al anverso y reverso. **B)** Macroconidios y microconidios. **C)** Monofiálide. **D)** Esporodoquios. Barra de escala= 20µm…….. 39

Figura 11. Características morfológicas *Fusarium* sp. (F16T) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. **A)** Colonia al anverso y reverso. **B)** Polifiálide. **C)** Macroconidio y microconidio. Barra de escala= 20µm……. 40

Figura 12. Plantas de maíz inoculadas con los siete asilados de *Fusarium* después de 63 días después de inoculación …… 46

Figura 13. Raíces de plantas de maíz inoculadas con los siete asilados de *Fusarium* 176 días después de la siembra. **A)** Testigo. **B)** *Fusarium* sp. (F2R). **C)** *Fusarium* sp. (F6R). **D)** *Fusarium fredkrugeri* (F11R). **E)** *Fusarium* sp. (F14R). **F)** *Neocosmospora falciformis* (F15R). **G)** *Fusarium* sp. (F16T). **H)** *Fusarium verticillioides*……. 48

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta ampliamente cultivada en el mundo, considerada uno de los alimentos de consumo básico de distintas poblaciones; pertenece a la familia Poaceae y es una especie monocotiledónea de crecimiento anual y un ciclo vegetativo muy amplio (FAO, 1993; Grande y Orozco, 2013). Su origen se remonta al Valle de Tehuacán, Puebla México hace 7, 000 años, lo cual generó diversidad genética con aproximadamente 59 razas, las cuales se dispersaron hacia muchas partes del mundo (Grande-Tovar *et al*., 2013; Ramírez *et al*., 2014; Fernández-Suárez *et al*., 2013).

A nivel mundial, el maíz es el tercer cultivo más importante después del trigo y el arroz, con una producción de 1,462.4 millones de toneladas (FAO, 2023). México ocupa el octavo lugar en producción de maíz, después de países como Estados Unidos, China, Brasil, Argentina, India, Rusia y Ucrania (USDA, 2022).

En el ciclo otoño-invierno 2022 se sembraron 1,424,651 ha en México, de las cuales se cosecharon 1,422,163.94 ha con un valor de la producción de 12,685,844 millones de toneladas (SIAP, 2022). Gran parte del territorio nacional es propicio para la producción del cultivo, por lo que en los 32 estados de la república mexicana se produce maíz para grano, obteniendo rendimientos promedio de 8.92 t/ha. El principal estado con la mayor producción es Sinaloa con 5,253,631 t y rendimientos de 12.18 t ha^{-1} (SIAP, 2022).

Sin embargo, el rendimiento del cultivo puede verse afectado por factores bióticos y abióticos, ocasionando pérdidas que oscilan entre 30% y 60% (Zácamo-Velázquez *et al*., 2022). Dentro de los factores bióticos destacan las enfermedades causadas por hongos como la roya *(Puccinia sorghi*), el tizón foliar (*Exserohilum turcicum)*, la mancha foliar

(*Phyllachora maydis*), la marchitez tardía (*Cephalosporium maydis*), pudrición de tallo y raíz (*Macrophomina* spp., *Pythium* spp., *Colletotrichum graminicola*, *Stenocarpella* spp., *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* spp., siendo este último el más común en el cultivo (París *et al*., 2014; Tagele *et al*., 2019).

Fusarium es uno de los principales géneros que afectan al cultivo de maíz, destacando a las especies del complejo de *Fusarium fujikuroi*, el que a su vez incluye a *F. verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. proliferatum* causantes de una alta incidencia de pudrición de la mazorca, del tallo y de la raíz, generando disminución del rendimiento entre un 6.7% y un 9.3% (Zhao *et al*., 2021; Wang *et al*., 2021; Simões *et al*., 2022). Múltiples organismos se han aislado de plantas de maíz sintomáticas e incluyen a especies de *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Pythium* (Matthiesen *et al*., 2016). Entre las especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz y el tallo del maíz se mencionan a *F. acuminatum*, *F. chlamydosporum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F.proliferatum*, *F. redolens*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *Fusarium temperatum* y *F. verticillioides* (Okello *et al*., 2019).

En los ciclos agrícolas recientes en algunos lotes comerciales de maíz en el estado de Sinaloa, se ha observado la presencia de síntomas de pudrición de raíz y tallo en los que se han encontrado asociadas de manera consistente especies de *Fusarium*, lo que representa pérdidas para los agricultores. Considerando lo anterior, se realizaron aislamientos de hongos presentes en plantas con síntomas de pudrición de raíz y tallo y se procedió a la caracterización morfológica, molecular y patogénica de especies de *Fusarium* causantes de la enfermedad en diferentes regiones de Sinaloa, logrando con ello generar información que permita establecer alternativas de control para disminuir la incidencia del patógeno en el cultivo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen y distribución del cultivo

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales de mayor consumo a nivel mundial después del trigo y el arroz (Ortega-Sánchez, 2014). Su ancestro es el Teocintle, que es originario de México, debido a que la primera planta fue sembrada en el Valle de Tehuacán hace unos 7.000 años, lo que generó diversidad genética que se difundió en todo el continente americano y después en el resto del mundo (Grande-Tovar *et al*., 2013; Ramírez *et al*., 2014). La domesticación del maíz la iniciaron las etnias indígenas quienes a partir del Teocintle seleccionaron plantas que ofrecían características como la forma y tipo del grano para ser aprovechadas en la alimentación porque suministraban elementos nutritivos como almidón (62%), proteína (7.8%) y aceite (3.8%) (González-Castro *et al*., 2013). Además, es una materia prima básica de la industria ya que a partir de la molienda se pueden obtener una amplia variedad de productos intermedios como sémola de partículas de diferentes tamaños, sémola en escamas, harina y harina fina (Grande-Tovar *et al*., 2013).

Actualmente en México, la diversidad genética del maíz es de fundamental trascendencia en la seguridad alimentaria, debido a que hay 60 razas con características morfológicas diferentes, equivalentes a un alto porcentaje del total de razas existentes en el mundo (Sánchez *et al*., 2000; CONABIO, 2013; Fernández Suárez *et al*., 2013). Las 60 razas, están distribuidas en seis regiones como principales centros de diversidad: Oaxaca, Chiapas, centro occidente (Jalisco, Michoacán y Guerrero), centro oriente (México, Puebla y Tlaxcala) y noroeste (Sinaloa, Sonora) y Chihuahua (Perales-Rivera y Golicher, 2011). Debido a la distribución y diversidad de maíces en México, es importante la preservación de los

materiales nativos como reservorio de genes para desarrollar nuevas variedades y se pueda hacer un adecuado manejo en el cultivo (Fernández-Suárez *et al*., 2013).

2.2 Descripción taxonómica y botánica

La planta de maíz es una especie monocotiledónea de crecimiento anual. Presenta inflorescencias masculinas y femeninas que se ubican en diferentes partes de la planta y esto hace que su polinización sea cruzada. El ciclo vegetativo es amplio dependiendo de la variedad, su desarrollo puede durar de 80 a 200 días, que contempla desde la siembra hasta la cosecha (Fenalce, 2012; Grande-Tovar *et al*., 2013).

Las etapas de crecimiento del maíz se dividen en vegetativa (V) y reproductiva (R). Además, las etapas de crecimiento se pueden agrupar en cuatro periodos: crecimiento de plántulas (VE y V1), crecimiento vegetativo (etapas V2, V3…Vn), floración y fecundación (etapas VT, R0 y R1), llenado de grano y madurez (etapa R2 a R6) (cuadro 1) (Singh *et al*., 2010).

Cuadro 1. Etapas fenológicas del cultivo de maíz.

ETAPAS	DÍAS	CARACTERÍSTICAS
VE	5	El coleóptilo emerge de la superficie del suelo
V1	9	Es visible el cuello de la primera hoja
V2	12	Es visible el cuello de la segunda hoja

Vn		Es visible el cuello de la hoja número “n” (“n” e el número definitive de hojas que tiene la planta; “n” generalmente fluctúa entre 16 y 22, pero para la floración se habrán perdido las 4 o 5 hojas de mas abajo)
VT	55	Es completamente visible la última rama de la espiga
R0	57	Antesis o floración masculina
R1	59	Son visibles los estigmas
R2	71	Etapa de ampulla. Los granos se llenan con un líquido claro y se ve el embrión
R3	80	Etapa lechosa. Los granos se llenan con un liquid lechoso blanco
R4	90	Etapa masosa. Los granos se llenan con una pasta blanca. El embrión tiene aproximadamente la mitad del ancho del grano

R5	102	Etapa dentada. La parte superior de los granos se llena con almidon sólido, cuando el genotipo es dentado, los granos adquieren la forma dentada. En los tipos tanto cristalinos como dentados es visible un “linea de leche” cuando se observa el grano desde el costado
R6	112	Madurez fisiolóica. Una capa Negra es visible en la base del grano. La humedad del grano es generalmente alrededor del 35%

Fuente: (CYMMYT, 2004)

2.2.1 Taxonomía del maíz (GBIF, 2021):

División: Tracheophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *Zea mays* L.

2.3 Importancia mundial y nacional

La planta de maíz es aprovechable en cualquier etapa del desarrollo. Es un cultivo representativo de México por su importancia económica, social y cultural. Su producción se divide en amarillo y blanco, siendo el maíz amarillo destinado a la industria o la fabricación

de alimentos balanceados para la producción pecuaria, mientras que la producción de maíz blanco se destina principalmente al consumo humano (ASERCA, 2018). El maíz se consume en varias formas: en elote, en tlaxcal, tamales, bebidas fermentadas, pero principalmente en forma de tortilla, con un consumo per cápita de 325 kg de maíz al año (González-Cortés *et al*., 2016).

A nivel mundial se producen 1,462 millones de ton (FAO, 2023) y México ocupa el noveno lugar en producción después de países como Estados Unidos, China, Unión Europea, Brasil, Argentina, India, Rusia y Ucrania (FAO, 2023). A nivel nacional, la producción de maíz es de 12,685,844 millones de t, el área sembrada es de 1,424,651 ha, se cosechan 1,422,163.94 ha y el rendimiento promedio es de 8.92 t/ha (SIAP, 2023). Gran parte del territorio nacional es propicio para la producción de maíz, por lo que en los 32 estados de la República Mexicana se produce grano. Los estados con la mayor producción de maíz son: Sinaloa (5,253,631 t), Chihuahua (1,642,603 t), Guanajuato (1,494,295 t), Michoacán (926,495 t), Hidalgo (435,705 t), Tamaulipas (394,612 t) (SIAP, 2022).

2.4 Requerimientos edafoclimáticos

El cultivo de maíz requiere temperaturas óptimas de germinación de 20 °C con humedad baja y de 35 °C con humedad alta, debiendo estar por encima de 10 °C (MAGRAMA, 2013). Las plantas tienen un mejor crecimiento en suelos arenosos, con pH entre 5.5- 7.8 y 25 mm de agua por semana durante el crecimiento vegetativo, mientras que para la formación de mazorca requieren 40 mm, por ello, la falta de humedad es un factor limitante, lo que provoca pérdidas en el rendimiento, además de afectar la polinización (MAGRAMA, 2013; Violic,

2001). Es importante el suministro de nutrientes al cultivo como el fósforo, potasio y nitrógeno, para obtener una buena producción (Ortega-Sánchez, 2014).

2.5 Problemas fitosanitarios

El cultivo maíz está expuesto a factores adversos de origen biótico y abiótico que lo afectan. Los factores abióticos tienen relación con el ambiente, como la temperatura, la humedad relativa, estrés hídrico, salinidad, alcalinidad o acidez del suelo (SAGARPA, 2011). Entre los factores bióticos, está la presencia de plagas y enfermedades que ocasionan la mayor parte de las pérdidas en el cultivo (Minaya-Huerta y Reyes-Huamán, 2017).

Las plagas presentes en el cultivo del maíz se clasifican de acuerdo con la parte de la planta que atacan: se encuentran algunas plagas del suelo como *Agrotis ipsilon* y *Elasmopalpu lignosellus*; otras son plagas chupadoras como *Rhopalosiphum maydis*, *Dalbulus maydis* y *Peregrinus maydis*; plagas masticadoras como *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa zea*; y, por último, plagas barrenadoras como *Diatraea saccharalis* y *Ostrini furnacalis* (Varon de Agudelo *et al*., 2022; Rahmawati *et al*., 2020).

Por otro lado, entre las enfermedades causadas por patógenos en el cultivo se destacan el carbón de la espiga causado por *Sphacelotheca reiliana*; manchas foliares causadas por *Cercospora* spp., *Phylachola maydis*, *Curvularia lunata*, el tizón foliar del maíz causado por *Exserohilum turcicum*, la roya del maíz causada por *Puccinia sorghi*; pudrición de la raíz y tallo causado por *Pythium aphanidermatum*, *Diplodia maydis*, *Macrophomina phaseolina*, y *Fusarium* spp. (Minaya-Huerta y Reyes-Huamán, 2017; Félix-Gastélum *et al*., 2018; Rahmawati *et al*., 2020).

2.5.1 Enfermedades causadas por patógenos con origen en el suelo

Una parte importante de la producción de maíz se concentra en los trópicos, donde existen hongos fitopatógenos que afectan al cultivo aun cuando no se haya sembrado maíz durante un periodos prolongado de tiempo, gracias a que los hongos pueden sobrevivir durante un largo tiempo en el suelo o en residuos de cosecha, mediante ciertas estructuras de resistencia que se dispersan a través del agua y el viento y puestas sobre alguna parte de las plantas, en la que germinan, penetran e infectan (Varón de Agudelo *et al*., 2022).

Las enfermedades fúngicas con origen en el suelo que atacan al cultivo presentan diferente grado de severidad cada año, debido a las variaciones climáticas lo que las hace importantes a la hora de buscar alternativas de control; dentro de las enfermedades más comunes en el cultivo de maíz se encuentran la pudrición de raíz y tallo causada por hongos como *Macrophomina* spp., *Pythium* spp., *Colletotrichum graminicola*, *Stenocarpella* spp. y especies del género *Fusarium* como *Fusarium verticillioides*, *F. nygamai*, *F. andiyazi* y *F. thapsinum* (CIMMYT, 2004; París *et al*., 2014; Leyva-Madrigal *et al*., 2014)

2.6 Enfermedad de estudio

Existe una diversidad de patógenos que afectan a la raíz y al tallo del cultivo de maíz, siendo aún más importantes por su extensa distribución en áreas tropicales y subtropicales, sobre todo, por su alta capacidad para sobrevivir en condiciones adversas y su alto nivel de virulencia (Minaya-Huerta y Reyes-Huamán, 2017).

Algunos de los patógenos reportados que afectan raíces y tallos en el maíz son: *Sclerotium* sp., *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Cephalosporium* spp. y *Fusarium* spp., siendo las especies de este último las causantes de pudrición de raíz y tallo en maíz (Varon

de Agudelo *et al*., 2022). Dentro de las especies de *Fusarium*, destacan las del complejo de especies de *Fusarium fujikuroi*, como *F. verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. proliferatum* los cuales causan una alta incidencia de pudrición del tallo y pudrición de la raíz, generando la disminución del rendimiento entre un 6,75% y un 9,36% (Zhao *et al*., 2021; Wang *et al*., 2021; Simões *et al*., 2022).

Estos patógenos son habitantes naturales del suelo y sobreviven por largos periodos de tiempo mediante estructuras de resistencia, que en presencia del cultivo germinan e infectan plantas jóvenes, las cuales muestran síntomas evidentes hasta la etapa reproductiva, en especial, en la floración y producción de mazorca (Varón de Agudelo *et al*., 2022).

2.6.1 Clasificación taxonómica de *Fusarium* (EPPO, 2020)

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *Fusarium* spp.

2.6.2 Descripción morfológica del patógeno

Las especies de *Fusarium* se caracterizan a nivel macroscópico por producir colonias de crecimiento rápido con micelio aéreo compactos a algodonosos. Las colonias presentan pigmentación variada según la especie, el medio de cultivo utilizado y las condiciones de incubación. Para la determinación del complejo al que pertenece la especie de estudio, es

necesario caracterizar morfológicamente las estructuras reproductivas considerando: la presencia ausencia de clamidosporas, la longitud, ancho y forma de macroconidios, el número, la forma y la disposición de los microconidios (Windels, 1992; Leslie and summerell, 2006;).

Por lo general, los conidios se generan a partir de los esporodoquios que son estructuras viscosas que se forman en el medio de cultivo. Los macroconidios son esporas multicelulares formadas por septos transversales, fusiformes, con célula apical puntiaguda o no dependiendo de la especie y la célula basal puede o no estar en forma de pie. Los microconidios son producidos por algunas especies de *Fusarium* y en la mayoría son unicelulares, pudiendo tener en algunos casos de tres a cinco células que varían de forma globosa, oval y fusiforme. Pocas especies producen microconidios en cadenas (Bahadur, 2022).

2.6.3 Síntomas y ciclo de vida

2.6.3.1 Sintomatología de la enfermedad

La pudrición de raíz y tallo en el cultivo de maíz ocasiona acame. Cuando la enfermedad ya está avanzada, las plantas se marchitan y mueren de forma rápida, el sistema radicular se torna de color café y las raíces primarias muestran pudrición. En los tallos aparecen lesiones de color café a nivel del suelo, invadiendo el sistema vascular y cuando hay suficiente humedad, se observa la esporulación del hongo sobre las lesiones (Seminis, 2020).

2.6.3.2 Ciclo de la enfermedad

La infección del hongo ocurre en las etapas tempranas del cultivo a partir del inóculo primario que se encuentra en el suelo o en residuos de cosecha. En presencia de raíces, los conidios y

clamidosporas germinan e invaden las plantas susceptibles; luego, el patógeno ingresa vía xilema ocasionando taponamiento del tejido reduciendo el movimiento del agua al interior de la planta causando su posterior marchitez y muerte. La enfermedad es policíclica y las pérdidas dependen de la cantidad de inóculo presente en los lotes al momento de la siembra (Koike *et al*., 2019).

2.6.4 Importancia y distribución de los patógenos asociados a la pudrición de raíz y tallo del maíz

El género *Fusarium* es importante porque presenta una distribución cosmopolita y muchas especies de plantas se ven afectadas por este patógeno (Nelson *et al*., 1981; Mendoza *et al*., 2003; Leslie y Summerell, 2006). En el maíz, *Fusarium* ataca específicamente ciertas partes de la planta como mazorcas, raíces y/o tallos, causando enfermedades que afectan el rendimiento y la calidad de la producción (Montiel-González *et al*., 2005; Hernández *et al*., 2007; Lamprecht *et al*., 2011).

Fusarium tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo, en residuos de cosecha, en plantas infectadas mediante clamidosporas (estructuras de resistencia) (Haruhisa y Hyakumachi, 2004). La infección primaria puede ocurrir a través de la semilla de plantas infectadas (Koike *et al*., 2019).

Por otra parte, las especies de *Fusarium* tienen mecanismos de dispersión eficientes como la propagación de conidios a través de suelo, maquinaria agrícola, el agua de riego y el aire, a partir de los cuales infecta a las plantas (Seminis, 2020; Buechel, 2018; Koike *et al*., 2019; Mokobi, 2020).

2.6.5 Manejo de la pudrición de raíz y tallo

Para las enfermedades causadas por patógenos con origen en el suelo como *Fusarium* spp., se deben tener en cuenta estrategias de manejo que ayuden a excluir al patógeno o a reducir la cantidad de inóculo inicial. Dentro de las estrategias de manejo se encuentran; control cultural, control físico, control biológico y control químico (Jiménez-Díaz, 2009).

2.6.5.1 Control cultural

La incidencia de la enfermedad está ligada al manejo de híbridos y condiciones a las que se sometan. Dentro de las condiciones se debe considerar buen drenaje, rotar cultivos para disminuir el inóculo primario y mantener un balance nutricional adecuado de nitrógeno y potasio (Jiménez-Díaz y Jimenez Gasco, 2011; Koike *et al.*, 2019).

2.6.5.2 Control físico

El saneamiento es un practica a la que se puede recurrir donde se incineran las posibles fuentes de inóculo; la solarización que es un proceso hidrotérmico en el cual se cubre el suelo húmedo durante cierto periodo de tiempo con temperatura y radiación solar alta para reducir las poblaciones de patógenos presentes en el suelo; y por último la inundación la cual reduce la mayor cantidad disponibilidad de oxígeno presente en el suelo y se aumenta la concentración de dióxido de carbono, lo cual es tóxico para patógenos en procesos anaerobios (Jiménez y Gasco, 2011).

2.6.5.3 Control biológico

Existen géneros de bacterias dentro de la rizosfera con funciones benéficas para el desarrollo y salud de las plantas, a través del crecimiento vegetal y de su protección como antagonistas de *Fusarium* spp., dichos géneros son: *Bacillus* spp., *Azospirillum*, *Burkholderia*,

Citrobacter, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Streptomyces* sp. (Méndez-Bravo *et al*., 2018; Reverchon *et al*., 2019). *Streptomyces griseoviridis* se usa como biofungicida en campo e invernadero (Koike *et al*., 2019).

Los hongos que inhiben el crecimiento de *Fusarium* spp., a través de la combinación de diversos mecanismos como la producción de metabolitos secundarios antimicrobianos son *Macrolepiotas* sp., *Beauveria* sp., *Irpex* sp., *Xylaria* sp. y *Trichoderma* sp. (Sánchez-Ortiz *et al*., 2016). *Trichoderma harzianum* es el principal agente de biocontrol contra *Fusarium* spp., debido a que ha tenido un efecto antagónico contra las especies que causan pudrición en raíz y tallo (Mokobi, 2020).

2.6.5.4 Control químico

La cantidad de inóculo presente en suelo puede reducirse con la aplicación de productos químicos aplicado directo en la siembra de según las indicaciones del fabricante. Sin embargo, la aplicación de los productos químicos está determinada por las propiedades del ingrediente activo, el patógeno a tratar y el impacto ambiental que se pueda generar (Makobi, 2020).

III. JUSTIFICACIÓN

En ciclos agrícolas recientes, la producción y calidad del maíz en Sinaloa se han visto limitadas de manera significativa por enfermedades causadas por algunas especies del género *Fusarium* que muestran alta incidencia y severidad en la pudrición de raíz, esto derivado del monocultivo al que se someten los suelos de Sinaloa. Existen reportes de especies de *Fusarium* como *F. verticillioides*, *F. nygamai*, *F. andiyazi* y *F. thapsinum* causando pudrición de raíz y tallo en el maíz en Sinaloa, sin embargo, este estudio se enfoca en la búsqueda de especies de *Fusarium* no reportadas como causantes de la enfermedad para así lograr su identificación morfológica, molecular y la determinación de su patogenicidad en condiciones de invernadero. El presente trabajo se justifica a plenitud como esencial en los enfoques para el manejo de la enfermedad donde sobresalen el mejoramiento genético, el control biológico y rotaciones de cultivos.

IV. HIPÓTESIS

Las especies de *Fusarium* aisladas son las causantes de la pudrición de raíz del maíz en Sinaloa y muestran variación en la severidad en condiciones de invernadero.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Caracterizar molecular, morfológica y patogénicamente a las especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz en maíz en Sinaloa.

5.2 Objetivos específicos

- Identificar molecularmente los aislados de *Fusarium* asociadas a la enfermedad.
- Caracterizar morfológicamente a los aislados de *Fusarium* asociados a la pudrición de raíz en maíz.
- Determinar la patogenicidad de los aislados de *Fusarium* en plantas en invernadero.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Obtención de aislados fúngicos

Para la presente investigación, se utilizaron seis aislados fúngicos obtenidos de raíz y tallo de plantas de maíz con síntomas de pudrición en diferentes zonas de producción del estado de Sinaloa (cuadro 2). Los aislados se identificaron de forma preliminar amplificando el gen factor de elongación 1α, lo que permitió ubicarlos dentro del género *Fusarium*. Los aislados fueron proporcionados por el Dr. Rubén Félix Gastélum de la Universidad Autónoma de Occidente (UAdeO) y el Dr. Ignacio Maldonado del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa). El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Interacción Planta-Patógeno de la Unidad Regional Los Mochis de la Universidad Autónoma de Occidente.

Cuadro 2. Información del origen de los seis aislados de *Fusarium* spp. obtenidos de plantas de maíz con síntomas de pudrición de raíz y tallo en Sinaloa.

Fecha de muestreo	Código	Coordenadas	Parte de la planta donde se aisló	Localidad de muestreo/Municipio
16/04/22	F6R	N 24° 43' 39" O 107° 29' 30"	Raiz	Bachihualatillo, Culiacán
14/04/22	F2R	N 25° 39' 19" W 108° 27' 37"	Raiz	Las Moras; Guasave
21/04/22	F11R	N 24° 45’ 02" W 107° 40' 59"	Raiz	Ejido Nuevo Cosalá, Navolato
29/04/22	F14R	N 25° 56' 38" O108° 53' 35"	Raíz	Constancia, El Fuerte
03/05/22	F15R	N 25° 39' 03" W 108° 27' 36"	Raíz	Las Moras; Guasave
03/05/22	F16T	N 25° 43' 56" W 108° 28' 44"	Tallo	La Trinidad,Guasave

6.2 Purificación de hongos asociados a la pudrición de raíz y tallo en maíz

Se realizó el procedimiento modificado de Crous *et al*. (2021). Los aislados se transfirieron a medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA, Bioxon®) y con ayuda de un sacabocados estéril, se cortaron discos de micelio (5 mm diámetro). Las cajas se incubaron a 25±2 °C durante 7 días en una incubadora (DLAB® HB 120-s). En seguida, dentro de la campana de flujo laminar, a cada una de las cajas de Petri con los aislados fúngicos, se depositaron 10 mL de agua destilada y con espátula se raspó el micelio de cada aislado con cuidado de no desprender medio de cultivo, y la suspensión de conidios se depositó en un vaso de precipitado de 250 mL; posteriormente, se hicieron diluciones seriadas en microtubos (Eppendorf ®) de 2 mL desde 10^{-1} hasta 10^{-6}; cada tubo contenía 900 µL de agua destilada estéril y partiendo de tomar 100 µL de la solución madre, se depositó en el primer tubo (10^{-1}), luego de este primer tubo, se tomaron 100 µL y se depositaron en el segundo tubo (10^{-2}) y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 10^{-6}.

Al finalizar, se tomaron 150 µL de las diluciones 10^{-4} y 10^{-6} de cada aislado, para dispersarlas con ayuda de una espátula de Digralsky, dentro de dos cajas de Petri con medio cultivo agua-agar (AA), las cajas se incubaron durante 24 horas a 25±2 °C; enseguida se visualizó la germinación de un conidio mediante un microscopio estereoscópico (Carl Zeiss® Werk Gottingen, Germany).

Una vez visualizado el conidio, con una aguja de insulina, se tomó el conidio y se transfirió a medio de cultivo PDA y las cajas se incubaron durante 7 días a 25±2 °C. Para la caracterización cultural de las colonias y la morfología de las estructuras reproductivas de los aislados monospóricos, éstos se transfirieron a PDA sintético, PDA natural, Agar Specieller Nährstoffarmer (SNA) y hoja de clavel agar (CLA).

A partir de los cultivos monospóricos se tomaron discos de medio (5 mm diámetro) y se transfirieron a microtubos de 2 mL que contenían 1 mL de glicerol al 10% y se conservaron en un refrigerador (LG®) a 4±2 °C para utilizarse en estudios subsiguientes.

6.3 Identificación molecular de los aislados de *Fusarium*

La identificación molecular de los aislados fúngicos obtenidos a partir tejido con síntomas de pudrición de raíz y tallo en maíz, se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular en la Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Los Mochis**.**

6.3.1 Extracción de ADN

El ADN genómico de los seis aislados de *Fusarium* en estudio se realizó mediante el raspado directo del micelio aéreo a partir de colonias de 8 días de crecidas en PDA y se colocó individualmente en microtubos de 1.5 mL.

La extracción de ADN se llevó a cabo mediante el método CTAB. Para esto, a los tubos que contenían el micelio de los aislados se agregaron 600 µL de solución buffer CTAB (Tris 100 mM, pH 8; 20 mM de EDTA, pH 8; NaCl 1.4 M; 2% CTAB y 2-mercaptoethanol al 0.2%) y 6 de 2-mercaptoethanol, luego se realizó el macerado para cada tubo con ayuda de un pistilo estéril hasta que no quedaran grumos.

Después de la maceración, los tubos se incubaron a 65 °C por 30 min; enseguida, los tubos se sacaron y se dejaron enfriar a temperatura ambiente por diez minutos y se agregaron 200 µL de cloroformo a cada uno y se mezclaron por inversión dos veces para someterles a vórtex por 30 s hasta que se observara una coloración blanquecina.

Al finalizar la agitación, los tubos se centrifugaron a 13,000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 min. Una vez terminada la centrifugación, el sobrenadante de cada tubo se transfirió a otro tubo de 1.5 mL sin perturbar el precipitado. Una vez transferido el sobrenadante al segundo tubo, se agregaron 350 µL de isopropanol a cada tubo con el precipitado anterior y se incubaron a -20 °C durante 30 min. Transcurrido este tiempo, se mezclaron por inversión y se volvieron a centrifugar a 13 000 rpm por 10 min. Después de la centrifugación, se decantó el líquido de cada tubo y se agregaron 200 µL de etanol al 75%, se les dio vórtex a cada tubo durante 1 min y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 5 min. Finalmente, se decantó el líquido de cada tubo y se dejaron secar invertidos dentro de la campana de flujo laminar durante 24 h. Trascurrido el tiempo, se agregaron 30 µL de agua ultrapura a 40°C en cada uno de los tubos con ADN y estos mismos tubos fueron incubados a 40 °C durante 10 min y al pasar este tiempo, se dejaron templar a temperatura ambiente por 5 min y como parte final del proceso de depositaron en congelador del laboratorio a -20°C.

6.3.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés)

La mezcla de reacción para la PCR se preparó con un volumen final de 40 µL, con 0,77 µL de la enzima Taq DNA Polymerase de Invitrogen®, 7 µL de cada iniciador a 10 µM, 189 µL de agua ultrapura, 28 µL de buffer (solución amortiguadora 10X), 9,1 µL de $MgCl_2$ a 50 Mm, 9,1 µL de dNTPS 10 µM, y 4 µL de ADN genómico. La PCR se realizó en un termociclador (C1000™, BIO-RAD).

Los aislados de *Fusarium* spp., F2R, F6R, F11R. F14R, F15R Y F16T, se analizaron con la amplificación de la región del espaciador transcrito interno (ITS), con los iniciadores ITS1: 5´-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3´ e ITS4: 5´-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3´, las

condiciones de amplificación fueron: desnaturalización durante 5 minutos, 30 ciclos a 95°C por 40 s, alineamiento a 57°C por 40 s, extensión a 72°C por 40 s y extensión final de 72°C por 10 min, con una temperatura de mantenimiento de 4°C. También, se amplificó la segunda subunidad más grande del RNA polimerasa II (RPB2) con los iniciadores RPB2-5f2 (5'-GGGGWGAYCAGAAGAAGGC-3') y RPB2-7cr (5'-CCCATRGCTTGYTTRCCCAT-3'), las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial a 95 °C por 5 minutos, 40 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 40 segundos, alineamiento a 57 °C por 40 segundos y extensión a 72 °C por 70 segundos con una extensión final de 72 °C por 5 minutos, con una temperatura de mantenimiento de 12 °C (modificado de Crous *et al*., 2021).

6.3.2.1 Electroforesis

Los productos de PCR se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% con buffer de corrida TAE 1X, teñido con bromuro de etidio, para lo cual se usaron 3 µL del producto de PCR y 2 µL de buffer de carga por cada pozo; como referencia se usó un marcador de peso molecular de 1 kb, con fragmentos con 100 pb (Promega Corporation, Madison, WI). La electroforesis se llevó a cabo a 80 voltios por 30 min. Al finalizar, el gel se observó en un transiluminador (GELDOC, BIORAD).

6.3.3 Purificación y secuenciación

Los productos de PCR se purificaron en el laboratorio del CIIDIR-IPN unidad Sinaloa, usando el kit de purificación de PCR QIAquick (QIAGEN) y se cuantificaron con el kit Quant-it dsDNA HS (Invitrogen™). Luego, se enviaron a secuenciar a Langebio del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav) Irapuato.

6.3.4 Análisis filogenéticos

Las secuencias obtenidas se editaron en el programa BioEdit versión 7.2.5 (Hall, 1999). Las secuencias se compararon con secuencias reportadas en el Banco de Genes (Genbank), del Centro Internacional para la Información en Biotecnología (NCBI, por su abreviatura en inglés, con el algoritmo BLASTn.

Las secuencias se alinearon con el programa MUSCLE (Edgar, 2004) implementado en MEGA-X versión 10.2.4 (Kumar *et al*., 2018). La reconstrucción filogenética de los seis aislados del género, se realizó a partir del alineamiento concatenado de la región ITS y de los genes TEF, y del gen RPB2 cuando se contaba con dicha secuencia. La concatenación de los alineamientos individuales se realizó en MEGA-X versión 10.2.4. Para evaluar las particiones de los alineamientos concatenados se utilizó el software PartitionFinder versión 1.1.1. (Lanfear *et al*. 2016) y la reconstrucción filogenética se realizó con el software RAxML versión 7.2.8., empleando el método de Máxima Verosimilitud, el modelo GTRGAMMAI y 1000 réplicas Bootstrap (Stamatakis, 2006). Los filogramas se editaron con el software FigTree versión 1.4.0. (Rambaut and Drummond, 2008).

6.4 Caracterización cultural de los aislados de *Fusarium*

Las colonias de los seis aislados de *Fusarium* se caracterizaron mediante los procedimientos de Crous *et al.* (2021). Las características que se tuvieron en cuenta fueron el color de la colonia, producción de pigmentos, tipo de margen, tipo de micelio, tipos de conidios, textura, forma de la colonia y tasa de crecimiento. Las características fenotípicas de las colonias se determinaron en PDA natural después de 14 d de incubación a 25±2 °C, con regímenes de 12 h luz y 12 h oscuridad.

La tasa de crecimiento micelial (mm día^{-1}) de los aislados se midió cada 24 h de manera radial con un vernier digital (Truper, México) en PDA empleando la fórmula:

$$Tc = \frac{Cf - Ci}{Tf - Ti}$$

Dónde: Cf indica el crecimiento final; Ci el crecimiento inicial; Tf el tiempo final y Ti el tiempo inicial (Rojas y Hormaza. 2014). Para cada aislado se realizaron tres réplicas (tres cajas de Petri) y los tratamientos se distribuyeron en un arreglo completamente al azar.

Los resultados fueron sometidos a prueba de normalidad y comparación de medias mediane el programa InfoStat© (Universidad Nacional de Córdoba ©(FCA-UNC)).

6.5 Morfometría de los aislados de *Fusarium* asociados a la pudrición de raíz y tallo

Las características morfométricas se observaron con ayuda de un microscopio compuesto (Zeiss®, Axiostar plus); para esto se realizaron preparaciones permanentes, las cuales se obtuvieron a partir de una gota de ácido láctico puesta sobre un portaobjeto, luego, del micelio de las colonias de 14 d de edad, se tomó una pequeña cantidad de micelio y estructuras reproductivas con ayuda de una aguja estéril y se mezcló sobre la gota de ácido láctico, enseguida la preparación se selló con un cubreobjetos y cera.

La morfometría de los seis aislados de *Fusarium* se determinó mediante procedimientos desarrollados por Crous *et al.* (2021). Los aislados se desarrollaron en los medios SNA y CLA e incubaron a 25±2 °C durante 14 d con regímenes de 12 h luz y 12 h oscuridad. Se determinó la presencia de esporodoquios, fiálides (monofiálides o polifiálides), macro y microconidios, clamidosporas, así como su forma, además de la forma de la célula basal y

apical, septación de los macros y microconidios. De los macros y microconidios, fiálides y clamidosporas se midieron 50 estructuras.

6.6 Pruebas de patogenicidad

6.6.1 Experimentos en invernadero

6.6.1.1 Desinfestación de las semillas

Semillas comerciales de maíz del híbrido Hipopótamo (ASGROW®) se desinfestaron mediante lo descrito por Leyva-Madrigal *et al*. (2015) y Márquez-Licona *et al*. (2018). Las semillas se sumergieron por diez minutos en una solución de Tween al 20%. Finalmente, la semilla se sumergió por cinco minutos en una solución de KOH con 100 mL de agua destilada (pH 11), para inactivar la acción del fungicida con el que se trató la semilla por el proveedor y luego se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1.5% (CLORALEX®) por 2 min. Al finalizar, las semillas se lavaron tres veces con agua destilada estéril y se secaron dentro de la campana de flujo laminar.

6.6.1.2 Preparación de inóculo

Los siete aislados fúngicos (F2R, F6R, F11R, F14R, F15R, F16T y testigo positivo) se cultivaron en medio PDA, incubados a 25±2 °C durante ocho días; luego, se tomaron discos de micelio (5 mm de diámetro) y se depositaron dentro de bolsas de plástico de polipapel que contenían 300 g de maíz molido previamente esterilizado durante cuatro horas (dos horas primer día y dos horas 24 horas después) para que los hongos colonizaran todo el maíz molido y se incubaron a 25±2 °C con fotoperiodo de 12h luz/12h oscuridad (modificado de Chagas *et al*., 2017). Transcurridos 14 días de incubación, se pesó un gramo de maíz inoculado de

cada aislado y se disolvió en diez mL de agua destilada estéril para desprender los conidios en los granos molidos de maíz y determinar la cantidad de conidios por gramo. Enseguida, se ajustó la concentración para cada aislado entre 6×10^8 y 6×10^9conidios/300 g de maíz.

Para el ajuste de las suspensiones a una concentración de 6×10^8 y 6×10^9conidios se utilizó la ecuación:

$$C1V1 = C2V2$$

Donde:

C1: concentración inicial.

V1: volumen inicial.

C2: Concentración final.

V2: volumen final.

6.6.2.3 Preparación de suelo

El suelo se pasteurizó en un tonel de 200 L. En el tonel se colocaron costales de 50 kg de suelo arcilloso. Previo a la pasteurización, el suelo se humedeció y los costales con el suelo se sometieron a vapor de agua durante cuatro horas y media, luego, el suelo pasteurizado se dejó reposando durante 24 h antes de colocarse en macetas en el invernadero.

6.6.2.4 Inoculación y evaluación de patogenicidad de plantas en invernadero

El suelo previamente pasteurizado se mezcló de manera uniforme y se infestó de manera separada con 300 g de maíz molido colonizado con los aislados de *Fusarium* (F2R, F6R, F11R, F14R, F15R, F16T y testigo positivo), y se colocó en macetas de 35 cm de diámetro.

Enseguida, se depositaron dos semillas de maíz previamente desinfestadas, en cada maceta a 2 cm de profundidad del suelo con la finalidad de dejar la que germinara. Cuando se observó la emergencia de ambas semillas, se dejó una sola por cada maceta para que no hubiera competencia por especio y nutrientes. Durante el tiempo del experimento, las macetas se regaron según sus requerimientos hídricos. Las plantas se fertilizaron cada 5 d con Plant Food (Miracle Gro®) según las instrucciones del fabricante. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones (cuatro macetas con una planta cada una). El experimento se realizó dos veces en el invernadero. La temperatura del invernadero osciló entre 13°C y 18°C en el primer y segundo experimento, respectivamente.

Para evaluar la patogenicidad de los aislados se consideraron las siguientes variables: diámetro del tallo al nivel del suelo (medido con un vernier en cm), altura de las plantas (medida desde la base del tallo hasta la parte media apical), porcentaje de pudrición de raíz (utilizando una escala de severidad de seis clases donde: 0= sana, 1= 1-10%, 2= 11-25%, 3= 26-50%, 4= 51-75%, 5= 76-100% de pudrición) (modificado de Rivas-Valencia *et al*., 2011), peso seco de raíz y follaje de las plantas, largo y ancho de las mazorcas y peso del grano al momento de la cosecha. Para cumplir los postulados de Koch, al concluir los periodos experimentales, los hongos fueron reaislados de las plantas inoculadas y su identidad fue confirmada por medio de la identificación morfológica de los aislados.

6.7 Análisis estadístico de datos

Los datos sobre las variables a evaluar se sometieron a pruebas de normalidad en el software InfoStat© v2020 (Di Rienzo *et al*., 2020). En el ensayo con los seis aislados se realizó una prueba de Kruskal-Wallis (α=0.05) seguido de una comparación de pares de Conover.

VII. RESULTADOS

7.1 Identificación Molecular de los aislados

La comparación de secuencias en BLAST mostró alta similitud del aislado F2R con la especie *F. algeriense*; con el TEF-1α mostró una similitud del 99.10% con las cepas NRRL 66653 (MF120516.1), NRRL 66647 (MF120510.1); con el gen RPB2 mostró similitud del 99.74% con las cepas NRRL 6652 (MF120504.1), NRRL 66651 (MF120503.1), NRRL 66649 (MF120501.1) y NRRL 66646 (MF120498.1); y con la región ITS mostró una similitud del 100.00% con las cepas NRRL 66652 (MF120482.1) y NRRL 66649 (MF120479.1). Esta comparación ubicó al aislado F2R dentro del complejo de especies de *Fusarium burgessii* (FBSC). El análisis concatenado de las secuencias parciales de los genes TEF-1α y RPB2, y la región ITS determinó que el aislado F2R podría ser una nueva especie del complejo *F. burgessii* (figura 1).

Con respecto al aislado F11R, la comparación en BLAST mostró una alta similitud con la especie *Fusarium fredkrugeri*; con el TEF-1α mostró una similitud entre 99.85% y 100.00% con las cepas de FO11 (OP273041.1) y LLC3865 (OP487005.1); con el gen RPB2 mostró una similitud del 100% con las cepas LLC3864 (OP486573.1), LLC3334 (OP486551.1) y LLC3128 (OP486540.1); con la región ITS el mismo aislado mostró una similitud de 100% con las cepas LLC13631 (MW016430.1) y LLC13632 (MW016431.1). Esta comparación ubicó al aislado F11R dentro del complejo de especies *Fusarium fujikoroi* (FFSC). El análisis concatenado de las secuencias parciales de los genes TEF-1α y RPB2, y la región ITS identificó al aislado F11R como *F. fredkrugeri*, ya que se agrupó con la secuencia de referencia NRRL 26152 con buen soporte Bootstrap (figura 2).

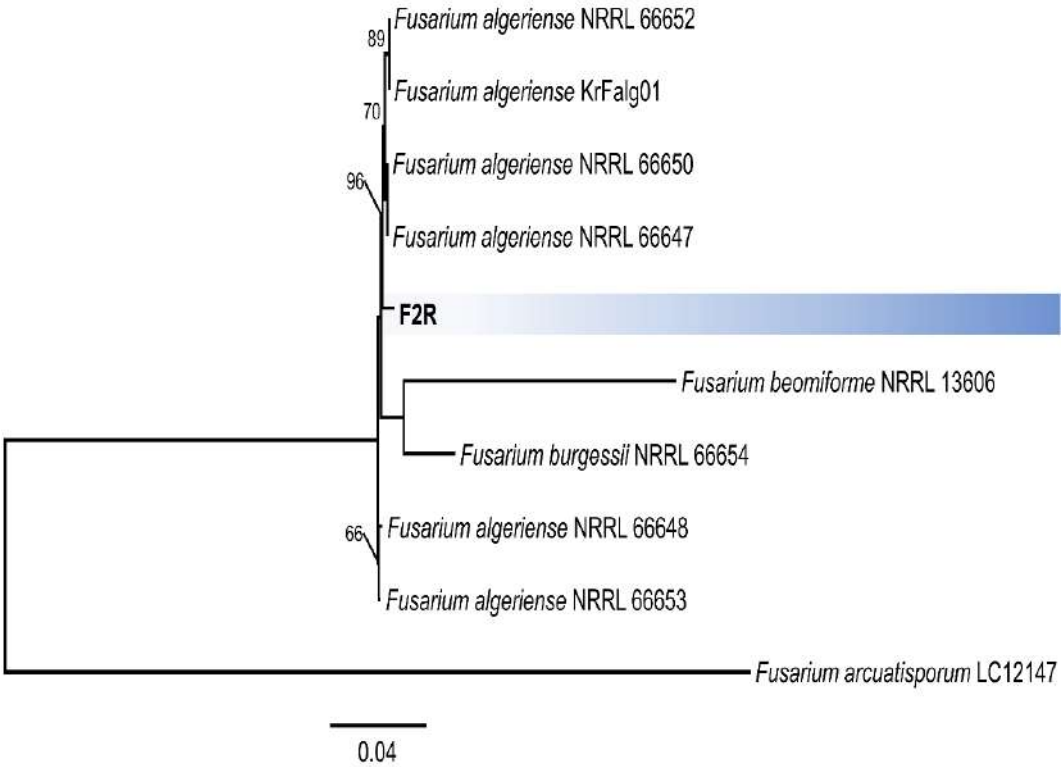

Figura 1. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium burgessii*, inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF y RPB2. La secuencia del aislado *Fusarium arcuatisporum* LC12147 se utilizó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En azul se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa.

Para el aislado F6R, la comparación en BLAST mostró una similitud con la especie *Fusarium brachygibbosum*; para el TEF-1α la similitud fue de 99.83% con respecto a la cepa BC-1 (MN784798.1) en tanto que para la región ITS la similitud fue del 100.00% con las cepas PF10a (MT393975.1) y 24B (MK752430.1). Esta comparación ubicó al aislado F6R dentro del complejo de especies de *Fusarium sambucinum* (FSAMSC). El análisis concatenado de las secuencias parciales del gen TEF-1α y la región ITS determinó que el aislado F6R podría ser una nueva especie del complejo, muy cercana a *F. brachygibbosum* y *F. transvalense* (figura 3).

Figura 2. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium fujikoroi* inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF y RPB2. La secuencia del aislado *Fusarium nirenbergiae* CBS 744.97 se utilizó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En rosado se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa.

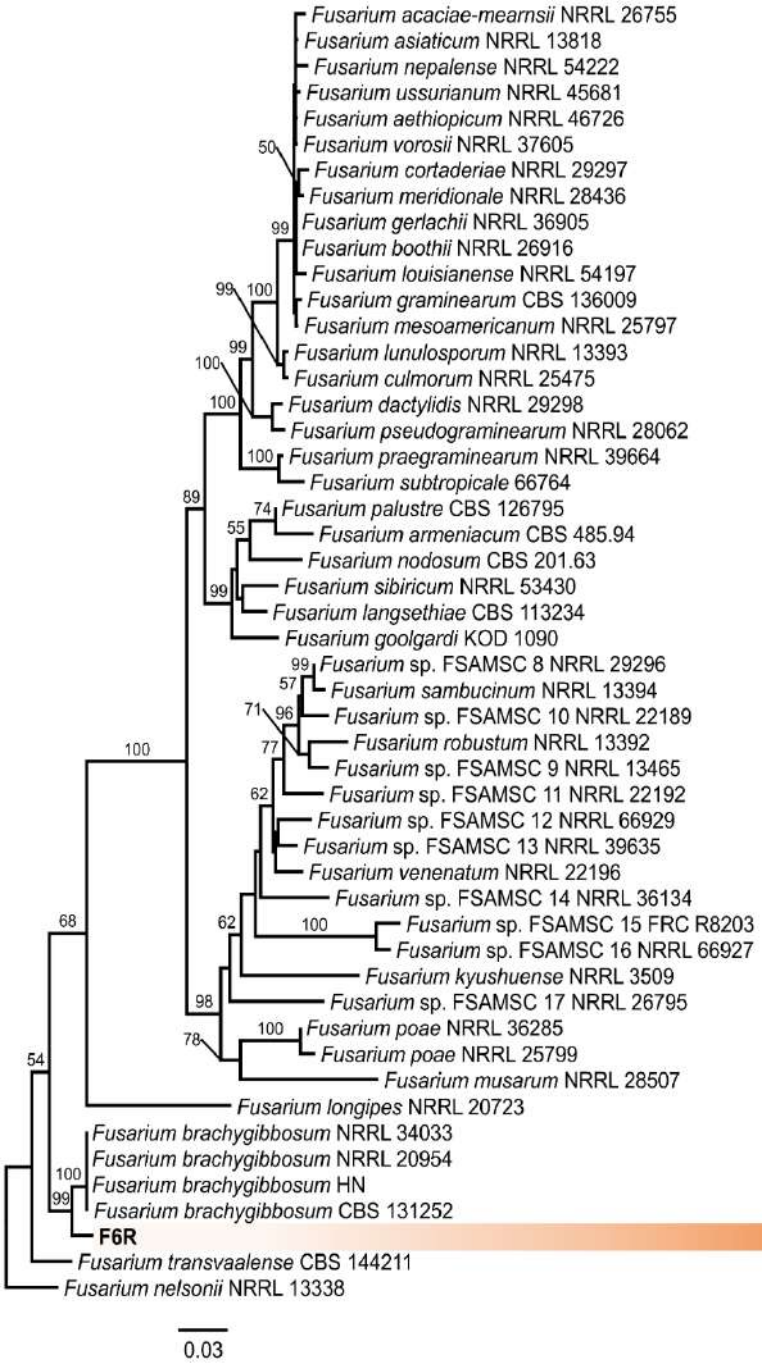

Figura 3. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium sambucinum*, inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF. La secuencia del aislado *Fusarium nelsonii* NRRL 13338 se utilizó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En rojo se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa.

La comparación de secuencias en BLAST mostró similitud del aislado F14R con distintas especies del complejo *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC); con el TEF-1α mostró una similitud entre 99.85% y 100.00% con *Fusarium bullatum* cepas CC08-53S-4 (JX268999.1) y CC06-3S-2 (JX268977.1) respectivamente, y para la secuencia de ITS mostró 100.00% de similitud con las cepas de *F. equiseti* y *Fusarium sp. F2a* (OQ799131.1) y Ec026 (OQ756163.1) respectivamente. El análisis concatenado de las secuencias parciales del gen TEF-1α y la región ITS no determinó la especie del aislado F14R, ya que lo agrupó con las secuencias de referencia de *Fusarium nanum* LC 12168 y *Fusarium* cf. *bullatum* 706ES (figura 4).

La comparación en BLAST mostró una alta similitud del aislado F16T con la especie *Fusarium incarnatum*; para el gen TEF-1α mostró una similitud del 98.97% con la cepa H02-787S-2(GQ339789.1) y para la región ITS mostró un 97.81% de similitud con la cepa FINCAR (MN544938.1). Esta comparación ubicó al aislado F16T dentro del complejo de especies de *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC). El análisis concatenado de las secuencias parciales del gen TEF-1α y la región ITS, no logró determinar la especie de los aislados F14R y F16T, ya que se observó una politomía, es decir, una falta de discriminación entre las especies *Fusarium nanum* LC 12168 y *Fusarium* cf. *bullatum* 706ES, con las que los aislados analizados forman un clado con alto soporte bootstrap (figura 4).

Por último, para el aislado F15R, la comparación en BLAST mostró una alta similitud con la especie *N. solani* y *N. falciformis*; para el TEF-1α mostró una similitud del 100.00% con la cepa de SZMC 11402 (HE647904.1) y para la secuencia ITS mostró una similitud de 97.26% con la cepa de W_KSSO2_1_9 (MK595212.1). Esta comparación ubicó al aislado F15R dentro del género *Neocosmospora.* El análisis concatenado de las secuencias parciales del

gen TEF-1α y la región ITS identificó al aislado F15R como *Neocosmospora falciformis*, ya que se agrupó con la secuencia de referencia *N. falciformis* CBS 475.67 con buen soporte Bootstrap (figura 5).

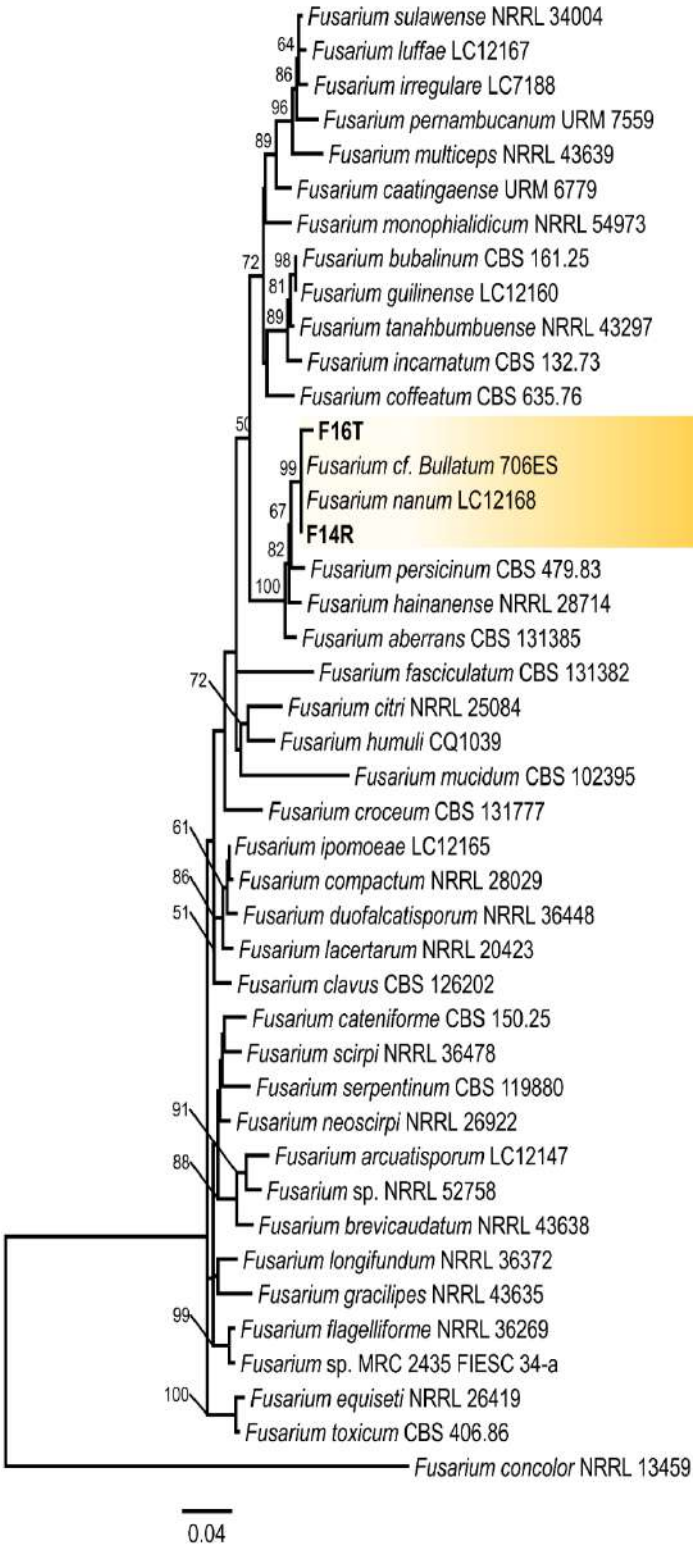

Figura 4. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del complejo de especies de *Fusarium incarnatum-equiseti* inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF. La secuencia del aislado *Fusarium concolor* NRRL 13459 se utilizó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En naranja se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa.

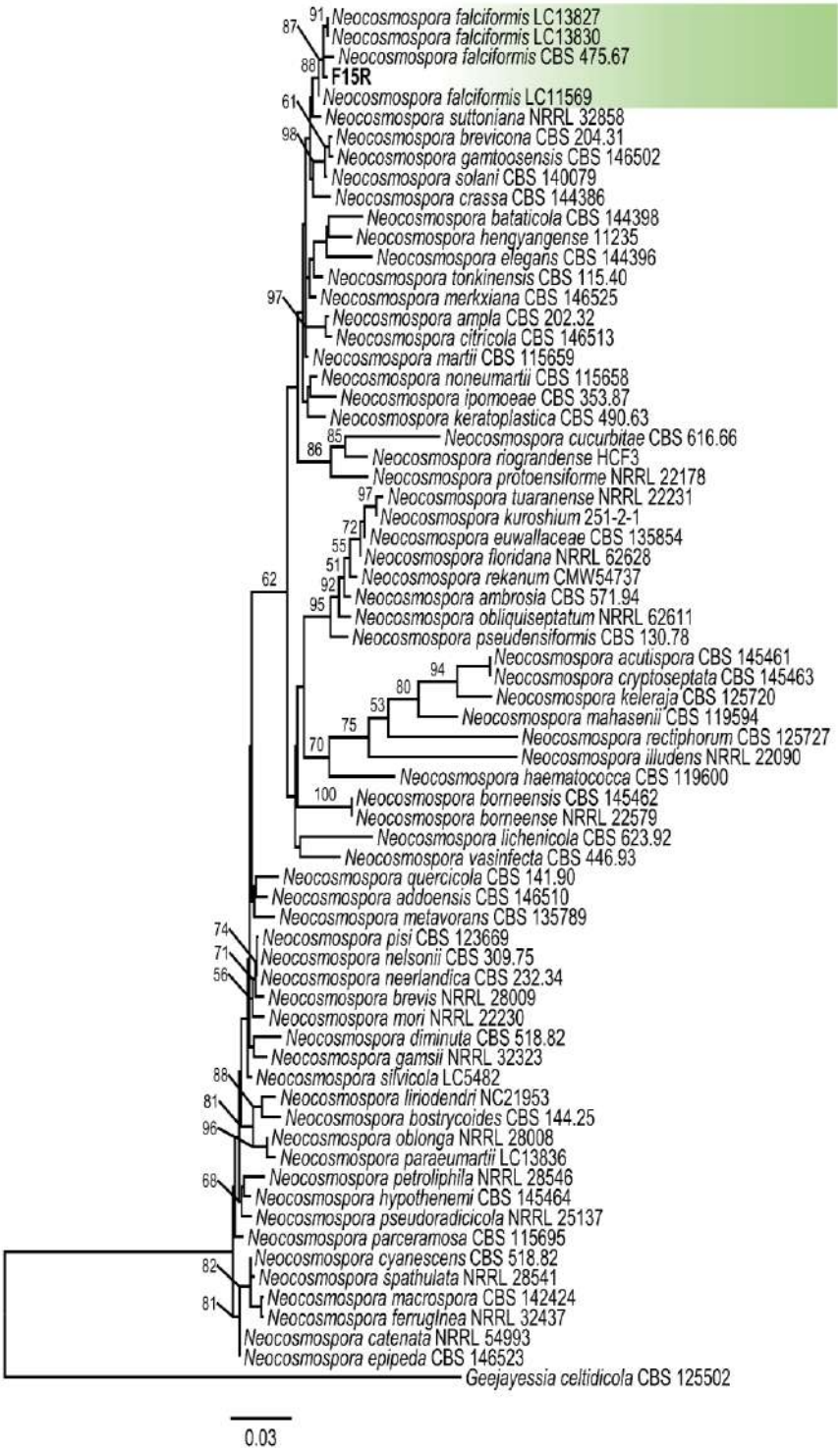

Figura 5. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud del género *Neocosmospora* inferido a partir de la concatenación de las secuencias ITS – TEF. La secuencia del aislado *Geejayessia celtidicola* CBS 122202 se utilizó como grupo externo. Se usaron los valores bootstrap >50%. La escala representa el número de sustituciones nucleotídicas. En verde se resalta el aislado obtenido en el presente trabajo con las secuencias que se agrupa.

7.2 Caracterización morfológica

Los seis aislados obtenidos de plantas de maíz con síntomas de pudrición de raíz y tallos se sometieron a estudios morfológicos. Con base en las características macroscópicas y microscópicas de los aislados cultivados en PDA y CLA, e incubados durante 14 días a 25°C, se identificaron cuatro complejos de especies de *Fusarium* y al género *Neocosmospora*. Los aislados se ubicaron en los complejos: FBSC para el aislado F2R, FSAMSC para el aislado F6R, FFSC para el aislado F11R, FSSC para el aislado F15R y FIESC para los aislados F14R y F16T.

En PDA natural las colonias *Fusarium* sp. (F2R) produjeron micelio aéreo ralo con bordes irregulares; el anverso y reverso de las colonias fue morado claro y presentaron una tasa de crecimiento de 2.9 mm/día en PDA. Las células conidiógenas ocurrieron en monofiálides. Los microconidios eran abundantes y se presentaban en falsas cabezas hialinas, ovoides, aseptadas, de 6.2 µm de largo×2.8 µm de ancho de media (n=50). Los macroconidios eran esbeltos sin curvatura, hialinos, con una célula apical en forma de gancho, sin septos de 31.9 µm de largo×3.7 µm de ancho. No se encontraron esporodoquios ni clamidosporas (cuadro 3 y figura 6).

En *Fusarium* sp. (F6R) al anverso de la colonia mostró micelio aéreo de color blanco que se volvía rojo con el tiempo, al reverso se observó coloración roja con bordes blancos. La tasa de crecimiento fue 7.6 mm/día en PDA. No se observaron conidióforos, esporodoquios ni microconidios. Los macroconidios eran abundantes y grandes, con una célula apical en forma de gancho, la célula basal con forma de pie poco desarrollada, de uno a cinco septos, y de 33.3 µm de largo×4.6 µm de ancho (n = 50). Las clamidosporas eran abundantes agrupadas, simples, pares y cadenas (cuadro 3 y figura 7).

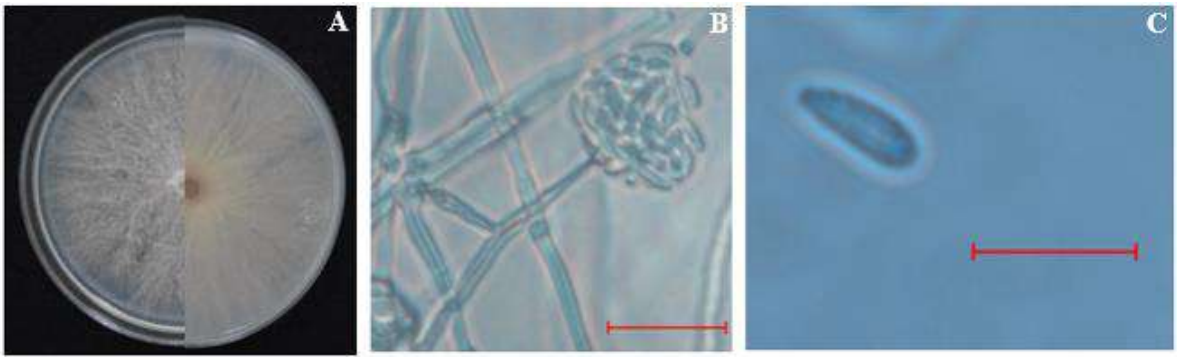

Figura 6. Características morfológicas de *Fusarium* sp. (F2R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. A) Colonia al anverso y reverso. B) Microconidios formando cabezas falsas. C) Microconidios. Barra de escala= 20µm.

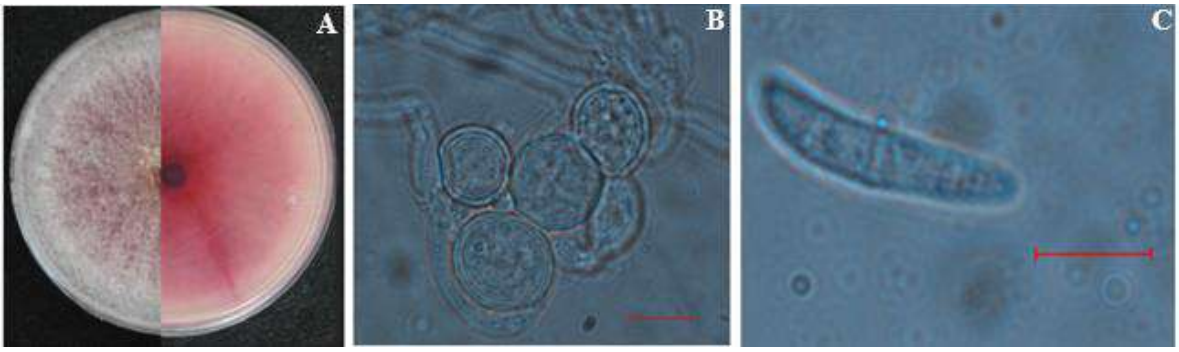

Figura 7. Características morfológicas de Fusarium sp. (F6R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. A) Colonia al anverso y reverso. B) Clamidosporas en grupo. C) Macroconidios. Barra de escala= 20µm.

Respecto a *Fusarium fredkrugeri* (F11R), este produjo micelio aéreo lila claro y al reverso de la caja la coloración era blanquecina. La tasa de crecimiento micelial fue de 5.5 mm/día en PDA. Los esporodoquios aparecían como masas de color crema sobre las hojas de clavel en CLA, mientras que las células conidiógenas se dividieron en polifiálides simples. Los microconidios eran de forma ovoide sin septos de 4.5 µm de largo 2.4 lm de largo × 2.5 µm de ancho (n = 50). Los macroconidios eran relativamente largos, delgados, ligeramente curvos, de cero a tres septos y de 30.7 µm de largo 4.4 µm de ancho (n = 50). No se observaron clamidosporas (cuadro 3 y figura 8).

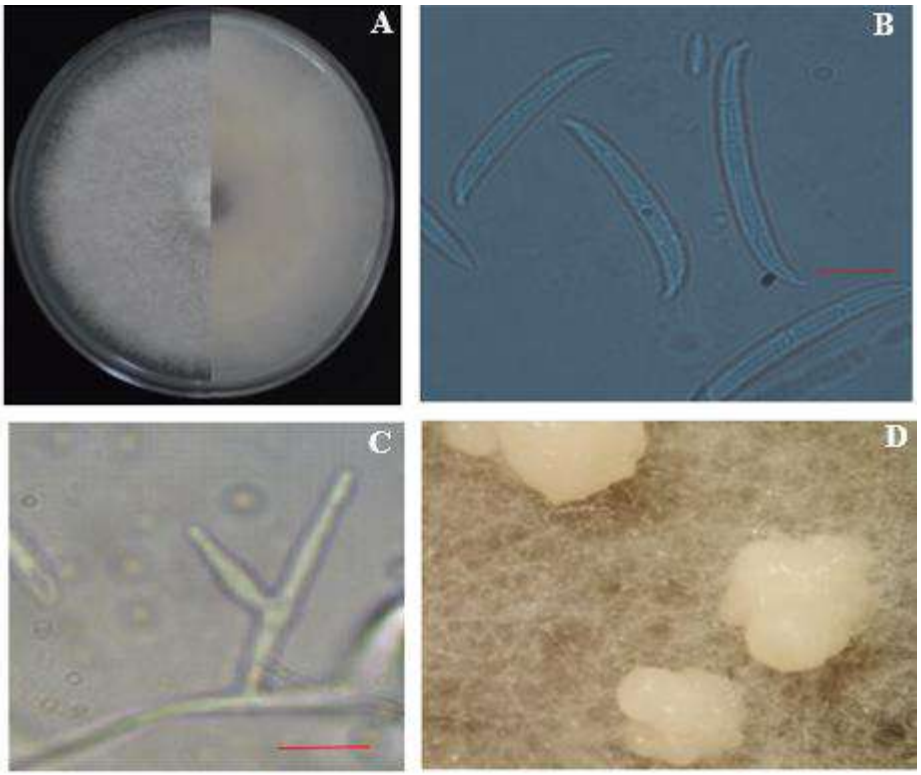

Figura 8. Características morfológicas de *Fusarium fredkrugeri* (F11R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. A) Colonia al anverso y reverso. B) Macroconidios y microconidios. C) Polifiálide. D) Esporodoquios. Barra de escala= 20µm.

Fusarium sp. (F14R) produjo micelio aéreo amarillo mostaza con bordes blancos, al reverso de la caja mostró una coloración amarillo mostaza. La tasa media de crecimiento micelial fue de 3.8 mm/día en PDA. Los esporodoquios se presentaban como masas irregulares de color naranja sobre las hojas de clavel en CLA, mientras que las polifiálides tenían múltiples células conidiógenas. No se observaron microconidios ni clamidosporas. Los macroconidios tenían forma dorsoventral, con dos a cinco septos y de 29.2 µm de largo × 3.9 µm de ancho (n = 50), célula apical en forma de gancho y célula basar en forma de pie (cuadro 3 y figura 9).

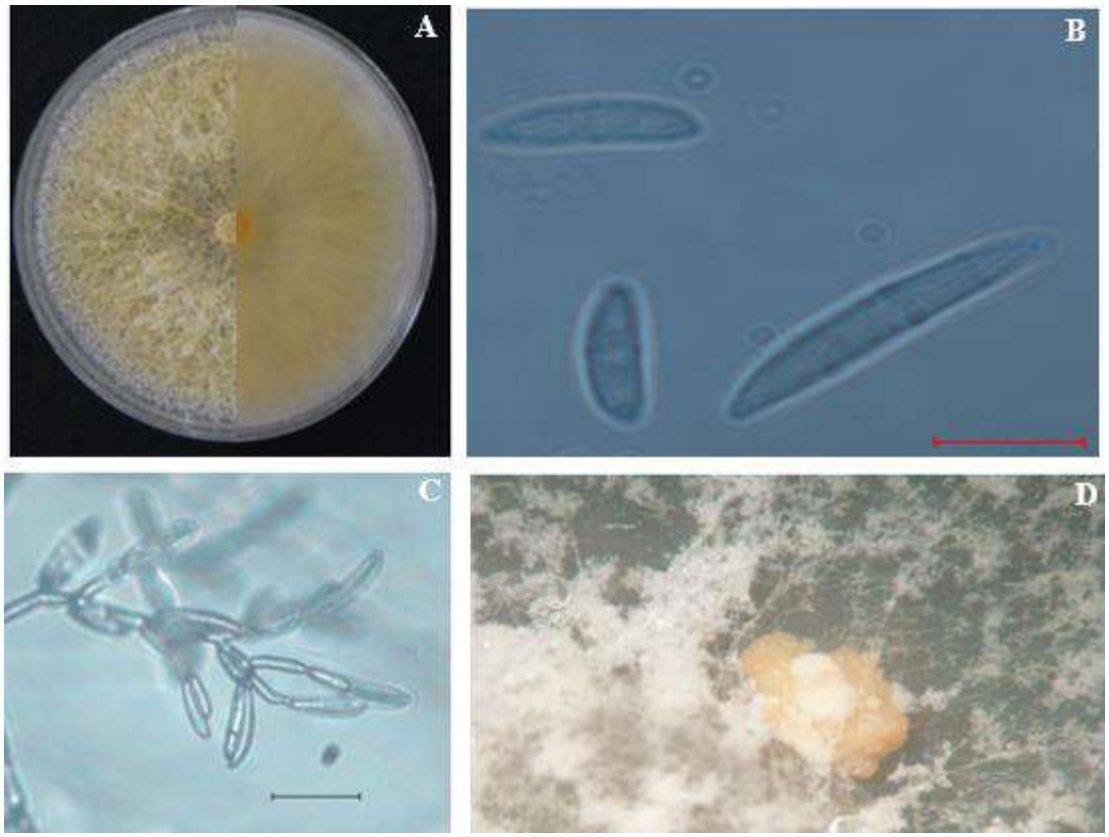

Figura 9. Características morfológicas de *Fusarium* sp. (F14R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. A) Colonia al anverso y reverso. B) Macroconidios y microconidios. C) Polifiálide. D) Esporodoquios. Barra de escala= 20µm.

Neocosmospora falciformis (F15R) en PDA natural produjo micelio aéreo color blanco que con el tiempo se tornó crema, el reverso de la colonia era crema. La tasa de crecimiento fue de 5.1 mm/día en PDA. Se produjeron esporodoquios de color crema sobre las hojas de clavel en CLA. Las células conidiógenas producidas en monofiálides largas. Los microconidios eran ovoides, formaban falsas cabezas; además, con dimensión de 13.5 µm de largo × 4.7 µm de ancho de media (n = 50). Macroconidios con la zona ventral recta, célula apical papilada, célula basal sin forma de pie, de tres a cinco septos y de 24.3 µm de largo × 5.1 µm

de ancho (n = 50). Había clamidosporas en simples, en cadenas y agrupadas (cuadro 3 y figura 10).

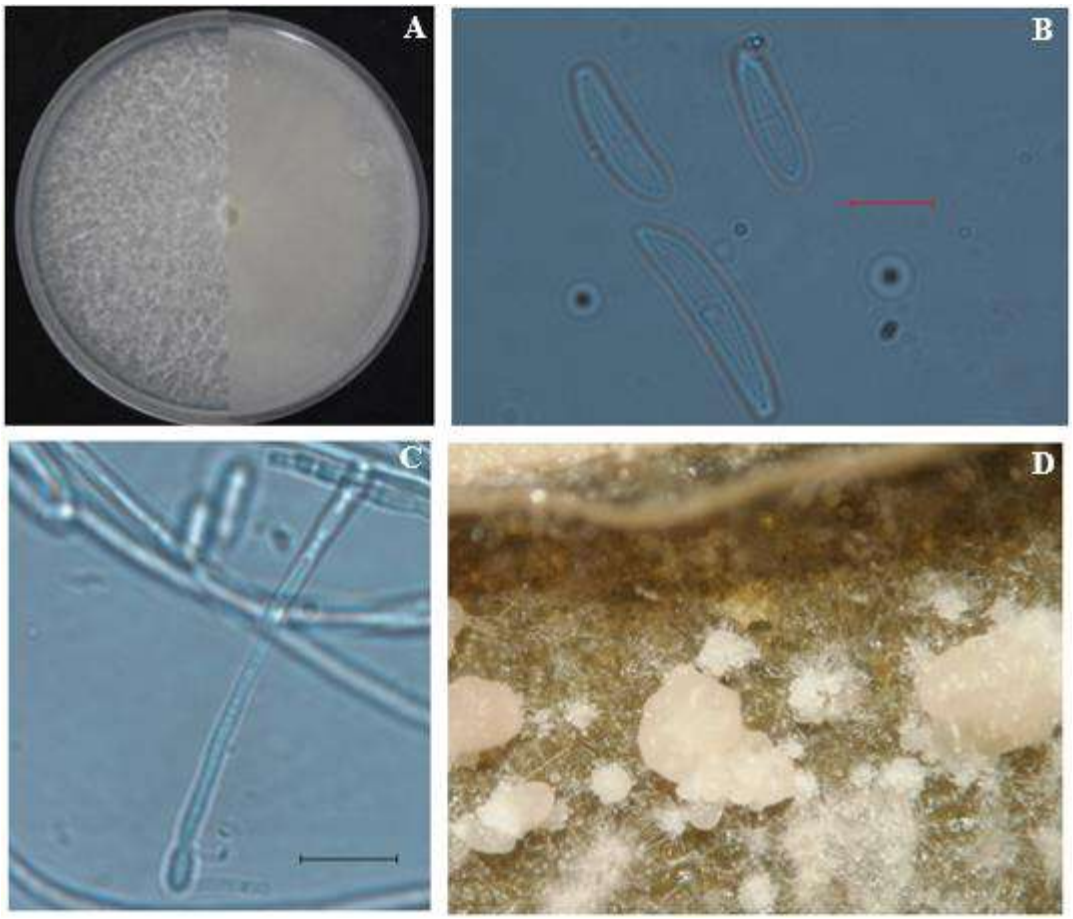

Figura 10. Características morfológicas de *Neocosmospora falciformis* (F15R) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. A) Colonia al anverso y reverso. B) Macroconidios y microconidios. C) Monofiálide. D) Esporodoquios. Barra de escala= 20µm.

Por último, *Fusarium* sp. (F16T) mostró coloración de blanca a amarillo mostaza, al reverso de la caja se observó sólo coloración amarillo mostaza. La tasa media de crecimiento fue de 3.4 mm/día en PDA. No se observaron esporodoquios, clamidosporas ni microconidios. Las polifiálides tenían múltiples células conidiógenas. Los macroconidios eran ligeramente

curvos, con una célula apical despuntada, una célula basal con forma de pie, de tres a cinco septos y de 26.8 µm de lago × 4.6 µm de ancho (n = 50) (cuadro 3 y figura 11).

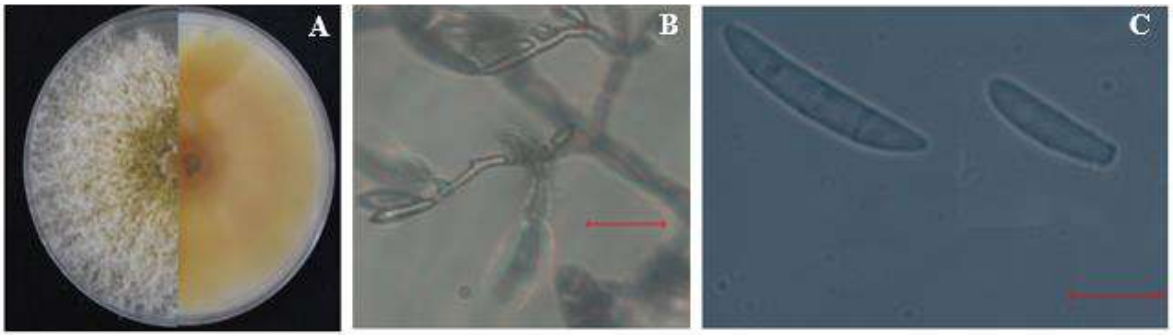

Figura 11. Características morfológicas de *Fusarium* sp. (F16T) en medio PDA natural 14 días después de incubación a 25 ±2 °C. A) Colonia al anverso y reverso. B) Polifiálide. C) Macroconidio y microconidio. Barra de escala= 20µm.

Cuadro 3. Características morfológicas de las especies de *Fusarium* obtenidas de plantas de maíz con síntomas de pudrición de raíz y tallo en Sinaloa.

Complejo/ especies de *Fusarium*/código	Macroconidios							Microconidios		Clamidosporas	Color de la colonia	Esporodoquios	Tasa de crecimiento (mm/día)
	Tamaño (µm) (largo x ancho)	Forma	Célula Apical	Célula Basal	Septos (Min-max)	Fiálides (µm) (largo x ancho)	Fiálides (forma)	Tamaño (µm) (largo x ancho)	Forma				
FBSC/ *Fusarium* sp./F2R	31.9×3.7	Esbelto sin curvatura	Forma de gancho	Poco desarrollado, en forma de pie	0	24.2×2.8	Monofialides	6.2×2.8	Ovoide	Ausentes	Morado claro	Ausente	2.9 a*
FSAMSC/ *Fusarium* sp./ F6R	33.3×4.6	Mas ancho en un lado que en el centro	Forma de gancho	Poco desarrollado, en forma de pie	1-5	N/A	N/A	N/A	Ausente	En simples, en pares y en cadenas	Blanco a rojo	Ausente	7.6 b
FFSC/ *Fusarium fredkrugeri*/F11R	30.7×4.4	Ligeramente curvo	Papilado	En forma de pie	0-3	17.3×2.8	Polifiálides simples	4.5×2.4	Ovoide	Ausentes	Lila claro	Presente	5.5 c
Neocosmospora/ *Neocosmospora falciformis*/F15R	24.3×5.1	Zona ventral recta	Papilado	Obtuso, sin forma de pie	3-5	53.9×3.0	Monofialides	13.5×4.7	Ovoide	En simples y en pares	Blanco a crema	Presente	5.1 c
FIESC/ *Fusarium* sp./F14R	29.2×3.9	Dorsoventral	En forma de gancho	En forma de pie	2-5	26.7×3.5	Polifialides con múltiples conidiógenos	N/A	Ausente	Ausentes	Amarillo mostaza	Presente	3.8 d
Fusarium sp./F16T	26.8×4.6	Ligeramente curvo	Despuntado	En forma de pie	3-5	24.6×3.1	Polifiálides con múltiples conidiógenos	N/A	Ausente	Ausentes	Blanco a Amarillo mostaza	Ausente	3.4 ad

Fusarium sp.(**F2R**) (complejo FBSC), *Fusarium* sp. (**F6R**) (complejo FSAMSC), *Fusarium fredkrugeri* (complejo FFSC), *Neocosmospora falciformis* (género *Neocosmospora*), *Fusarium* sp. (**F14R**) y *Fusarium* sp. (**F16T**) (complejo FIESC) *Medias con la misma letra no son significativamente diferentes según el procedimiento de Tukey ($P > 0.05$)

7.3 Pruebas de patogenicidad

7.3.1 Experimentos en invernadero

A partir de los 63 d después de la inoculación, se empezó a observar el efecto de las especies evaluadas en invernadero sobre el desarrollo en las plantas de maíz y a su vez, mostraron diferencia en la severidad de la enfermedad.

La altura de las plantas de maíz a los 63 días osciló entre 32.3 y 81.7 cm. El análisis estadístico determinó que, a los 63 días todos los aislados disminuyeron la altura de las plantas, puesto que todos los tratamientos mostraron diferencias significativas con respecto al testigo sin inocular ($p > 0.05$). La altura de las plantas infectadas con todos los aislados, excepto el aislado F6R, fueron estadísticamente iguales a las plantas infectadas con el aislado de *F. verticillioides* (cuadro 4; figura 12), cuya patogenicidad y agresividad en maíz ha sido corroborada en múltiples ensayos *in vitro*, en invernadero y en campo. A los 119 días, la altura de las plantas osciló entre 70.4 y 274.8 cm, manteniendo la tendencia antes mencionada a los 63 días, con la excepción de que las plantas infectadas con los aislados F16T, F6R y F2R mostraron diferencias significativas con respecto a las plantas infectadas con *F. verticillioides* ($p > 0.05$) (cuadro 5).

Con respecto al grosor de la base del tallo de las plantas, las medidas variaron de 1.0 a 3.5 y de 1.0 a 5.8 cm a los 63 y 119 días después de la siembra. El análisis estadístico indicó que *F. fredkrugeri* obtuvo el menor grosor del tallo sin diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, excepto con *Fusarium* sp. (F6R) y *Fusarium* sp. (F16T). El testigo sin inocular a los 63 d fue diferente estadísticamente a los tratamientos excepto a *Fusarium* sp. (F6R). A los 119 días *F. fredkrugeri* y *F. verticillioides* presentaron el menor grosor de tallo, sin diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellos y *N. falciformis*, pero sí las hubo con respecto

al grosor del tallo de las plantas que crecieron en suelo infestado artificialmente con *Fusarium* sp. (F14R), *Fusarium* sp. (F6R), *Fusarium* sp. (F16T), y *Fusarium* sp. (F2R). El testigo sin inocular fue diferente a todos los tratamientos excepto a *Fusarium* sp. (F6R) (cuadro 4 y cuadro 5).

Para el número de hojas por plantas, las medidas oscilaron entre 4.1 y 9.0 a os 63 días y entre 4.8 y 14.0 a los 119 días después de la siembra en suelo infestado artificialmente. El análisis estadístico a los 63 d no mostró diferencias significativas entre *F. verticillioides* con respecto a los demás tratamientos, pero si hubo diferencias entre *F. verticillioides* con respecto a *Fusarium* sp. (F2R) y *Fusarium* sp. (F6R*)*. El testigo sin inocular fue diferentes a todos los tratamientos. A los 119 d, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre tratamientos, pero si las hubo entre éstos y el testigo sin inocular.

Con respecto al porcentaje de la pudrición de raíz de las plantas inoculadas con las diferentes especies de *Fusarium*, ésta varió de 67.2 a 93.7 % al momento de la cosecha (176 días después de la siembra). El análisis estadístico indicó que *F. fredkrugeri* fue el que mayor porcentaje de pudrición tuvo, sin diferencias significativas con los demás aislados excepto con *Fusarium* sp. (F6R). El testigo sin inocular tuvo diferencias estadísticamente significativas con respecto a todos los aislados, lo que se observó en la excelente sanidad de las raíces de las plantas (cuadro 5 y figura 13).

Para el peso seco de la raíz éste varió de 17.9 a 216.2 g. El análisis estadístico indicó que *F. fredkrugeri* obtuvo el menor peso seco de la raíz, sin embargo, no hubo diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos. El peso de las plantas que crecieron en suelo sin presencia de los hongos fue estadísticamente diferente al de las plantas que

crecieron el suelo infestado con las diferentes especies de *Fusarium*, excepto con *Fusarium* sp. (F14R) y *Fusarium* sp. (F16T).

En el caso de peso seco del follaje, éste varió de 36.2 a 449.7 g mostró que *F. fredkrugeri* fue el que menor peso seco de follaje tuvo, sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) con las especies de *Fusarium*, excepto con *Fusarium* sp. (F6R). Las plantas testigo sin inoculación, fueron diferentes estadísticamente con los tratamientos con *Fusarium*, excepto con *Fusarium* sp. (F6R).

Con respecto a la longitud y diámetro de las mazorcas obtenidas al momento de la cosecha, las medidas variaron de 3.6 a 23.5 cm para el largo y 0.9 a 5.3cm para el ancho a los 119 días después de la siembra. El análisis estadístico indicó que las mazorcas producidas por plantas crecidas en suelo infestado con *F.verticillioides* fueron las que menor longitud y diámetro tuvieron, sin diferencias significativas entre éste con respecto a los demás tratamientos en la longitud de la mazorca, excepto con *Fusarium* sp. (F14R) y sin diferencias significativas en el diámetro de las mazorcas con los tratamientos, excepto con *Fusarium* sp. (F6R). En ambas variables el testigo sin inocular fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos en la longitud y diámetro de las mazorcas, excepto con respecto a *Fusarim* sp. (F14R) y *Fusarium* sp. (F6R) respectivamente.

Finalmente, con respecto a la producción de grano en las plantas inoculadas con las diferentes especies de *Fusarium* y las plantas testigo sin inoculación, se observó un efecto evidente en el peso de los granos obtenidos. Las medias de producción en las plantas inoculadas variaron de 8.8 a 205.3 g por mazorca con diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el testigo sin inocular con respecto a los tratamientos, excepto con *Fusarium* sp. (F2R); por otro lado, entre tratamientos, sólo hubo diferencias entre *Fusarium* sp. (F6R) y *Fusarium* sp. (F14R) con

respecto al testigo positivo. Las plantas que mostraron la menor producción fueron aquellas inoculadas con *F. verticillioides* y *F. fredkrugeri* en los que el rendimiento de granos fue de 8.8 y 39.0 g respectivamente (cuadro 5).

Los postulados de Koch se confirmaron reaislando a las especies de *Fusarium* de las distintas plantas sintomáticas y comparando las morfologías de las colonias y las medidas de 20 macroconidios y 20 microconidios con las de los aislamientos originales. Los reaislamientos de las hojas no inoculadas resultaron negativos en PDA para las especies de *Fusarium* trabajadas en este estudio con PDA.

Cuadro 4. Efecto de *Fusarium* spp. sobre el desarrollo de plantas de maíz a los 63 días después de la siembra.

Especies /Código de aislados	**Altura (cm)**	**Grosor del tallo (cm)**	**Número de hojas en las plantas**
Fusarium sp. (F6R)	53.7 b	2.2 ab	6.0 b
Fusarium sp. (F2R)	45.3 bc	1.7 bcd	5.7 b
Fusarium sp. (F16T)	41.7 bc	1.7 bc	5.6 bc
Fusarium sp. (F14R)	42.5 bc	1.6 bcd	4.63 bc
Neocosmospora falciformis (F15R)	42.2 bc	1.6 bcd	5.0 bc
F. fredkrugeri (F11R)	35.6 c	0.9 d	4.8 bc
F. verticillioides (Testigo positivo)	32.3 c	1.0 cd	4.1 c
Testigo sin inoculación	81.7 a *	3.5 a	9.0 a

*****Medias en cada columna con la misma letra no difieren, según la comparación de pares de Conover ($p > 0.05$).

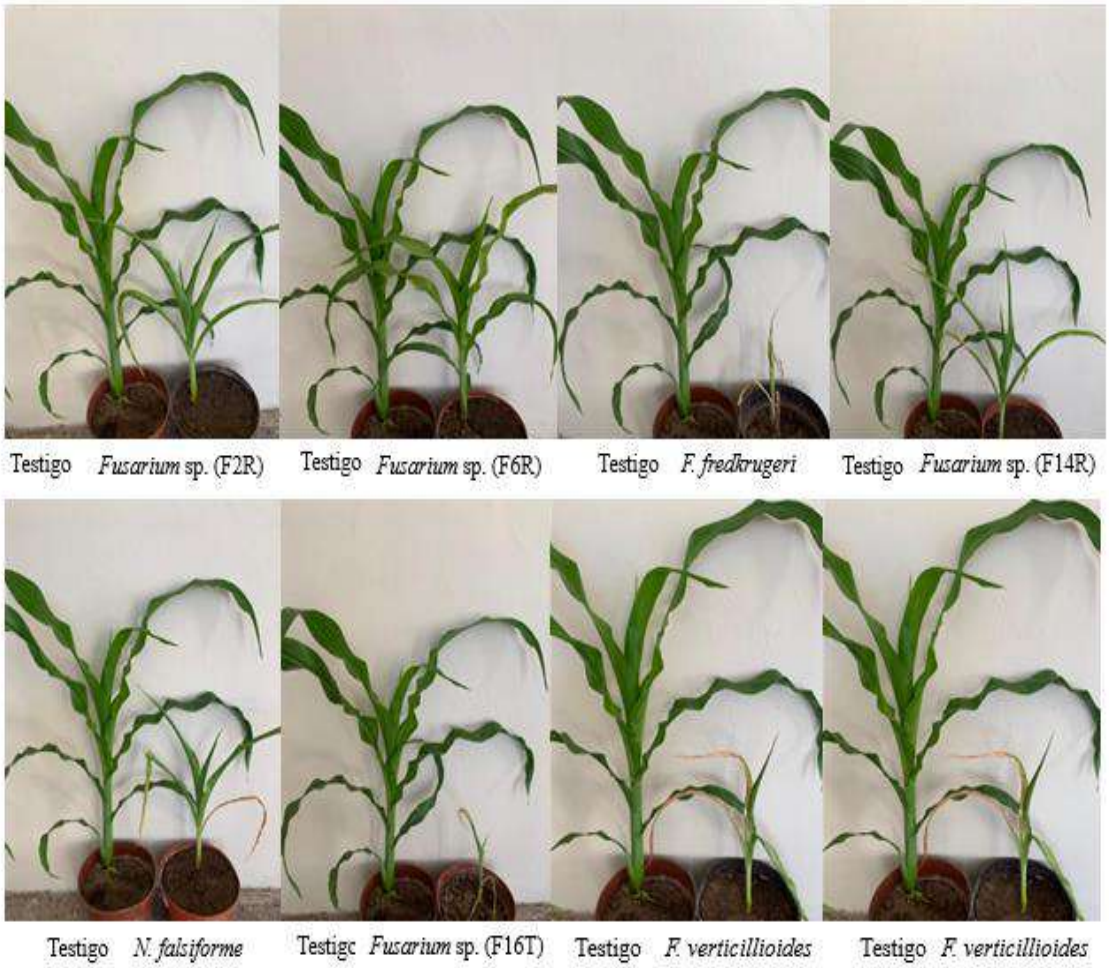

Figura 12. Plantas de maíz inoculadas con los siete asilados de *Fusarium* después de 63 días después de inoculación.

Cuadro 5. Efecto de siete especies de *Fusarium* en el desarrollo de plantas de maíz, pudrición de raíz, peso seco de raíz y plantas y producción.

Especies /Código de aislados	Altura[y] (cm)	Grosor [y] del tallo (cm)	Número[y] de hojas en las plantas	Porcentaje[z] de pudrición de raíz (%)	Peso seco[z] de raíz (g)	Peso seco[z] del follaje (g)	Longitud[z] de mazorcas (cm)	Diámetro[z] de mazorcas (cm)	Peso de los granos[z] (g)
Fusarium sp. (F16T)	166.5 b*	2.8 b	9.0 b	71.2 bc	121.6 abc	192.9 bc	10.6 bc	2.2 bc	82.8 bc
Fusarium sp. (F6R)	163.8 b	3.2 ab	11.3 b	67.2 b	154.8 ab	204.6 ab	14.2 bc	3.5 b	99.8 b
Fusarium sp. (F2R)	150.4 bc	2.8 b	10.4 b	83.7 bc	64.4 bc	88.9 bc	13.6 bc	3.4 bc	109.0 ab
Fusarium sp. (F14R)	140.0 bcd	2.6 b	9.3 b	71.0 bc	221.8 ab	197.4 bc	14.0 ab	2.8 bc	103.3 b
N. falciformis (F15R)	144.9 bcd	2.5 bc	9.9 b	72.6 bc	173.2 bc	178.7 bc	9.0 bc	1.7 bc	67.8 bc
F. fredkrugeri (F11R)	72.0 cd	1.0 c	4.8 b	93.7 c	17.9 c	36.2 c	10.0 bc	2.5 bc	39.0 bc
F. verticillioides (Testigo positivo)	70.4 d	1.3 c	9.1b	86.2 bc	81.8 bc	78.8 bc	3.6 c	0.9 c	8.8 c
Testigo sin inoculación	274.8 a	5.8 a	14.0 a	0.0 a	216.2 a	449.7 a	23.5 a	5.3 a	205.3 a

*Medias en cada columna con la misma letra no difieren, según la comparación de pares de Conover ($P > 0.05$). [y] variables determinadas a los 119 días en las plantas cuando éstas cesaron su desarrollo vegetativo. [Z] Variables determinadas a los 176 días después de la siembra.

Figura 13. Raíces de plantas de maíz inoculadas con los siete asilados de *Fusarium* 176 días después de la siembra. Barra de escala = 20 cm.

VIII. DISCUSIÓN

El uso de los marcadores moleculares ITS, TEF y RPB2 determinó que el aislado *Fusarium* sp. (F2R) es una posible nueva especie, ya que según lo reportado por O'Donnell *et al*. (2010) con estos marcadores es suficiente para llegar a nivel de especie, por lo que sería necesario continuar realizando estudios a nivel molecular para poder determinar de qué especie se trata. Las características culturales y morfométricas observadas para *Fusarium* sp. (F2R) coinciden según lo reportado por Laurence *et al*. (2011) para especies dentro del complejo *Fuarium burgessii*. Con respecto a las pruebas de patogenicidad, algunas especies dentro del complejo están reportadas principalmente causando pudrición de raíz y base del tallo del trigo en Algeria (Laraba *et al*., 2017), en papa (en Líbano) (Saad *et al*., 2022) y pudrición de raíz en cebada en Kirguistán (Zholdoshbekova *et al*., 2022).

La concatenación del gen TEF y la región ITS no determinó la especie a la que pertenece el aislado F6R, por lo que se reporta como *Fusarium* sp. Las características morfológicas de este aislado; producción de clamidosporas en grupo, simples y en cadenas, así como la ausencia de microconidios en CLA, color de colonia rojiza, coinciden con las características consignadas por Laraba *et al*. (2021) para especies dentro del complejo complejo *Fusarium sambucinum.* Para confirmar la identidad de este aislado y discernir entre *F. brachygibbosum* y *F. transvalense,* será necesario usar otros marcadores moleculares que den más resolución a nivel de especies dentro de este complejo, como el RPB2 y el RPB1 (O'Donnell *et al*, 2010; Crous *et al*, 2021). Por otro lado, especies dentro del complejo *Fusarium sabucinum* han sido identificados como patógenos en soya en el noreste de China (Wang *et al*., 2021), ocasionando pudrición en tubérculos de papa en Italia (Jasarevic *et al*., 2022); también se han identificado como patógenos en plantas de palma datilera (Al-Sadi *et al*., 2012), plantas medicinales (Gashgari *et al*., 2016), almendro (Stack *et al*., 2017), olivo (Trabelsi *et al*., 2017), girasol (Xia *et al*., 2018), remolacha azucarera (Cao *et al*., 2018) y en el cultivo de maíz en China (Shan *et al*., 2017). Sin embargo, Rentería-Martínez (2018) reportaron por primera vez a *F. brachygibbosum* especie cercana al aislado F6R causando pudrición de raíz y tallo en sandía en Sonora, México. De igual manera, Shang *et al*. (2017) reportaron por primera vez a *F. brachygibbosum* causando pudrición de raíz y tallo en maíz en China, sin mostrar información sobre su impacto en el desarrollo y rendimiento en plantas de maíz.

La utilización de las secuencias ITS junto con TEF y RPB2 fue efectiva para identificación a nivel especie del aislado F11R como *F. fredkrugeri* lo que concuerda con lo reportado por Félix-Gastélum *et al*. (2022), que mencionan que el complejo de especies de *Fusarium fujikoroi* contiene un largo número de especies cripticas por lo que es necesario hacer uso de

secuencias parciales de diferentes genes codificantes, siendo el TEF el más aceptado para discriminar entre especies de *Fusarium*. El tamaño de los macroconidios y microconidios, así como el color de las colonias, la producción de esporodoquios y la tasa de crecimiento para el aislado *Fusarium fredkrugeri*, fueron similares a lo reportado para esta especie por Yilmaz *et al*. (2021) que se incluye la especie dentro del complejo de especies *Fusarium fujikoroi*. *Fusarium fredkrugeri*, fue la especie más virulenta ya que su efecto fue similar en casi todas las variables al de *F. verticillioides* el cual ya ha sido consignado causando daños en maíz (Leyva-Madrigal *et al*., 2015). A la fecha no se conocen estudios donde se evalúe el efecto del hongo sobre otras variables en plantas de maíz, pero sí sobre el efecto que tiene en la pudrición de raíz y tallo en plantas como *Melhania acuminata* en África del sur (Sandoval-Denis *et al*., 2018) y maíz en Nigeria (Sobowale *et al*., 2022).

Para *Fusarium* sp. (F14R) y *Fusarium* sp. (F16T), el uso de las secuencias concatenadas de ITS y TEF no fue suficiente para determinar la especie. En el filograma obtenido se observó una politomía con las especies especies *Fusarium nanum* y *Fusarium* cf. *Bullatum*, por lo que será necesario recurrir a un mayor número de marcadores moleculares para aumentar la resolución. En la más reciente revisión de especies del complejo *Fusarium incarnatum-equiseti*, se analizaron secuencias parciales de la calmodulina, RPB2 y TEF, las cuales dan mayor resolución y permiten discernir entre las especies del complejo (Xia *et al*. 2019), de tal forma que la inclusión de estos marcadores en el análisis filogenético podría romper la politomía observada y determinar la especie a la que pertenecen los aislados F14R y F16T. Las características culturales y morfométricas para *Fusarium* sp. (F14R) y *Fusarium* sp. (F16T) son similares a lo reportado por Xia *et al*. (2019) para especies del complejo *Fusarium incarnatum-equiseti*. A la fecha se han aislado algunas especies de este complejo, de plantas

de maíz donde causan pudrición de raíz en Irán (Rahjoo *et al*., 2008), soya en Irán (*Glycine max* (L.) Merrill) (Mokhtari y Ali, 2022), pudrición poscosecha de melón en Tailandia (Wonglom y Sunpapao, 2020), pudrición de raíz y tallo en *Gerbera jame sonii* en China (Chen *et al*., 2021), en *Trichosanthes dioica* (Malaui-África) y *Triticum* sp. (Irán) (Xia *et al*., 2019); también se han encontrado como endofíticos en sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) (Funnell-Harris *et al*., 2010).

Para *Neocosmospora falciformis* Sousa *et al*. (2017) reportaron algunas características que coinciden con la especie como fiálides largas, microconidios formando cabezas falsas y coloración de la colonia crema; además mencionan que esta especie se encuentra dentro del género *Neocosmospora*. Esta especie es clínicamente importante porque se asocia mayormente a infecciones en animales y humanos (Sabahi *et al*., 2023); sin embargo, también se ha notado su presencia en algunos cultivos como frijol lima en Brasil (*Phaseolus lunatus*) (Sousa *et al*.,2017), soya en Brasil (*Glycine max*) (Sandoval-Denis *et al*., 2019), en melón en España (*Cucumis melo* L.) (González *et al*., 2020) y en algunas plantas suculentas de la familia *Cactaceae* en Irán (*Aeonium arboreum* L., *Echinocactus grusonii* Hildm, *Mammillaria bernalensis* Repp, *Mammillaria spinosissima* Lem, *Opuntia ficus-indica* L. (Kamali-Sarvestani *et al*., 2022).

A nivel mundial existen algunos estudios que indican que algunas de las especies de *Fusarium* causan pudrición de raíz, tallo y mazorcas en el maíz, destacando a *F.verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. proliferatum* causantes de estas enfermedades (Simões *et al*., 2022). Sin embargo, de las especies de *Fusarium* incluidas en el presente trabajo, *F. fredkrugeri*, *N. falciformis* y *Fusarium* sp. (F2R), ésta última por ser una posible nueva especie, no se han consignado causando enfermedad en esta Poaceae, por lo que futuras líneas

de investigación deberían de orientarse hacia la determinación de la incidencia de estas especies en lotes comerciales de maíz e incursionar en la determinación del rango de hospedantes de las mismas, pues esto contribuirá a la implementación de medidas de control de la pudrición de raíz de plantas de maíz causada por estas especies de *Fusarium* patógenas en Sinaloa.

IX. CONCLUSIONES

1. Se confirmó la identidad del aislado F11R como *Fusarium fredkrugeri*, y del aislado F15R como *Neocosmospora falciformis.* El análisis filogenético del resto de los aislados no logró determinar su identidad, sin embargo, se logró resolver que el aislado F2R pertenece al complejo de especies *Fusarium burgessii*; el aislado F6R pertenece al complejo *Fusarium sambucinum;* F16T y F14R pertenecen al complejo *Fusarium incarnatum-equiseti.* La secuenciación de otros marcadores moleculares será necesario para robustecer el análisis filogenético para eliminar politomías y corroborar si los aislados F2R y F6R corresponden a nuevas especies dentro del género.

2. Las características morfológicas de *F.fredkrugeri* y *N. falciformis* permitieron corroborar su identidad. Las características de los demás aislados, permitieron asociarlos con algunas especies incluidas dentro de complejos de especies de *Fusarium.*

3. Se confirmó la patogenicidad de todos los aislados en plantas de maíz. Este sería el primer reporte de *Fusarium fredkrugeri* y *Neocosmospora falciformis* como agentes causales de pudrición de raíz en México y el mundo. Se requiere determinar las identidades, a nivel de especie, del resto de los aislados para poder evaluar si se trata de especies nuevas y primeros reportes de patógenos en maíz, tanto en México como en el mundo.

4. De todas las variables evaluadas en las plantas de maíz con las diferentes especies de *Fusarium*, *Fusarium fredkrugeri* fue la especie que más afectó el desarrollo y rendimiento del maíz.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASERCA, Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. 2018. Maíz grano cultivo representativo de México. Disponible en: https://www.gob.mx/aserca/articulos/maiz-grano-cultivo-representativo-de-mexico?idiom=es

Acosta, R. 2009. Reseña:el cultivo del maíz, su origen y clasificación. el maíz en cuba. Cultivos Tropicales 30:113–120

Bahadur A. 2022. Current status of *Fusarium* and their management strategies. *Fusarium* An Overview of the Genus. doi: 10.5772/intechopen.100608

CYMMYT, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. 2004. Etapas de crecimiento del maíz. México. http://maizedoctor.cimmyt.org/index.php/es/empezando/9?task=view

Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato (CESAVEG). 2023. Manual de plagas y enfermedades en maíz (1ªed.) http://cesaveg.org.mx/boletines/manual_maiz.pdf

CONABIO, Comisión Nacional para el Reconocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2013. Proyecto Global de Maíces Nativos. https://bioteca.biodiversidad.gob.mx/ (consulta, abril, 2023)

Chagas LFB, Colonia BSO, Rodríguez G, Scheidt GN, Caeser A, Portella F, Soares LP, Junior AFC, 2017. Rice growth influence by *Trichoderma* spp. with natural phosphate fertilization under greenhouse conditions. International Journal of Development Research 07:13147–13152

Crous PW, Lombard L, Sandoval-Denis M, Seifert KA, Schroers HJ, Chaverri P, Gené J, Guarro J, Hirooka Y, Bensch K, Kema GHJ, Lamprecht SC, Cai L,

Rossman AY, Stadler M, Summerbell RC, Taylor JW, Ploch S, Visagie CM, Yilmaz N, Frisvad JC, Abdel-Azeem AM, Abdollahzadeh J, Abdolrasouli A, Akulov A, Alberts JF, Araújo JPM, Ariyawansa HA, Bakhshi M, Bendiksby M, Ben Hadj Amor A, Bezerra JDP, Boekhout T, Câmara MPS, Carbia M, Cardinali G, Castañeda-Ruiz RF, Celis A, Chaturvedi V, Collemare J, Croll D, Damm U, Decock CA, de Vries RP, Ezekiel CN, Fan XL, Fernández NB, Gaya E, González CD, Gramaje D, Groenewald JZ, Grube M, Guevara-Suarez M, Gupta VK, Guarnaccia V, Haddaji A, Hagen F, Haelewaters D, Hansen K, Hashimoto A, Hernández-Restrepo M, Houbraken J, Hubka V, Hyde KD, Iturriaga T, Jeewon R, Johnston PR, Jurjević Ž, Karalti I, Korsten L, Kuramae EE, Kušan I, Labuda R, Lawrence DP, Lee HB, Lechat C, Li HY, Litovka YA, Maharachchikumbura SSN, Marin-Felix Y, Matio Kemkuignou B, Matočec N, McTaggart AR, Mlčoch P, Mugnai L, Nakashima C, Nilsson RH, Noumeur SR, Pavlov IN, Peralta MP, Phillips AJL, Pitt JI, Polizzi G, Quaedvlieg W, Rajeshkumar KC, Restrepo S, Rhaiem A, Robert J, Robert V, Rodrigues AM, Salgado-Salazar C, Samson RA, Santos ACS, Shivas RG, Souza-Motta CM, Sun GY, Swart WJ, Szoke S, Tan YP, Taylor JE, Taylor PWJ, Tiago PV, Váczy KZ, van de Wiele N, van der Merwe NA, Verkley GJM, Vieira WAS, Vizzini A, Weir BS, Wijayawardene NN, Xia JW, Yáñez-Morales MJ, Yurkov A, Zamora JC, Zare R, Zhang CL, Thines M. 2021. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. Studies in Mycology 17:98. doi: 10.1016/j.simyco.2021.100116

Cruz-Lachica I, Marquez I, Osuna-Garcia LA, Gomez-Gonzalez G, Tovar-Pedraza JM, Garcia-Estrada RS. 2022. First Report of *Fusarium verticillioides* Causing

Cucumber Fruit Rot in Sinaloa, Mexico. Plant Disease. doi:10.1094/PDIS-09-21-1935-PDN.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar

Dweba C, Figlan S, Shimelis H, Motaung T, Sydenham S, Mwadzingeni L, Tsilo T. 2016. *Fusarium* head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. Crop Protection 91:114-122. 10.1016/j.cropro.2016.10.002

EPPO. 2020. Género *Fusarium*. En linea: https://gd.eppo.int/taxon/1FUSAG (consulta, enero de 2023).

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1993. El maíz en la nutrición humana. Disponible en: https://www.fao.org/3/t0395s/T0395S02.htm (consulta 21 noviembre 2022)

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2023. Perspectivas de cosecha y situación alimentaria. Informe trimestral mundial No 4, diciembre 2022. Roma. https://doi.org/10.4060/cc3233es

Fenalce. 2012. El cultivo del maíz, historia e importancia. importancia de los cultivos representados por Fenalce. Pp:10-19.

Félix-Gastélum R, Lizárraga-Sánchez GJ, Maldonado-Mendoza IE, Leyva-Madrigal, KY, Herrera-Rodríguez G y Espinoza-Matías S. 2018. Confirmación de la identidad de *Exserohilum turcicum*, agente causal del tizón foliar del maíz en Sinaloa. Revista mexicana de fitopatología 36:468-478. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-1

Félix-Gastélum R, Mora-Carlón BA, Leyva-Madrigal KY, Solano-Báez AR, Pérez-Mora JL, Guerra-Meza O, Mora-Romero GA. 2022. Sorghum Sheath Blight Caused by *Fusarium* spp. Sinaloa, Mexico. Plant Disease 106:1454-1461. doi: 10.1094/PDIS|-10-21-2303-RE

Fernández-Suárez R, Morales-Chávez LA y Gálvez-Mariscal A. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: Una revisión indispensable. Revista fitotecnia mexicana 36:275-283

GBIF, Global biodiversity información facility. 2023. Disponible en: https://www.gbif.org/es/occurrence/3958704560

Grande-Tovar C y Orozco-Colonia BS. 2013. Producción y procesamiento del maíz. Revista Científica Guillermo de Ockham 11:97–110

González-Cortés N, Silos-Espino H, Estrada-Cabral JC, Chávez-Muñoz JA y Tejero-Jiménez L. 2016. Characteristics and properties of maize (*Zea mays* L.) grown in native Aguascalientes, México.Revista mexicana de ciencias agrícolas 7:669-680

González V, García-Martínez S, Ruiz JJ, Flores-León A, Picó B y Garcés-Claver A. 2020. First Report of Neocosmospora falciformis Causing Wilt and Root Rot of Muskmelon in Spain. Plant Disease 104:4.

Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95-98.

Jiménez-Díaz RM. 2009. El Nuevo Sistema Agroalimentario Global. Mediterráneo Económico 15, Fundación CAJAMAR, El Ejido (Almería),163.

Jiménez-Díaz RM, Jimenez-Gasco MM. 2011. Integrated Management of *Fusarium* Wilt Diseases. En línea: https://www.researchgate.net/publication/249009577 Fecha de consulta: mayo de 2023.

Kamali-Sarvestani S, Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R, Salmaninezhad F, Cacciola SO. 2022. *Fusarium* and *Neocosmospora* Species Associated with Rot of Cactaceae and Other Succulent Plants. Journal of fungi (Basel) 8(4):364. doi: 10.3390/jof8040364.

Koike ST, Wilen CA, Raabe RD, McCain AH, Grebus ME. 2019. *Fusarium* Wilt. En línea: http://ipm.ucanr.edu/PMG/r280100811.html (consulta, febrero de 2023).

Leslie JF, Summerell BA. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing. 387 p.

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C y Tamura K. 2018. MEGA X: Análisis de genética evolutiva molecular en plataformas informáticas. Biología molecular y evolución 35: 1547-1549.

Leyva-Madrigal KY, Larralde-Corona CP, Apodaca-Sánchez MA, Quiroz-Figueroa FR, Mexia-Bolaños PA, Portillo-Valenzuela S, Ordaz-Ochoa J. y Maldonado-Mendoza IE. 2015. *Fusarium* Species from the *Fusarium fujikuroi* Species Complex Involved in Mixed Infections of Maize in Northern Sinaloa, Mexico. Journal of Phytopathology 163:486–497. https://doi.org/10.1111/jph.12346

MAGRAMA, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. 2013. Disponible en: http://www.magrama.gob.es/app/materialvegetal/fichamaterialvegetal.aspx?idficha=1180 (Consultado en enero 2023)

Márquez-Sanchez F. 2008. De las variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) los híbridos transgénicos. Recoleccion de germoplasmas y variedades mejoradas. Agricultura, Sociedad y Desarrollo 2:151-166

Márquez-Licona G, Leyva-Mir SG, De León C, Hernández-Vargas M, Téliz-Ortiz D, Kolařík M y Castillo-González F. 2018. Artificial inoculation of maize seeds with *Sporisorium reilianum* f. sp. zeae, 63

Matthisen RL, Ahmad AA y Robertson AE. 2016. Temperature affects aggressiveness and fungicide sensitivity of four *Pythium* spp. that cause soybean and corn damping-off in Iowa. Plan disease 100:583-591.

Méndez-Bravo A, Cortazar-Murillo EM, Guevara-Avendaño E, Ceballos-Luna O, Rodríguez-Haas B, KielMartínez AL, Hernández-Cristóbal O, Guerrero-Analco JA y Reverchon F. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria associated with avocado display antagonistic activity against *Phytophthora cinnamomi* through volatile emissions. PLoS ONE 13:0194665

Minaya-Huerta M, Reyes-Huamán E. 2017. Identificación y caracterización del agente causal de la pudrición de la raíz y tallo del maíz (*Zea mays* L.). Aporte Santiaguino 9:69. https://doi.org/10.32911/as.2016.v9.n1.214

Mirghasempour SA, Studholme DJ, Chen W, Zhu W, Mao B. 2022. Molecular and Pathogenic Characterization of *Fusarium* Species Associated with Corm Rot Disease in Saffron from China. Journal of fungi 17:515. doi: 10.3390/jof8050515.

O'Donnell K, Sutton DA, Rinaldi MG, Sarver BA J, Balajee SA, Schroers H J, Summerbell RC, Robert VARG, Crous PW, Zhang N, Aok T, Jung K, Park J, Lee YH, Kang S, Park B y Geiser DM. 2010. Internet-accessible DNA sequence database for identifying Fusaria from human and animal infections. Journal of Clinical Microbiology 48:3708–3718. https://doi.org/10.1128/JCM.00989-10

Okello PN, Petrovic K, Kontz B y Mathew FM. 2019. Eight species of *Fusarium* cause root rot of corn (*Zea mays* L.) in South Dakota. Plant Health progress 20:38-43. https://doi.org/10.1094/PHP-11-18-0075-RS

Ortega-Sánchez I. 2014. Maíz I (*Zea mays*). Reduca (Biología). Serie Botánica *7*:151–171. https://eprints.ucm.es/id/eprint/27974/1/MAIZ I.pdf

Özer G, Erper I, İmren M, Bozoglu T, Ozdemir F, Dababat AA. 2022. First Report of Crown Rot Caused by *Fusarium algeriense* on Wheat in Kyrgyzstan. Plant Disease. doi: 10.1094/PDIS-01-22-0096-PDN

Paliwal R. 2001. Introduccion al maíz y su importancia. Pp:1-3. *In*: Paliwal RL, Granados G, Lafitte HR, Violic AD y Marathée JP (eds). El maíz en los trópicos, mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma

Parisi L, Couretot L, Hirsch M, Fernández M, Magnone G. 2014. Evaluación de enfermedades foliares, de raíz y tallo en un ensayo comparativo de híbridos de maíz de segunda y su relación con el rendimiento

Perales-Rivera H y Golicher D. 2011. Modelos de distribución para las razas de maíz en México y propuesta de centros de diversidad y de provincias bioculturales. Informa técnico preparado para CONABIO. https://www.biodiversidad.gob.mx/media/1/genes/files/Informe_completo_apendices.pdf (consulta, abril, 2023)

Programa de Maíz del CIMMYT. 2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Cuarta edición. México, D.F.: CIMMYT

Ramírez OA, Gutiérrez EA y Espinoza TLE.2014. Condiciones de la producción del maíz en los municipios de Frontera Comalapa y La Trinitaria, Chiapas. Debate Económico 3:95-118

Rahmawati D, Samrin B y Warda. 2020. Major pests and diseases of maize and availability of control technology. IOP Conference Series: Earth and Environmental science 48:1-9. https://doi.org/10.1088/1755-1315/484/1/012105

Rentería-Martínez ME, Guerra-Camacho MA, Ochoa-Meza A, Moreno-Salazar SF, Meza-Moller AC y Guzmán-Ortíz JM. 2019. Description and comparison among morphotypes of *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* and *F. oxysporum* pathogenic to watermelon in Sonora, México. Revista mexicana de fitopatología 37:16-34. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1808-1

Reverchon F, García-Quiroz W, Guevara-Avendaño E, Solís-García IA, Ferrera-Rodríguez O, y Lorea-Hernández F. 2019. Antifungal potential of Lauraceae rhizobacteria from a tropical montane cloud forest against *Fusarium* spp. Brazilian Journal of Microbiology 50: 583-592

Reyes-Tena A, Rodríguez-Alvarado G, Santillán-Mendoza R, Díaz-Celaya M y Fernández-Pavía SP. 2019. Marchitez causada por *Fusarium solani* en chile chilaca (*Capsicum annuum*) en Michoacán. Revista Mexicana de Fitopatología 37:43-47. doi: 10.18781/r.mex.fit.1904-1

Rivas-Valencia P, Virgen-Vargas J, Rojas Martínez I, Cano Salgado A, Ayala-Escobar V. 2011. Evaluación de pudrición de mazorca de híbridos de maíz en Valles Altos. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 2:845-854.

Sabahi F, Banihashemi Z, Mirtalebi M, Rep M y Cacciola SO. 2023. Molecular Variability of the *Fusarium solani* Species Complex Associated with *Fusarium* Wilt of Melon in Iran. Journal of Fungi 9, 46. https://doi.org/10.3390/jof9040486

SAGARPA, secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2011. Evaluación de pérdidas en el sistema de producto maíz. Secretaria de desarrollo Rural. Gobierno del Estado de Guerrero. http://www.sagarpa.gob.mx/Delegac ion es/gu México. 69 p. Disponible en: errero/Documents/Comit%C3%A9%20T%C3 %A9cnico%20Estatal%20de%20Evaluaci%C3%B3n/Evaluaci%C3%B3n%202 011/INFOR ME%20PERDIDAS%20SP%20MAIZ.pdf

Salazar-González C, Serna-Cock L y Gómez-López E. 2016. Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en pitahaya (*Selenicereus Megalanthus*). Agronomía Mesoamericana 27:77. doi: 10.15517/am. v27i2.21269

Sánchez JJ, Goodman MM y Stuber CW. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. Economic Botany 54:43-59

Sánchez-Ortiz BL, Sánchez-Fernández RE, Duarte G, Lappe-Oliveras y Macías-Rubalcava ML. 2016. Antifungal, anti-oomycete and phytotoxic effects of volatile organic compounds from the endophytic fungus *Xylaria* sp. strain PB3f3 isolated from *Haematoxylon brasiletto.* Journal of Applied Microbiology 120:1313- 1325

Sandoval-Denis M, Swart WJ, Crous PW. 2018. New *Fusarium* species from the Kruger National Park, South Africa. MycoKeys 1:63-92. doi: 10.3897/mycokeys.34.25974

Sandoval-Denis M, Lombard L, Crous P. 2019. Back to the roots: A reappraisal of *Neocosmospora*. Persoonia. 43:90–185. doi: 10.3767/persoonia.2019.43.04.

Santos AC, Trindade JVC, Lima CS, Barbosa RDN, da Costa AF, Tiago PV, de Oliveira NT. 2019. Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. Mycologia 111:244-259. doi: 10.1080/00275514.2019.1573047

Seminis. 2020. Podredumbre de cuello y raíces por *Fusarium*. Bayer Cross Design and Seminis. En línea: https://www.seminislas. com/recursos/guias-deenfermedades/tomates/fusarium-crown-rootrot/ (consulta febrero 2023)

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2022. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/ (Consultado abril 2023)

Singh V, Van Ojos te rom EJ, Jordan DR, Messina CD, Cooper M y Hammer GL. 2010. Morphological and architectural development of root systems in sorghum and maize. Plant and Soil 1-2: 287-299

Simões D, Diogo E y De Andrade E. 2022. First Report of *Fusarium andiyazi* presence in Portuguese Maize Kernels. Agriculture (Switzerland) 12:1-5. https://doi.org/10.3390/agriculture12030336

Sousa ES, Melo MP, Mota JM, Sousa EMJ, Beserra JEA Jr y Matos KS. 2017. First Report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3 + 4) Causing Root Rot in Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Brazil. Plant Disease 101:11.

Tagele SB, Kim SW, Lee HG y Lee YS. 2019. Potential of novel sequence type of *Burkholderia cenocepacia* for biological control of root rot of maize (*Zea mays*

L.) caused by *Fusarium temperatum*. International Journal of Molecular Sciences 20. https://doi.org/10.3390/ijms20051005

Turrent-Fernández A, Cortés-Flores JI, Espinosa-Calderón A, Mejía-Andrade H, Serratos-Hernández JA. 2010. ¿Es ventajosa para México la tecnología actual de maíz transgénico? Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 1:631-646

USDA, United States Department of Agriculture. 2022. Countries by Corn Production. Disponible en: https://www.usda.gov/. Consultado: abril 2023

Varón de Agudelo F, Rodríguez-Chalarca J, Villalobos Saa JC y Villalobos Saa J. 2022. Manual de enfermedades y plagas del maíz (1ª ed.). Latinoamérica Norte: Advanta Seed International. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/359746663_Manual_de_enfermedades_y_plagas_del_maiz

Velarde-Félix S, Valdez-Rubio N, Zamora-Galván F, López-Molina R, Melgoza-Villagómez CM y Garzón-Tiznado JA. 2018. Identificación molecular de *Fusarium* spp. aislados de maíz en Sinaloa, México. Revista mexicana de ciencias agrícolas 9:1675-1689.https://doi.org/10.29312/remexca.v9i8.756

Violic AD. 2001. Manejo integrado de cultivos. Pp: 247-290. *In*: Paliwal RL, Granados G, Lafitte HR, Violic AD y Mrthée JP (eds). El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación. Roma

Wang W, Wang B, Sun X, Qi X, Zhao C, Chang X, Ibrahim Khaskheli M y Gong G. 2021. Symptoms and pathogens diversity of corn *Fusarium* sheath rot in Sichuan

Province China. Scientific Report 11: 2835. https://doi. org/10.1038/s41598-021-82463-2

Warham EJ, Butler LD, Sutton BC. 1996. Seed Testing of Maize and Wheat: A Laboratory Guide. México, DF, CIMMYT

Windels CE. 1992. *Fusarium.* Pp: 15-128. In: Singleton LL,Mihail JD, Rush CM (eds.). Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St Paul, MN, USA.

Xia JW, Sandoval-Denis M, Crous PW, Zhang XG, Lombard L. 2019. Numbers to names restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. Persoonia 43:186-221. doi: 10.3767/persoonia.2019.43.05

Yilmaz N, Sandoval-Denis M, Lombard L, Visagie CM, Wingfield BD, Crous PW. 2021. Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. Persoonia 46:129-162. doi: 10.3767/persoonia.2021.46.05.

Zácamo-Velázquez NY, Ireta-Moreno J, Salinas-Moreno Y, Gómez-Rodríguez VM, Ramírez-Vega H y Mrtínez-Loperena R. 2022. Variabilidad morfológica/patogénica de *Fusarium verticillioides* en la Ciénaga/Chapala, México y evaluación de técnicas de inoculación. Agronomía Mesoamericana 34. https://doi.org/10.15517/am.v34i1.49679

Zhao Y, Fu W, Hu C, Chen G, Xiao Z, Chen Y, Wang Z y Cheng H. 2021. Variation of rhizosphere microbial community in continuous mono-maize seed production. Scientific Reports 11:1-13.https://doi.org/10.1038/s41598-021-81228-1