

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



ETIOLOGÍA, INCIDENCIA Y DAÑOS POR PUDRICIÓN SECA DE AJO (*Allium sativum* L.) EN LA ASCENSIÓN, ARAMBERRI, NUEVO LEÓN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

JESÚS RAFAEL OBREGÓN MEDINA

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

SEPTIEMBRE 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



ETIOLOGÍA, INCIDENCIA Y DAÑOS POR PUDRICIÓN SECA DE AJO (*Allium sativum* L.) EN LA ASCENSIÓN, ARAMBERRI, NUEVO LEÓN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

JESÚS RAFAEL OBREGÓN MEDINA

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

SEPTIEMBRE 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



ETIOLOGÍA, INCIDENCIA Y DAÑOS POR PUDRICIÓN SECA DE AJO (*Allium sativum* L.) EN LA ASCENSIÓN, ARAMBERRI, NUEVO LEÓN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

JESÚS RAFAEL OBREGÓN MEDINA

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

SEPTIEMBRE 2022

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

Comité Particular

---

Dr. Omar Guadalupe Alvarado Gómez  
Director

---

M.C. Jesús Andrés Pedroza Flores  
Co-director

---

M.C. Miguel Ángel García Moreno  
Co-director

---

M.C. Raúl Asael Rodríguez Villarreal  
Asesor Externo

---

Dr. Zahidd Meza Carranco  
Asesor

---

Dra. Juanita Guadalupe Gutiérrez Soto  
Subdirectora de Posgrado e Investigación

## DEDICATORIA

A mi madre, María del Roble Medina Bazaldúa y a mi hermano Francisco Javier Obregón Medina por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida, por su paciencia, así como sus consejos y cariño brindado.

Para mi hermana, Karla Marlen Obregón Medina, y a mis sobrinos Valeria, Cesar y Mayte, por su apoyo y cariño a lo largo de mi vida.

Para mi abuelita Alicia Bazaldua Flores y mi tío Francisco Medina por el apoyo en todo momento.

A mi novia Eva Alicia Carrizales Rodríguez por el apoyo incondicional, motivación y comprensión en esta etapa de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primera instancia quiero agradecer a Dios por permitirme culminar mis estudios de Maestría.

Mi agradecimiento especial al Dr. Omar Guadalupe Alvarado Gómez, por su compromiso, dedicación al presente trabajo, así como a su disposición en todo momento y su paciencia brindada para mí.

Agradezco al Maestro Miguel Ángel García Moreno por su apoyo brindado en campo, su ayuda en los trabajos de laboratorio que contribuyeron a la investigación, así como por su amistad brindada y siempre disposición.

Mi agradecimiento al Maestro Jesús Andrés Pedroza Flores por su apoyo y disposición en la presente investigación, y también por la amistad brindada siempre.

A los maestros Raúl Asael Rodríguez Villarreal y Dr. Zahidd Meza Carranco por su apoyo en la presente investigación.

Para el Maestro Carlos Alberto Hernández Martínez por su apoyo brindado en la investigación y su amistad.

Para todos los maestros que me impartieron clases en la Maestría como al personal administrativo de la Facultad de Agronomía de U.A.N.L.

A todos mis compañeros de posgrado por su amistad y su apoyo en todo momento, sobre todo a mi compañero Daniel Encinia.

También, mi agradecimiento a los productores cooperantes Cesar, Manuel, Luis, Alberto y Rey por siempre tener disposición en el presente trabajo.

Un agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero otorgado.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|  |     |
|--|-----|
| DEDICATORIA .....  | v   |
| AGRADECIMIENTOS .....  | vi  |
| ÍNDICE DE CUADROS .....  | ix  |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....  | x   |
| ÍNDICE DE FIGURAS DEL ÁPENDICE.....  | xii |
| <b>RESUMEN</b> .....   | xiv |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | xv  |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....   | 1   |
| 1.1. Objetivos .....   | 3   |
| 1.2. Hipótesis .....   | 3   |
| <b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....   | 4   |
| 2.1. Origen e importancia del cultivo del ajo en el mundo .....                | 4   |
| 2.2. El cultivo del ajo en México y en Nuevo León.....                         | 7   |
| 2.3. Enfermedades fúngicas en ajo.....   | 10  |
| 2.3.1. Pudrición blanca causada por <i>Sclerotium cepivorum</i> .....          | 11  |
| 2.3.2. Pudrición basal o mancha herrumbre causada por <i>Fusarium</i> spp..... | 13  |
| 2.3.3. Moho azul causado por <i>Penicillium</i> spp.....                       | 15  |
| 2.3.4. Pudrición del tallo por <i>Sclerotium rolfsi</i> .....                  | 16  |
| 2.3.5. Pudrición por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....                     | 17  |
| 2.3.6. Pudrición del cuello causada por <i>Botrytis</i> .....                  | 17  |
| 2.4. Diagnóstico de enfermedades fúngicas en ajo .....                         | 19  |
| 2.4.1. Observación de síntomas .....   | 19  |
| 2.4.2. Diagnóstico por morfología del hongo .....                              | 20  |
| 2.4.3. Reacción en cadena de la polimerasa y secuenciación de ADN .....        | 21  |
| <b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....   | 22  |
| 3.1. Localización del experimento .....  | 22  |
| 3.2. Muestreo y análisis de plantas.....                                       | 22  |
| 3.2.1. Colecta de las muestras .....   | 22  |
| 3.2.2. Aislamiento y purificación de cepas .....                               | 25  |
| 3.2.3 Identificación y caracterización morfológica.....                        | 26  |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.2.4. Identificación molecular.....                        | 27        |
| 3.2.4.1. Extracción de ADN.....                             | 27        |
| 3.2.4.2. Reacciones de PCR.....                             | 27        |
| 3.2.4.3. Electroforesis en geles de agarosa.....            | 28        |
| 3.2.4.4. Secuenciación de ADN y análisis de secuencias..... | 29        |
| 3.3. Prueba de patogenicidad .....                          | 29        |
| 3.4. Estimación de la incidencia y daños .....              | 30        |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                                   | <b>32</b> |
| 4.1. Muestreo de plantas y aislamiento de hongos .....      | 32        |
| 4.2. Caracterización e identificación morfológica .....     | 32        |
| 4.3. Identificación molecular.....                          | 33        |
| 4.4. Prueba de patogenicidad .....                          | 35        |
| 4.5. Incidencia de la enfermedad .....                      | 395       |
| 4.6. Efecto en el rendimiento y sus componentes.....        | 359       |
| <b>5. DISCUSIÓN .....</b>                                   | <b>42</b> |
| <b>6. CONCLUSIONES .....</b>                                | <b>46</b> |
| <b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>                                | <b>47</b> |
| <b>8. APÉNDICE.....</b>                                     | <b>50</b> |



## ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro |   | Página |
|--------|---|--------|
| 1.     | Producción nacional de ajo al 31 de diciembre del año 2020  | 8      |
| 2.     | Ubicación geográfica de las parcelas de ajo muestreadas en La Ascensión, Aramberri, N.L. ....   | 23     |
| 3.     | Comparación con Genbank de las secuencias obtenidas a partir de los productos de PCR en cepas de hongos aisladas de ajo, en la Ascensión, Aramberri N.L. .... | 34     |
| 4.     | Incidencia estimada de la enfermedad pudrición seca del ajo en La Ascensión, Aramberri, N.L. ....   | 36     |
| 5.     | Significancia estadística y comparación de medias de las variables morfológicas entre plantas sanas y enfermas de ajo por predio .....                        | 39     |

## ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura |   | Página |
|--------|---|--------|
| 1.     | Corrientes migratorias que participaron en la distribución de <i>Allium sativum</i> L. desde su centro de origen primario ..... | 4      |
| 2.     | Producción de ajo alrededor del mundo .....   | 6      |
| 3.     | Superficie sembrada del ajo del año 1994 al 2020 .....  | 7      |
| 4.     | Distribución de la producción de ajo por continente .....   | 7      |
| 5.     | Producción y área de cosecha de ajo en México de 1994 al 2020 .   | 9      |
| 6.     | Plantas de ajo infectadas por <i>S. cepivorum</i> , agente causal de la pudrición blanca, y formación de esclerocios .....      | 12     |
| 7.     | Síntomas de una planta infectada por <i>F. oxysporum</i> , y <i>Fusarium</i> spp. desarrollado en un bulbo de ajo .....         | 14     |
| 8.     | Plántula de ajo infectada por <i>Penicillium</i> spp. mostrando el algodoncillo de color verde .....                            | 16     |
| 9.     | Plantas con síntomas típicos de <i>S. rolfsi</i> .....  | 17     |
| 10.    | <i>Botrytis alli</i> en una cabeza de ajo .....   | 18     |
| 11.    | Ubicación geográfica de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....  | 22     |
| 12.    | Ubicación de los predios de ajo muestreados .....   | 24     |
| 13.    | Plantas sintomáticas de ajo recolectadas en parcelas de agricultores cooperantes de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....          | 24     |
| 14.    | Siembra y purificación de cepas a partir de muestras de ajo .....   | 26     |
| 15.    | Prueba de patogenicidad .....   | 30     |
| 16.    | Aislamientos fúngicos obtenidos a partir de las plantas colectadas, y cepas purificadas de los aislamientos obtenidos .....     | 32     |
| 17.    | Vistas superior e inferior de las cepas 2, 4, 6 y 10 .....  | 33     |
| 18.    | Observación de micelio al microscopio compuesto .....   | 33     |
| 19.    | Electroforesis de los productos de PCR-ITS y PCR- $\beta$ -Tubulina del ADN de las cepas de hongos aislados de ajo .....        | 34     |
| 20.    | Prueba de patogenicidad y cepas re-aisladas a partir de plantas de ajo inoculadas .....   | 35     |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 21. | Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 1 ..... | 36 |
| 22. | Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 2 ..... | 37 |
| 23. | Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 3 ..... | 37 |
| 24. | Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total predio 4 .....       | 38 |
| 25. | Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total predio 5 .....       | 38 |

## ÍNDICE DE FIGURAS DEL APÉNDICE

| Figura |  | Página |
|--------|--|--------|
| 1A     | Electroferograma de la región ITS-ADN del aislado 2 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....   | 50     |
| 2A     | Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 2 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....  | 50     |
| 3A     | Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 2 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MN626452.1 del GenBank .....     | 51     |
| 4A     | Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 4 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                     | 51     |
| 5A     | Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 4 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MT466521.1 del GenBank .....  | 52     |
| 6A     | Electroferograma de la región ITS-ADN del aislado 6 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....   | 52     |
| 7A     | Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 6 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....  | 53     |
| 8A     | Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 6 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MT453296.1 del GenBank .....     | 53     |
| 9A     | Electroferograma de la región ITS-ADN del aislado 10 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....   | 54     |
| 10A    | Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 10 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                    | 54     |
| 11A    | Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 10 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MH392760.1 del GenBank ..... | 55     |
| 12A    | Electroferograma de la región $\beta$ -tubulina del aislado 2 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                   | 55     |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 13A | Alineamiento BLAST de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 2 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                     | 56 |
| 14A | Similitud de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 2 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MN451173.1 del GenBank .....     | 56 |
| 15A | Electroferograma de la región $\beta$ -tubulina del aislado 4 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                       | 57 |
| 16A | Alineamiento BLAST de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 4 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                  | 57 |
| 17A | Similitud de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 4 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MT925651.1 del GenBank .....  | 58 |
| 18A | Electroferograma de la región $\beta$ -tubulina del aislado 6 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....  | 58 |
| 19A | Alineamiento BLAST de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 6 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                     | 59 |
| 20A | Similitud de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 6 de <i>F. oxysporum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MH827997.1 del GenBank .....     | 59 |
| 21A | Electroferograma de la región $\beta$ -tubulina del aislado 10 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                      | 60 |
| 22A | Alineamiento BLAST de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 10 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. ....                                 | 60 |
| 23A | Similitud de la secuencia $\beta$ -tubulina del aislado 10 de <i>F. proliferatum</i> de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MT925651.1 del GenBank ..... | 61 |

## RESUMEN

El cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) es de importancia económica y social en el sur de Nuevo León. Debido a la observación de síntomas en el campo como un menor desarrollo y secado prematuro de hojas, detención del crecimiento y pudrición del bulbo incluso la muerte de plantas, y ante el desconocimiento del agente causal y los daños potenciales en su productividad, se realizó la presente investigación con el objetivo de identificar el patógeno responsable de la enfermedad, estimar su incidencia y evaluar sus daños. Se recolectaron plantas de ajo sintomáticas en cinco parcelas de productores cooperantes, y se realizaron aislamientos y purificación de hongos en medio de cultivo PDA, los cuales fueron caracterizados morfológica y molecularmente mediante la amplificación por PCR y su posterior secuenciación de las regiones espaciadoras intergénicas (ITS) y del gen  $\beta$ -tubulina. Se logró el aislamiento de 65 cepas de las diferentes parcelas, quedándonos al final solamente con cuatro aislamientos. De acuerdo con la caracterización morfológica y molecular de los aislamientos, se identificó a *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum* como causantes de la enfermedad. Se estimó la incidencia relativa de la enfermedad en el 72% de la superficie dañada, promedio de los cinco lotes; y la incidencia absoluta desde 0.42 hasta 4.47% de la superficie total. En la prueba de patogenicidad, los primeros síntomas se observaron a los 13 días de ser inoculadas las plantas con las dos especies, identificándose de manera visual y morfológica a *F. oxysporum*. Se detectaron diferencias estadísticas significativas entre plantas sanas y enfermas en la mayoría de las variables morfológicas de las plantas incluyendo el rendimiento. Se estimó que el peso fresco de los bulbos se redujo un 2.36% debido a la enfermedad en la superficie total estudiada.

## ABSTRACT

The cultivation of garlic (*Allium sativum* L.) is of economic and social importance in the south of Nuevo León. Due to the observation of field symptoms of premature drying of leaves with less development, growth arrest and rotting of the bulb, even causing the death of garlic plants, and due to the lack of knowledge of the causal agent and potential damages in the productivity, this research was carried out to identify the pathogen responsible for the disease, estimate its incidence, and evaluate its damage. Symptomatic garlic plants were collected in five plots of cooperating producers, and isolations and purification of fungi were carried out in PDA culture medium, which were morphologically and molecularly characterized by PCR amplification and subsequent sequencing of intergenic spacer regions (ITS) and of the  $\beta$ -tubulin gene. The isolation of 65 strains from the different plots was achieved, and according to the morphological characterization of the colonies and the DNA sequences, *Fusarium oxysporum* and *F. proliferatum* were identified as responsible for the disease. The relative incidence of the disease was estimated in 72% of the damaged area average of the 5 plots, and absolute incidence was from 0.42 to 4.47% of the total area studied. Relative to pathogenicity test, the symptoms began 13 days after inoculation, and we recovered the fungus *F. oxysporum*. There were statistical differences between health and sick plants in most of the morphological features of the plants including yield. Fresh weight of the bulbs was reduced in 2.36% in the total studied area due to the disease.

## 1. INTRODUCCIÓN

El ajo (*Allium sativum* L.) pertenece a la familia de las Alliáceas en la taxonomía moderna. Se cree que es originario del antiguo Turkestàn, en los límites con China, Afganistán, e Irán (hoy Turkmenistán, Kirguistán Kazajstàn, Tayikistán y Uzbekistán), desde donde se distribuyó hacia el este a China e India, y hacia el oeste, al norte del Continente Europeo, y a las costas del Mar Mediterráneo, dando lugar a los diversos cultivares que hoy se conocen (Burba, 2003).

En el año 2020 la producción obtenida de ajo en el mundo fue de 28.05 millones de toneladas (ton), con una superficie cosechada de 1.63 millones de hectáreas (ha), por lo que el rendimiento promedio mundial fue de 17.2 ton ha<sup>-1</sup>. China es el principal productor de ajo a nivel mundial seguido por Bangladesh (FAOSTAT, 2022). México ocupa el lugar 18º con siembras de más de 6,783 ha al año. Se cultiva en 21 entidades del país, los principales estados productores son Zacatecas, Guanajuato, Puebla, Baja California y Sonora, estados que aportan el 87.1 % de la producción nacional, otras entidades que también producen este alimento son Veracruz, Aguascalientes, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, Durango y San Luis Potosí. La producción nacional de ajo creció 4.3 % al cierre del año 2020 comparado con el año anterior, con un volumen de 86 mil 500 ton, lo que ha permitido al país ubicarse como el noveno exportador mundial de esta hortaliza, para el 2022 creció 5.12 % a comparación del 2020 (SIAP, 2022).

Esta hortaliza es un cultivo importante para el sur del estado de Nuevo León, ya que en los ciclos agrícolas 2019-2020, 2020-2021 y 2021-2022, se sembraron 344, 298 y 429 has respectivamente, y en la comunidad de La Ascensión, Aramberri se sembró el 90 %, 100 % y 93 % respectivamente con una significativa captación económica que aportó el producto cosechado, así como por la cantidad de mano de obra que se emplea para su cultivo, cosecha y empaque (SIAP, 2022).

El constante crecimiento de la población y por ende el crecimiento de la demanda de productos alimenticios, tanto en volumen como en calidad, sin duda constituye un reto para la producción agropecuaria. Además, los sistemas de



producción enfrentan el reto de usar procesos productivos cada vez más eficientes, de tal manera que se garantice la rentabilidad, competitividad y sostenibilidad de las cadenas productivas (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

Las enfermedades constituyen uno de los factores de mayor riesgo para la producción de las hortalizas. En años anteriores, las enfermedades fungosas han ocasionado fuertes pérdidas económicas en la producción de diferentes especies hortícolas en México y en el mundo (Fisher *et al.*, 2012).

Entre las principales enfermedades de origen fúngico que causan daños de importancia económica al cultivo de ajo se destacan la pudrición blanca ocasionada por *Sclerotium cepivorum* Berk, sin embargo, también se presentan otras enfermedades similares causadas por diferentes agentes causales como: *Botrytis* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. (Delgado-Ortíz *et al.*, 2016).

En los tres ciclos inmediatos anteriores del cultivo de ajo (2017-2020), se observaron en diferentes parcelas en “La Ascensión”, Aramberri, N. L., plantas con síntomas consistentes en hojas amarillentas desde el ápice en forma descendente comenzando en las hojas de mayor edad y continuando con las más jóvenes, en las que se tuvo menor crecimiento y desarrollo, además de pudrición del bulbo y muerte de las plantas. Para tratar de contrarrestar esta problemática, los productores han aplicado diferentes agroquímicos como insecticidas y funguicidas, los cuales no han sido eficientes para la erradicación del problema que a la fecha se sigue observando, llegando a presentar pérdidas importantes en el rendimiento de sus cosechas como en la disminución de calidad del producto final para su venta al mercado, además de elevar los costos de producción.

Considerando la falta de información sobre esta enfermedad y el impacto socioeconómico potencial en la región de “La Ascensión”, Aramberri, N. L., se planteó el presente proyecto.

## **1.1. Objetivos**

El objetivo general de esta investigación fue identificar el organismo causal de la pudrición de bulbos y secado de hojas, estimar la incidencia y los daños que esta enfermedad ocasionan en el ajo cultivado en La Ascensión, Aramberri, N.L.

## **1.2. Hipótesis**

La enfermedad pudrición seca de bulbo y secado de hojas en plantas de ajo es causada por un hongo, que está presente en “La Ascensión”, Aramberri, N.L., con diferentes niveles de incidencia, el cual puede ser identificado a nivel de especie y estimar sus efectos en el rendimiento y sus componentes.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Origen e importancia del cultivo del ajo en el mundo

No se sabe con exactitud cuándo fue descubierto el ajo por el hombre, De Candolle en su libro “Origen de las Plantas Cultivadas” afirma que posiblemente las tribus nómadas difundieron su uso hace miles de años las cuales lo llevaron de Asia Menor a Egipto y de allí a Mesopotamia, La India y Europa (Figura 1). En el siglo VIII A.C. el ajo crecía en el jardín del rey de Babilonia y es mencionado por los eruditos chinos en las escrituras en sánscrito en el año 3000 A.C. Los sumerios incluían al ajo en su dieta como un ingrediente básico hacia el año 4000 A.C., es mencionado en el Shih Ching (Libro poético) escrito en la época de Confucio en China. Los antiguos egipcios le rendían adoración como un Dios siendo su nombre invocado a menudo en los juramentos oficiales, se llegó a utilizar para comprar esclavos pagando cerca de 5 Kg para comprar un esclavo sano (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

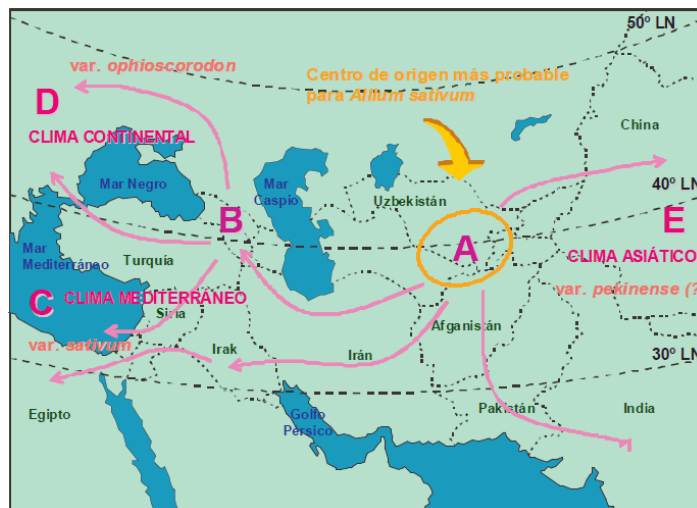


Figura 1. Corrientes migratorias que participaron en la distribución de *Allium sativum* L. desde su centro de origen primario A, B, C, D y E son considerados centros de origen secundarios (Tomado de Burba, 2008).

El ajo generalmente se vende como un bulbo compuesto, además de usarse en su forma fresca, el ajo también se procesa en numerosos productos deshidratados y

se puede hacer puré o congelado. Una parte de la producción de cada año también se utiliza como semilla para siembra, destaca por su olor áspero y picante, que es causado por compuestos orgánicos de azufre. Los usos del ajo tienen una gran variación, hoy en día es una hortaliza que se valora más por su sabor característico ya que se usa en una amplia variedad de alimentos como condimento y su principal uso es como saborizante en la cocina (Boriss, 2006; Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

Según diversos autores, el ajo contiene compuestos químicos que poseen propiedades antibacterianas, que han desempeñado un papel en la medicina popular desde tiempos inmemoriales (Koch, 1993; Zeep *et al.*, 1996). Se le atribuyen efectos curativos relacionados desde tiempos ancestrales con un sin número de enfermedades en las que se ha probado su eficiencia desde el punto de vista empírico y científico, como antiséptico, como estimulante, en el tratamiento de la presión arterial y otras enfermedades cardiovasculares; ha sido usado como antibiótico, antioxidante, reductor de colesterol y triglicéridos, en la prevención del cáncer de estómago y colon, también se le atribuye propiedades preventivas en el caso de enfermedades coronarias anticoagulantes, y con éxito en infecciones de la piel. También se ha usado en el tratamiento de alergias, bronquitis, diabetes mellitus, llegándose a considerar un elemento “curalotodo”, los beneficios del ajo que lo han caracterizado como un producto útil para el tratamiento de múltiples problemas de salud humana se le atribuyen a que contienen alicina, sustancia también responsable en parte al olor y sabor característico del ajo (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

El bulbo del ajo está compuesto de varios bulbillos o dientes unidos en su base que se forman en las axilas de las hojas en número de seis o siete en adelante, por lo que se le consideran hojas transformadas que sirven para almacenar reservas de la planta; los bulbillos son envueltos de manera individual por túnicas interiores, mientras que el bulbo completo es envuelto por túnicas exteriores transparentes membranosas de coloraciones que van del blanco al rojizo o púrpura y que se forman en el interior de las hojas envainadas (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

El ajo ha sido cultivado desde hace miles de años, se produce en mas de 100 Países alrededor del mundo, el principal productor lo encontramos en China con una siembra de 825,305 ha alcanzado un rendimiento en promedio de 25.096 ton ha<sup>-1</sup> logrando una producción de 20.71 millones de ton; seguido por India con producción de 2.91 millones de ton con siembras de 363,000 ha; en tercer lugar destaca Bangladesh con 485 mil ton, cosechadas en 73,564 ha (Figura 2, FAOSTAT, 2022).

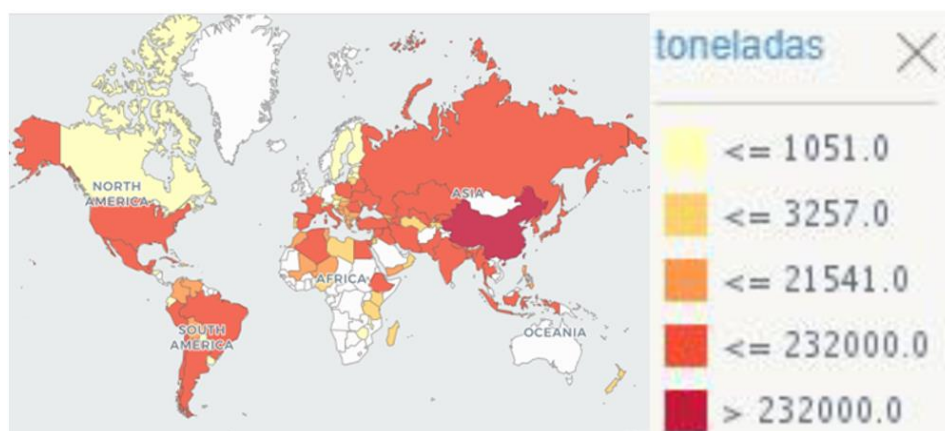


Figura 2. Producción de ajo alrededor del mundo (FAOSTAT, 2022).

Desde el año 1994 hasta el 2020 se observó un crecimiento paulatino en la superficie de siembra como en producción, a partir del 2007 a la fecha se observa un crecimiento en mayor proporción, se concentra la mayor producción en el continente asiático, seguido por el europeo y en tercer lugar el americano donde se encuentra México (Figuras 3 y 4).

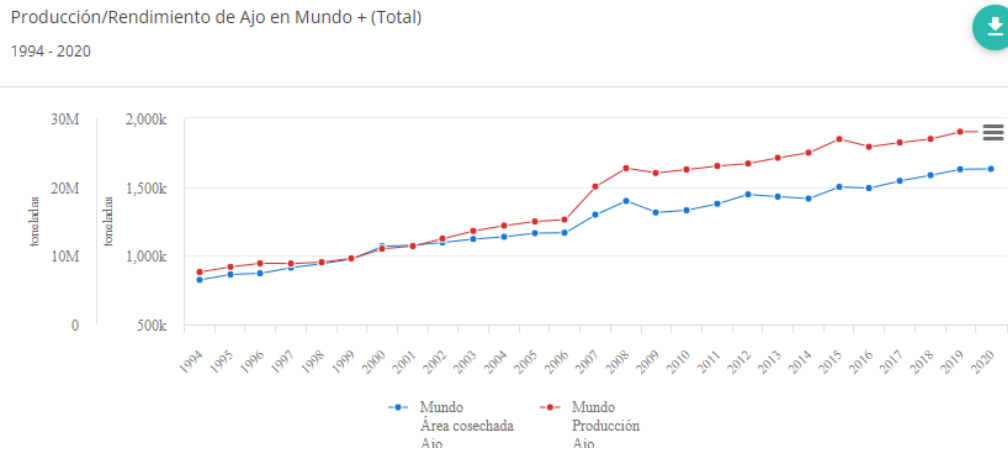


Figura 3. Superficie sembrada del ajo del año 1994 al 2020 (FAOSTAT, 2022).

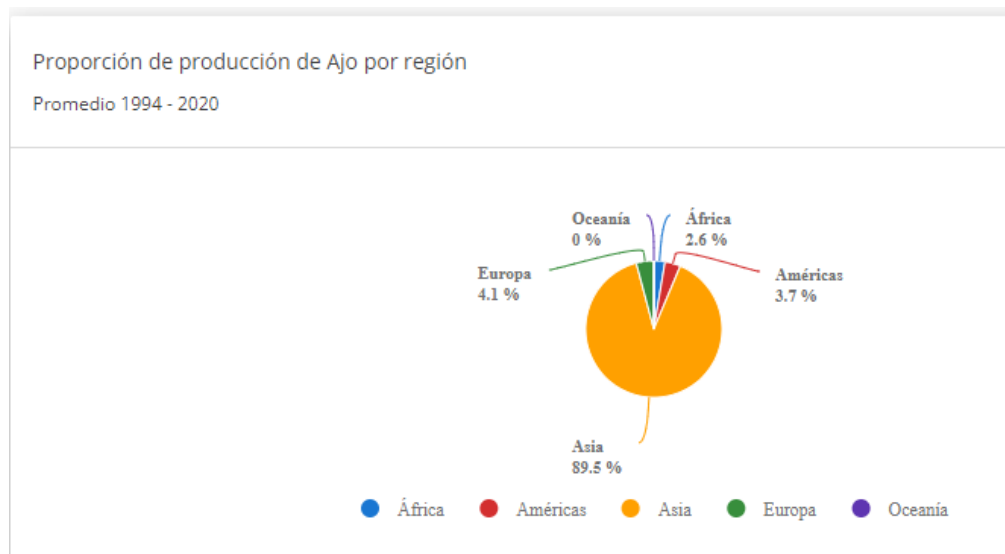


Figura 4. Distribución de la producción de ajo por continente (FAOSTAT, 2022).

## 2.2. El cultivo del ajo en México y en Nuevo León

México ocupa el lugar 18º con siembras de ajo de más de 6,783 ha al año. Se trata de una de las hortalizas más rentable a nivel nacional, que se cultiva en 17 entidades del país, los principales estados productores son Zacatecas, Guanajuato, Puebla, Baja California y Sonora, estados que aportan el 87.1 % de la producción nacional, otras entidades que también producen este alimento son, Aguascalientes,

Nuevo León, Oaxaca, Durango, San Luis Potosí, entre otras. La producción nacional de ajo creció 4.3 % al cierre de 2020, comparado con el año anterior, con una producción de 81,890 ton, lo que ha permitido al país ubicarse como el noveno exportador mundial de esta hortaliza (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción nacional de ajo al 31 de diciembre del año 2020 (SIAP, 2022).

| <b>Estado</b>       | <b>Superficie<br/>(ha)</b> | <b>Producción<br/>(ton)</b> | <b>Rendimiento<br/>(ton/ha)</b> |
|---------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Aguascalientes      | 201                        | 3,048                       | 15.165                          |
| Baja California     | 144                        | 1,596                       | 11.081                          |
| Baja California Sur | 16                         | 218                         | 13.446                          |
| Coahuila            | 5                          | 19                          | 4.75                            |
| Chihuahua           | 26                         | 338                         | 12.766                          |
| Guanajuato          | 1,034                      | 12,853                      | 12.437                          |
| Guerrero            | 5                          | 20                          | 3.97                            |
| Jalisco             | 20                         | 286                         | 14.65                           |
| Michoacán           | 3                          | 27                          | 8.329                           |
| Nuevo León          | 344                        | 3,044                       | 8.861                           |
| Oaxaca              | 195                        | 1,485                       | 7.601                           |
| Puebla              | 600                        | 5,070                       | 8.449                           |
| Querétaro           | 84                         | 507                         | 5.997                           |
| San Luis Potosí     | 69                         | 582                         | 8.436                           |
| Sonora              | 641                        | 4,301                       | 7.504                           |
| Tlaxcala            | 43                         | 159                         | 6.376                           |
| Zacatecas           | 3,032                      | 48,336                      | 15.942                          |
| <b>Total</b>        | <b>6,463</b>               | <b>81,890</b>               | <b>12.844</b>                   |

Desde el año 2002 a la fecha se ha observado un crecimiento importante en la siembra y cosecha de ajo como se observa en la Figura 5, manteniéndose constante en los años siguientes.

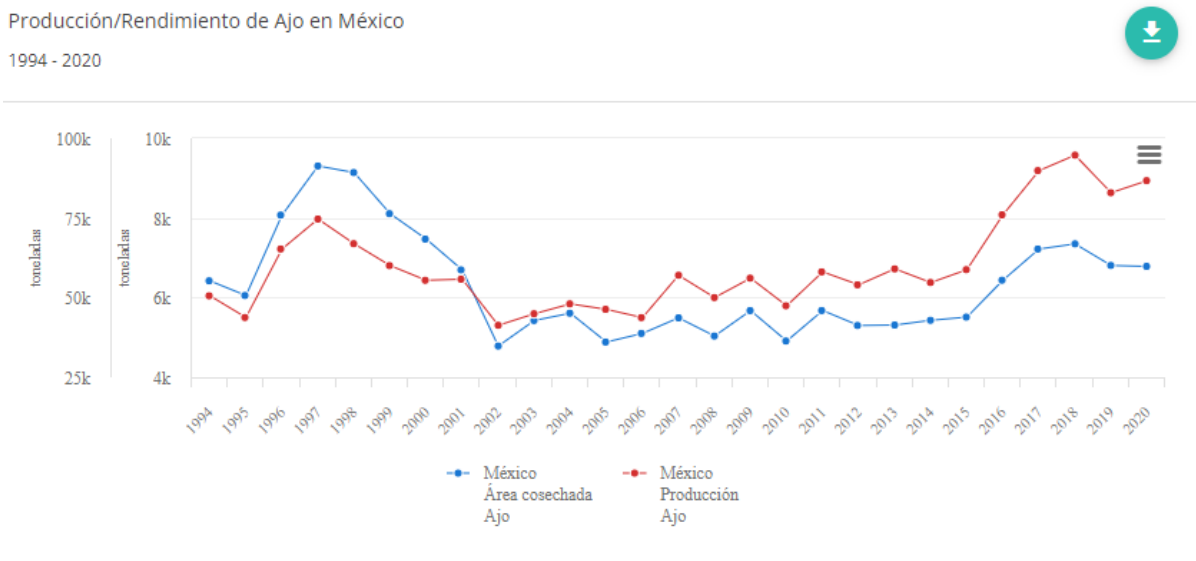


Figura 5. Producción y área de cosecha de ajo en México de 1994 al 2020 (FAOSTAT, 2022).

En Nuevo León se sembraron cerca de 344 has en el ciclo 2019-2020, con una producción de 3,044 ton con un rendimiento promedio de 8.8 ton ha<sup>-1</sup>, ocupando el 5º lugar en la producción nacional (SIAP, 2022).

Esta hortaliza es un cultivo importante para el sur del estado de Nuevo León, ya que el 90 % de las 344 ha sembradas en el ciclo 2019-2020, se realizaron en la comunidad de “La Ascensión” en Aramberri, N.L. con una significativa captación económica que aportó el producto cosechado, así como por la cantidad de mano de obra que se emplea para su cultivo, cosecha y empaque (SEDAGRO, 2020).

La cosecha de ajo es una de las principales actividades en la región, existen más de 150 productores de ajo, el cual es producido para consumo y producción de semilla, los productores han encontrado una oportunidad productiva, competitiva y de negocio en el sector. En el año de 1998 el Ing. Fermín Montes Cavazos en coordinación con el Ing. Adalberto Heredia Zepeda realizaron experimentos con distintos tipos de semilla de ajo desarrollando las variedades de “Don Fermín” y “Tigre”, en el Campo Experimental de La Ascensión de la Facultad de Agronomía de la U.A.N.L.



en Aramberri, Nuevo León. Por el año 2002 se sembraron 6 ha de este cultivo con riego por aspersión en los predios del Ejido Tía Juana, donde participaron por primera vez el Ing. Fermín Montes Cavazos y algunos productores de La Ascensión como José Luis Martínez Ramos, Ramiro Martínez Álvarez, Taurino Martínez Ramos, Valente Gómez Rodríguez, José de la Rosa Flores, Rodolfo Romo González, Mario Martínez, Francisco Carranza Galván y Eugenio Carranza Alcocer, entre otros; de la producción obtenida la mayoría se utilizó como semilla para el siguiente ciclo de siembra. En el año 2003 se empezó la comercialización de este producto integrándose más productores, ya con el sistema de riego por goteo el cual les dió mejores resultados, obteniendo un rendimiento de 8 a 10 ton ha<sup>-1</sup> (comunicación personal Valente Gómez Rodríguez, Abel Encinia Sandoval).

Las variedades que se siembran en la mayor parte de Nuevo León son Tigre y Don Fermín; éstas tienen características similares, los bulbos tienen hojas verdes cenizo semi erectas, su inflorescencia es morada, producen hasta 18 bulbillos por bulbo con un promedio de 13. Una de las diferencias entre ambas variedades consiste en que la variedad Don Fermín es más precoz, y se cosecha dos semanas antes que Tigre. Otras dos variedades sembradas en menor proporción son California y Criollo las cuales se desconoce su origen y su morfología precisa, pero la primera manifiesta bulbos con deformidades, la planta no presenta vástago y tarda un mes más en cosecharse; y la segunda tiene inflorescencia morada, no presenta vástago y se cosecha un mes antes que Tigre (Aguilar-Rocha, 2019).

### **2.3. Enfermedades fúngicas en ajo**

Las enfermedades producidas por microorganismos fitopatógenos, tales como bacterias, nematodos u hongos, constituyen la mayor causa de pérdida en la producción agrícola, tanto en cosecha como en postcosecha. Dentro de los distintos fitopatógenos, los hongos constituyen uno de los principales grupos tanto por la diversidad de especies existentes como por las pérdidas que originan (Fisher *et al.*, 2012).

A nivel mundial se han reportado 11 géneros y 18 especies de hongos asociados con la pudrición de bulbos de ajo (Velásquez-Valle *et al.*, 2018). Entre las principales enfermedades de origen fúngico que causan daños de importancia económica al cultivo se destacan la pudrición blanca ocasionada por *Sclerotium cepivorum* Berk, sin embargo, también se presentan otras enfermedades similares causadas por diferentes agentes causales como: *Botrytis* spp., *Sclerotium rolsfii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. (Delgado-Ortíz *et al.*, 2016).

### **2.3.1. Pudrición blanca causada por *Sclerotium cepivorum***

Esta enfermedad constituye el problema sanitario más importante de este cultivo, ya que en áreas con alta incidencia llega a causar la pérdida de hasta el 80% de la producción. La pudrición blanca se presenta en la mayoría de las zonas productoras de ajo del país. Es causada por el hongo *Sclerotium cepivorum* Berk. y puede presentarse también en cultivos afines como la cebolla, el poro, el ajo chalote y el cebollín (Velásquez-Valle y Medina-Aguilar, 2004a).

Desde su detección en Aguascalientes y Zacatecas, la pudrición blanca del ajo (*Allium sativum* L.) y la cebolla (*Allium cepa* L.), ha sido una constante preocupación entre los productores de hortalizas. Las plantas de ajo afectadas por la enfermedad presentan amarillamiento inicial en las hojas basales, marchitamiento y finalmente, necrosis del follaje. Sobre el bulbo de las plantas muertas se forman grandes cantidades de esclerocios, que constituyen las formas reproductivas de este patógeno, y mantienen la sobrevivencia del hongo en el suelo en ausencia del hospedero por períodos de 2 a 20 años (Velásquez-Valle y Medina-Aguilar, 2004a).

La enfermedad se caracteriza por mostrar un moho blanco alrededor y encima del bulbo, ocasionalmente sobre raíces y cuello de las plantas, que después de cierto tiempo, aparecen pequeñas esferas, negras y rugosas, de alrededor de 0.3 a 0.55 mm de diámetro (Figura 6). Estas esferas son las estructuras de resistencia y diseminación del hongo, son llamadas esclerocios, las cuales le sirven para diseminarse dentro de una parcela, a grandes distancias y a través de varios ciclos de cultivo. Los esclerocios

tienen la función de garantizar la sobrevivencia del hongo por largos periodos de hasta 10 años o más, aún en ausencia de los cultivos como ajo y cebolla que producen compuestos volátiles y solubles en agua, que estimulan la germinación de estas estructuras, aunque estén a 10 cm de distancia. Las condiciones óptimas para la germinación de éstos son temperaturas entre 14 y 18 °C, siempre que se tengan bajos contenidos de humedad en el suelo, cercanos a 15 %. El desarrollo óptimo de la enfermedad se asocia con temperaturas entre 17 y 20 °C, las cuales son comunes en Zacatecas entre diciembre y marzo (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

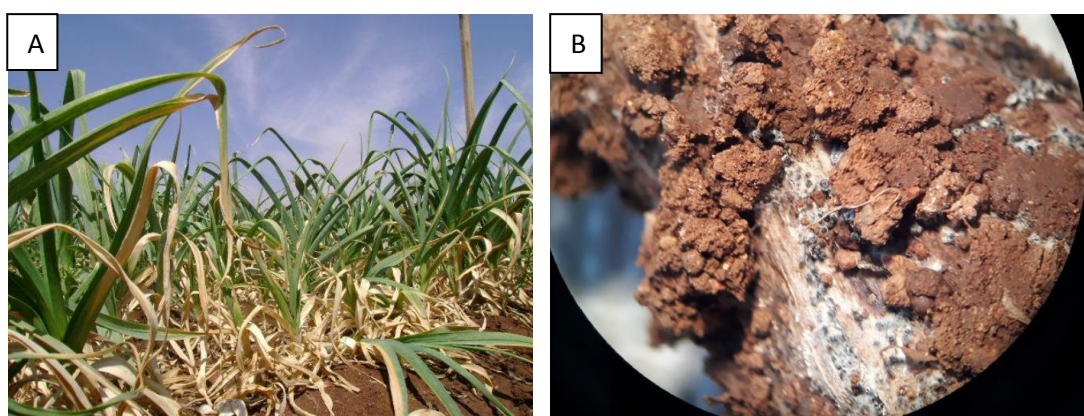


Figura 6. A. Plantas de ajo infectadas por *S. cepivorum*, agente causal de la pudrición blanca, B. Formación de esclerocios (esferas negras) (Tomado de Velásquez-Valle *et al.*, 2018).

El principal impacto de esta enfermedad se observa en campo donde puede provocar la muerte de un número variable de plantas de ajo que pueden liberar un gran número de esclerocios en el suelo y que, potencialmente constituyen una fuente de contaminación para los bulbos sanos al momento de la cosecha. Los bulbos contaminados que son seleccionados para semilla pueden llevar los esclerocios del hongo en el suelo adherido a la raíz o entre las catáfilas de los bulbos; por consecuencia, bulbillos extraídos de estos bulbos al ser plantados e iniciar su proceso de germinación estimularán a los esclerocios que a su vez germinaran y serían capaces de infectar rápidamente las plántulas de ajo y ocasionar su muerte. Como una medida elemental de manejo de esta enfermedad se recomienda no seleccionar

bulbos para semilla en parcelas con manchones de plantas enfermas o muertas por pudrición blanca (Velásquez-Valle *et al.*, 2018).

Algunas recomendaciones generales son las siguientes: a) Se deberá usar solo semilla sana, b) Que cada productor de ajo produzca su semilla, c) Analizar la semilla en un laboratorio para detectar infestaciones severas de pudrición blanca u otros patógenos, d) “Curar” o tratar la semilla de ajo se sugiere emplear el fungicida Tebuconazole en dosis de 0.5 a 0.75 litros por cada 100 litros de agua; sumergiendo y cubriendo bien la semilla, e) Se deberá evitar la contaminación entre parcelas por el movimiento de maquinaria y herramienta de parcelas infestadas hacia las parcelas sanas, f) Es recomendable el empleo de un tapete fitosanitario a base de costales o esponja, el cual debe estar húmedo con una solución de cloro (6 %) y por donde todos los trabajadores deberán caminar para mojar su calzado al entrar o salir de una parcela infestada con pudrición blanca, para evitar la diseminación de esclerocios del patógeno (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

### **2.3.2. Pudrición basal o mancha herrumbre causada por *Fusarium spp***

La pudrición basal o mancha herrumbre se encuentra muy difundida donde se cultivan Aliáceas en general. Es una enfermedad que afecta tanto al ajo como a la cebolla y otras especies. En ajo provoca pérdidas considerables en cultivo y almacenamiento. Los organismos causales: *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum*, los cuales tienen tres formas de multiplicación: a través de macroconidios, microconidios y clamidosporas. Los microconidios, que son de forma esférica, se producen entre las hojas envolventes artificiales. Los macroconidios se forman *in vitro* sobre esporodoquios o pionotes; siendo fusiformes y septados (3 a 4 septas normalmente). Las clamidosporas se forman de las hifas o macroconidios, pudiendo ser terminales o intercalares en el primer caso (Piccolo, 2007).

Las plantas de ajo afectadas en el campo por este hongo manifiestan un amarillamiento y/o necrosis en la punta de las hojas que eventualmente puede avanzar hacia la base, adicionalmente pueden mostrar enanismo y raíces de coloración café a rojiza (Piccolo, 2007; Velásquez-Valle *et al.*, 2004b). El hongo puede causar la

podrición de la semilla, así como los primeros síntomas en plantas adultas se observan como deformación, amarillamiento y necrosis de las hojas (Figura 7). En las raíces de las plantas afectadas se observa una coloración café oscuro a rojiza. El hongo puede ser transportado por partículas de suelo, el agua excedente de riego y muy especialmente, por medio de la semilla (Reveles *et al.*, 2009).

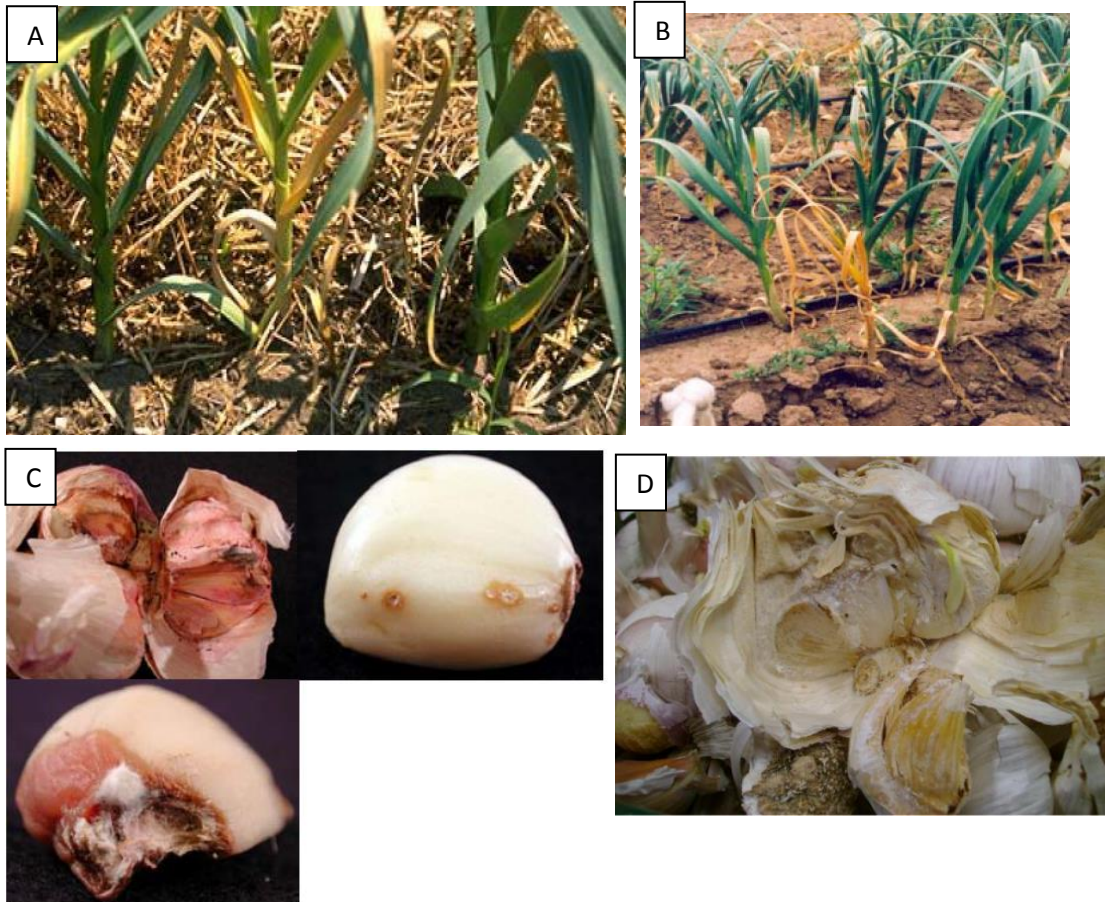


Figura 7. A y B. Síntomas de una planta infectada por *F. oxysporum*, C y D. *Fusarium* spp. desarrollado en un bulbo de ajo (Tomado de Piccolo, 2007; Reveles-Hernández *et al.*, 2009; y Velásquez-Valle *et al.*, 2018).

En estos casos, la semilla debe ser tratada con fungicidas como Benomyl, Thiabendazol o Tebuconazole. No se recomienda sembrar ajo en aquellas parcelas donde el cultivo anterior fue un cereal como maíz forrajero o donde la parcela recibió una alta dosis de fertilización orgánica (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

El primer reporte de *Fusarium proliferatum* en semilla de ajo en México se hizo en Aguascalientes en el año 2012 (Ochoa-Fuentes *et al.*, 2012). Un año después, en España, Patón *et al.* (2013) también encontraron que la pudrición de bulbos de ajo era causada por *F. proliferatum*, y que después de dos meses de almacenamiento a 20°C aumentó la severidad de la pudrición de bulbos; además, se reportó que los bulbos de tipo blanco resultaron más dañados que los de tipo morado.

En Aguascalientes se han identificado varias especies de este hongo, entre las que destacan *F. proliferatum*, *F. verticilloides*, *F. solani* y *F. acuminatum* (Delgado-Ortíz *et al.*, 2016).

### **2.3.3. Moho azul causado por *Penicillium* spp.**

El moho azul es una de las enfermedades relevantes para el cultivo del ajo. Fue detectada en Chile en 1983 y es causada por el hongo *Penicillium hirsutum*, Dierckx (*Penicillium corymbiferum*, Westling). Esta enfermedad puede producir disminuciones de rendimiento de hasta un 70% como originar una reducción de la germinación de la semilla del ajo, así como clorosis y debilidad en plantas emergidas. El hongo se puede presentar en las diferentes etapas del cultivo y también en almacenamiento. Después de la plantación, la enfermedad se manifiesta en forma de pudrición, por lo que algunas de las plantas no llegan a emerger, mientras que las que lo logran, muestran amarillez generalizada, escaso desarrollo y marchitez, la característica distintiva de la enfermedad es el desarrollo de un algodoncillo de color verde–azul sobre el diente o sus restos (Figura 8), los síntomas se hacen notorios alrededor de los 60 días después de la plantación. Finalmente, una parte de estas plantas muere, mientras que otras ven disminuido su rendimiento (Velásquez-Valle *et al.*, 2004b; Reveles-Hernández *et al.*, 2009; y Sepúlveda *et al.*, 2020).





Figura 8. Plántula de ajo infectada por *Penicillium* sp. mostrando el algodoncillo de color verde (Tomado de Velasquez-Valle *et al.*, 2018).

La principal fuente de dispersión de este hongo la constituye la propia semilla. La enfermedad es más severa bajo condiciones de alta humedad en el suelo, bajas temperaturas, presencia de lloviznas o rocío y siembras tardías. El ataque puede prolongarse durante el periodo de almacenamiento, un estudio realizado en Argentina identificó seis especies de *Penicillium* aunque en más del 80 % de las muestras examinadas se recuperó a la especie *P. allii* (Valdez *et al.*, 2009).

Como medida preventiva, la semilla puede ser tratada con fungicidas como Benomyl o Thiabendazole, ambos en dosis de 0.5 Kg por tonelada de semilla procurando que la semilla permanezca sumergida en la mezcla de agua y fungicida por espacio de 20 min. En otras áreas productoras de ajo se ha sugerido el empleo de Tebuconazole en dosis de 200 cc por cada 100 litros de agua permitiendo un tiempo de inmersión de semilla por dos horas (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

#### **2.3.4. Pudrición del tallo por *Sclerotium rolfsi***

La pudrición del tallo es causada por el hongo *Sclerotium rolfsi* que también forma esclerocios capaces de resistir en el suelo por largos periodos; puede afectar un gran número de plantas cultivadas en Zacatecas como frijol, calabaza, pepino, jitomate, etc. El follaje de las plantas afectadas por el hongo muestra una coloración

café, las raíces son destruidas y el bulbo se ve envuelto en un algodoncillo grueso donde llegan a formarse esclerocios (Reveles-Hernández *et al.*, 2009).

Recientemente, Kwon (2010) reportó la pudrición del tallo de ajo causada por el hongo *S. rolfsi*, en Corea. Los síntomas iniciales de la enfermedad fueron manchas típicas empapadas de agua, que progresaron hasta pudrirse, marchitarse, y finalmente la muerte (Figura 9). La enfermedad está muy extendida y causa grandes pérdidas económicas. Causa daño directo a los cultivos y conduce al estrés de las plantas. Las pérdidas de ajo y cebolla pueden llegar al 65 % en países de clima templado, como Reino Unido y Canadá, mientras que las pérdidas pueden llegar al 100 % en países con clima tropical, como Brasil y México (Cavalcanti *et al.*, 2018).



Figura 9. Plantas con síntomas típicos de *S. rolfsi* (Tomado de Kwon, 2010).

### 2.3.5. Pudrición por *Sclerotinia sclerotiorum*

*Sclerotinia sclerotiorum* (lib), es un hongo que afecta al bulbo del ajo en cualquier etapa de su desarrollo, se encuentra ampliamente distribuida y produce esclerocios grandes, globosos a cilíndricos con una corteza externa negra y el interior blanco, y no se agrupan (Piccolo, 2007).

### 2.3.6. Pudrición del cuello causada por *Botrytis*

Esta enfermedad se encuentra difundida en casi todas las áreas del mundo donde se cultiva el ajo y la cebolla. La podredumbre del cuello ocurre primariamente en bulbos almacenados. Los bulbos desarrollan una pudrición acuosa comenzando



desde la zona del cuello, la que se mueve hacia abajo, atacando todo el bulbo (Figura 10). Los tejidos de las catáfilas se ablandan y se transforman acuosos y translúcidos, aparece un micelio blanco a gris entre las catáfilas (moho). Se pueden formar esclerocios en las catáfilas externas y en los hombros del cuello; además, se puede apreciar un moho grisáceo en el exterior del cuello y los hombros del bulbo, los agentes causales de la enfermedad son *Botrytis allii* Munny y *Botrytis porrii* (Piccolo, 2007).

El hongo posee micelio septado, ramificado y hialino cuando es joven. Los conidios cuando están en masa toman una apariencia algodonosa de color gris. El tamaño de los mismos está comprendido entre los 4-8 x 6-16  $\mu\text{m}$  pero con mayor frecuencia entre 5-6 x 7-11  $\mu\text{m}$ ; de forma ovoides y hialinos, están sobre conidióforos ramificados en las puntas. Generalmente, forman esclerocios de forma elongada e irregular sobre la zona de los hombros del cuello. Alcanzan un tamaño de hasta 10 mm de largo. El hongo sobrevive durante el invierno como esclerocio sobre bulbos podridos o directamente en forma libre sobre el suelo. Esta enfermedad se transmite por semilla (Piccolo, 2007).



Figura 10. *Botrytis allii* en una cabeza de ajo. Se puede ver el micelio gris o moho y los esclerocios del hongo irrumpentes en las catáfilas del bulbo (tomado de Piccolo, 2007).

## **2.4. Diagnóstico de enfermedades fúngicas en ajo**

Una gran parte de las enfermedades reportadas que afectan a los cultivos con importancia económica son causada por hongos por lo que es necesario recordar algunos aspectos básicos acerca de estos patógenos (Velásquez-Valle *et al.*, 2017), por ello es determinante tener un diagnóstico adecuado de la enfermedad para determinar el control efectivo, en un principio el diagnóstico se realizaba de manera visual, después con la invención del microscopio se pudo diagnosticar observando la morfología de las estructuras de los hongos; posteriormente con la llegada de la técnica de la PCR en 1986, mediante la identificación de ADN se tiene un diagnóstico acertado.

### **2.4.1. Observación de síntomas**

Muchas veces es posible identificar con seguridad el hongo responsable de una determinada enfermedad por observación directa de los síntomas (amarillamiento de hojas, marchitez, necrosis de partes vegetativas, etcétera ) y/o signos en los órganos afectados; también las plantas hospederas pueden ser determinantes, tal es el caso de los hongos biotróficos como la roya, desafortunadamente no es posible hacer un diagnóstico correcto de todas las enfermedades con base en la observación directa del tejido vegetal infectado, debido a que muchos hongos fitopatógenos no producen los cuerpos fructíferos requeridos por la taxonomía, si no en condiciones determinadas de temperatura y humedad, como sucede con las cenicillas y las royas; además, una sola especie vegetal puede ser atacada por diferentes patógenos que le inducen síntomas similares. Por lo anterior, se hace necesario una serie de actividades que conduzcan a la identificación precisa del hongo causante de la enfermedad (Sosa-Moss *et al.*, 1997).

#### **2.4.2. Diagnóstico por morfología del hongo**

Desde 1660 hasta la actualidad el microscopio óptico ha sido el pilar fundamental en el conocimiento de lo invisible al ojo humano. En 1930 el mundo submicroscópico se amplió con la aparición del microscopio electrónico cuya ventaja principal con respecto al microscopio óptico es un aumento de mil veces en la magnificación del material observado acompañado de una mayor capacidad de resolución generando una mejor definición y una ampliación del mundo microscópico (Lanfranconi, 2001).

Las características más importantes de los hongos para su identificación son sus esporas y cuerpos fructíferos (estructuras portadoras de sus esporas), y hasta cierto grado, las características de su soma (plasmodio o micelio). Estos órganos se examinan directamente en el microscopio compuesto después de haber sido retirados de la planta a la que han infectado, con frecuencia el espécimen infectado debe mantenerse húmedo durante algunos días para mantener el desarrollo de los cuerpos fructíferos del hongo, en todo caso, este último debe aislarse y cultivarse en medios artificiales a fin de que su identificación se realice con base en los cuerpos fructíferos que producen en esos medios (Agrios, 2011).

La forma, color, tamaño y manera en que se disponen las esporas sobre los esporoforos o cuerpos fructíferos, así como la forma de esas estructuras reproductoras, son características suficientes para sugerir (con cierta experiencia en taxonomía de hongos) la clase, orden, familia y género a la cual pertenece un determinado hongo (Agrios, 2011). La base de este sistema de identificación de hongos fitopatógenos son los medios de cultivo, que pueden ser sólidos o líquidos, no obstante, es conveniente aclarar que ciertos hongos, tales como los causantes de royas (salvo algunas excepciones), mildius y cenicillas, no han podido ser cultivadas con éxito en un medio nutritivo; estos son llamados parásitos obligados. Para la identificación precisa de los hongos que causan enfermedades en las plantas, es indispensable obtener sus cuerpos fructíferos, puesto que se requieren observar la

manera en que son producidos, su forma, número y tamaño de las esporas que contienen (Sosa-Moss *et al.*, 1997).

### **2.4.3. Reacción en cadena de la polimerasa y secuenciación de ADN**

Entre los organismos existen secuencias de ADN homólogas las cuales han sido conservadas durante el proceso evolutivo y denotan orígenes comunes. Esta homología ha sido la base para los estudios taxonómicos, filogenéticos y evolutivos, así como para el diseño de primers capaces de unirse a secuencias de ADN de organismos aparentemente distantes. Los genes de los ARN ribosomales eucariotes 18S, 5.8S y 28S son fácilmente aislados ya que son moderadamente repetitivos y son un atractivo blanco para los ensayos de PCR. Las secuencias de estos genes ribosomales se encuentran altamente conservadas y están separadas por dos espacios transcritos internos ó ITS los cuales son regiones variables entre organismos. Las secuencias más conservadas se utilizan para la clasificación de niveles taxonómicos superiores (de género a división), mientras que las secuencias ITS se utilizan a nivel de especie ó inferior.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Localización del experimento

La fase experimental de campo de la presente investigación se realizó en la comunidad “La Ascensión”, municipio de Aramberri, N.L., situado a una altitud de 1960 msnm la cual presenta clima templado, con una temperatura promedio anual de 9.5 °C y una temperatura máxima promedio de 16.7 °C y mínima promedio anual de 2.5 °C, con precipitación promedio de 425.5 mm distribuida a lo largo de los doce meses, ocurriendo la mayor precipitación en los meses de mayo, junio y septiembre (Figura 11).

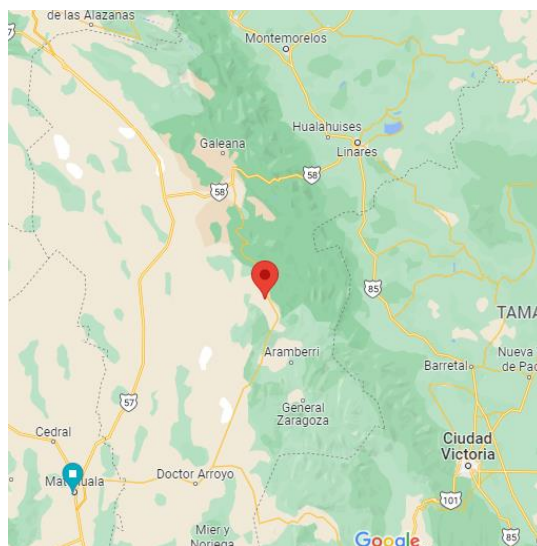


Figura 11. Ubicación geográfica de La Ascensión, Aramberri, N.L. Fuente: Google Maps.

#### 3.2. Muestreo y análisis de plantas

##### 3.2.1. Colecta de las muestras

El 5 de febrero del año 2021, se recolectaron 25 plantas con síntomas de pudrición de bulbos y secado de hojas provenientes de 5 parcelas comerciales de productores cooperantes (Figura 12 y Cuadro 2). Las muestras fueron colocadas en

bolsas de papel y transportadas en hieleras al laboratorio de la Unidad Académica La Ascensión, de la Facultad de Agronomía de la UANL, donde fueron procesadas (Figura 13).

Cuadro 2. Ubicación geográfica de las parcelas de ajo muestreadas en La Ascensión, Aramberri, N.L.

| <b>N°</b> | <b>SUPERFICIE APROX.</b> | <b>VARIEDAD</b>    | <b>FECHA DE SIEMBRA</b> | <b>LATITUD</b> | <b>LONGITUD</b> |
|-----------|--------------------------|--------------------|-------------------------|----------------|-----------------|
| 1         | 1.75 ha                  | Tigre              | 5/08/2020               | 24°21'2.90"N   | 99°56'24.70"O   |
| 2         | 3.0 ha                   | Don Fermín         | 20/08/2020              | 24°19'17.50"N  | 99°55'27.56"O   |
| 3         | 2.5 ha                   | Tigre              | 11/09/2020              | 24°19'58.08"N  | 99°54'43.02"O   |
| 4         | 1.5 ha                   | Don Fermín y Tigre | 15/09/2020              | 24°19'6.01"N   | 99°56'10.33"O   |
| 5         | 1.5 ha                   | Tigre              | 15/10/2020              | 24°18'44.87"N  | 99°55'37.87"O   |



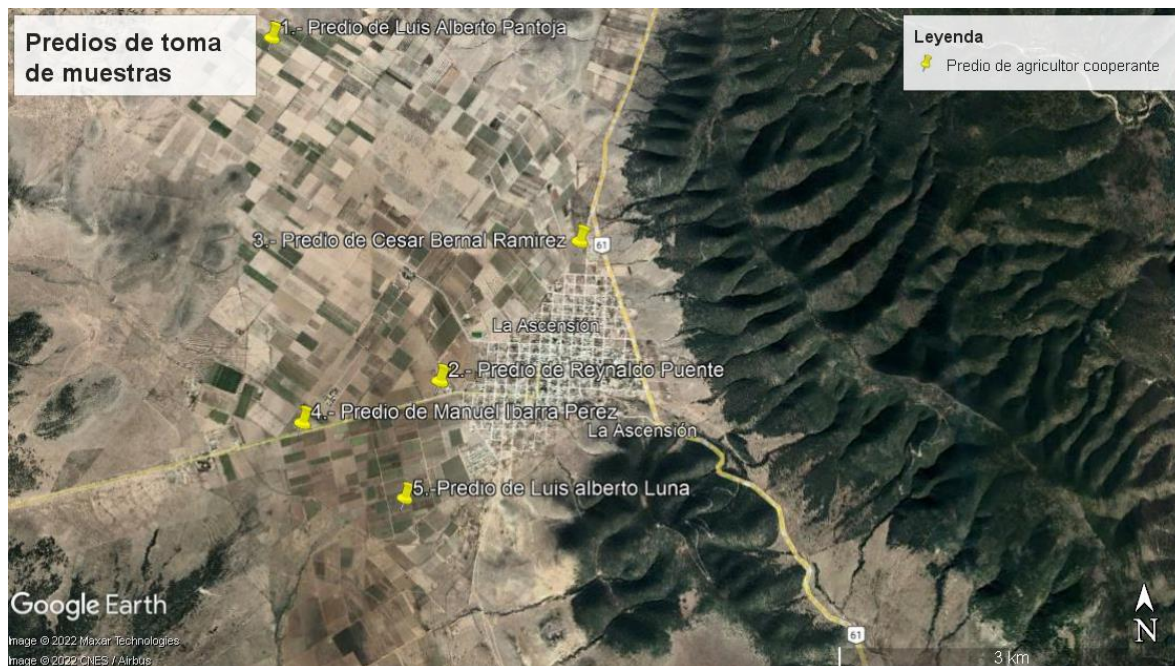


Figura 12. Ubicación de los predios de ajo muestreados. Fuente: Google Maps.



Figura 13.- Plantas sintomáticas de ajo recolectadas en parcelas de agricultores cooperantes de La Ascensión, Aramberri, N.L.

### **3.2.2. Aislamiento y purificación de cepas**

Todas las plantas recolectadas en las 5 parcelas fueron lavadas con agua destilada para eliminar el exceso de tierra y otras impurezas, posteriormente se desinfectaron los bulbos y las raíces con una solución de blanqueador comercial al 10% (hipoclorito de sodio al 0.5% final) durante un minuto, se enjuagaron con agua esterilizada y se les retiró el exceso de humedad utilizando toallas de papel secante estériles. Se realizaron cortes cuadrados de 0.5 cm por lado en el área de transición entre la parte dañada y la parte sana de los bulbos, y se sembraron en cajas Petri de 90 mm x 15 mm con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). Las cajas se incubaron a una temperatura de  $20 \pm 2$  °C durante siete días, con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

La purificación de cepas se realizó en microcultivo por punta de hifa (Figura 14). Se prepararon cajas Petri estériles con PDA, se cortaron bloques cuadrados de aproximadamente 1.5 cm de ancho del agar, estos bloques de agar se colocaron sobre láminas de porta objetos y fueron inoculados con porciones de micelio en el centro de cada cuadro, se colocaron los cubreobjetos para mantener la humedad relativa, a cada caja se le colocó un algodón estéril impregnado con agua esterilizada, se sellaron las cajas y se sometió a una incubación de  $20 \pm 2$  °C hasta el momento de formación de micelio para su observación en el microscopio, con un fotoperiodo de 12/12 horas de luz y oscuridad.



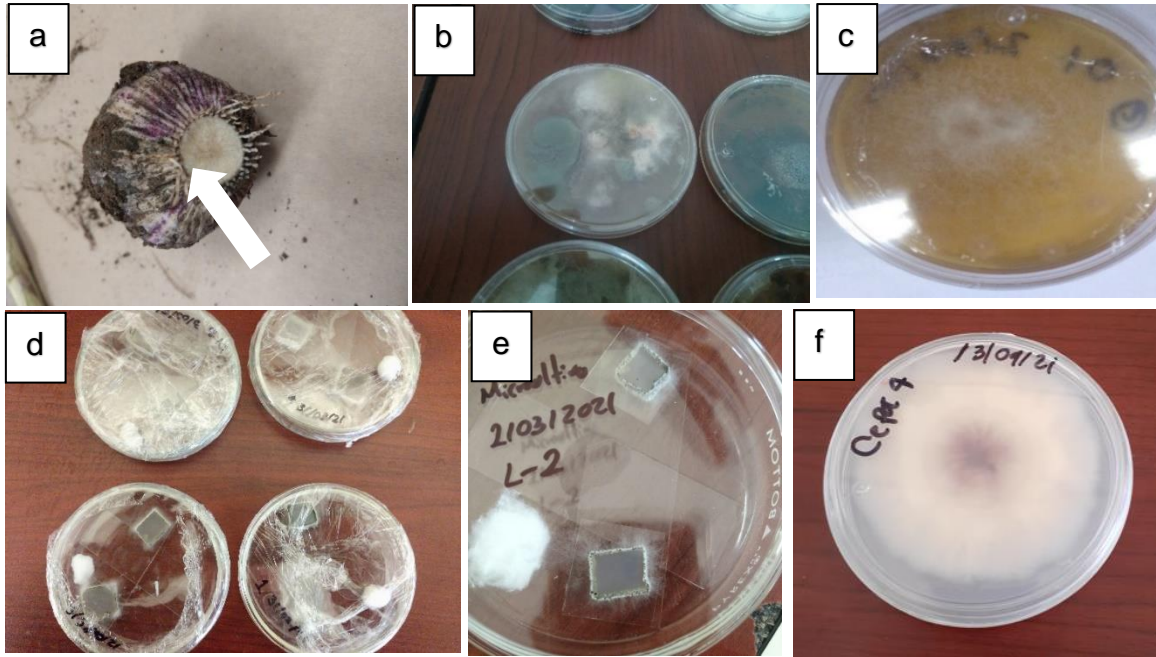


Figura 14. Siembra y purificación de cepas a partir de muestras de ajo. a) La flecha señala el área de transición de la enfermedad en el bulbo de ajo; b) Siembra en medio PDA; (c) Purificación de cepas; d) y e) Asilados puros por microcultivo de las cepas 2, 4, 6 y 10; f) Cepa 4 purificada.

### 3.2.3 Identificación y caracterización morfológica

Se realizó una caracterización morfológica de los aislados obtenidos mediante una observación a simple vista y al microscopio a partir de una resiembra de las cepas originales en medio PDA, registrando las características macro y microscópicas de las colonias como color de micelio aéreo en los lados superior e inferior, color, tipo y forma de la colonia así como la velocidad del crecimiento, esta última se evaluó midiendo el diámetro de crecimiento diario a partir del centro de la caja Petri hasta el llenado de la misma. También se observaron al microscopio las estructuras en preparaciones de los hongos teñidos con lacto fenol, presencia ó ausencia de microconidios, macroconidios y clamidosporas. La identificación de la especie de los hongos se realizó utilizando las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (2010), y Leslie y Sumner (2006).

### 3.2.4. Identificación molecular

Para la identificación molecular de los hongos se utilizaron muestras de micelio de 7 días en medio PDA.

**3.2.4.1. Extracción de ADN.** La extracción de ADN se llevó a cabo por el método DNAzol ES<sup>MR</sup> (Molecular Research Center, E.E.U.U.) siguiendo las instrucciones del fabricante con ligeras modificaciones, primero se tomó una asada de micelio crecido *in vitro*, y se colocó en un tubo de centrifuga nuevo y estéril de 1.5 mL, se agregaron 0.6 mL del reactivo DNAzol ES y se mezcló la solución en vortex, posteriormente se dejó reposar durante 5 min a temperatura ambiente. Luego se agregaron 0.6 mL de cloroformo, se mezcló vigorosamente y se dejó reposar por otros 5 min a temperatura ambiente; se centrifugó a 12,000 x g durante 10 min y se transfirió el sobrenadante o fase acuosa a un tubo de centrifuga nuevo de 1.5 mL. Se precipitó el ADN mezclando la fase acuosa con 0.75 volúmenes de alcohol etílico absoluto frío mezclando las muestras por inversión de los tubos 8 veces y almacenándolos a temperatura ambiente durante 5 min. Se precipitó el ADN centrifugando a 5,000 x g por 4 min. Se preparó una solución de lavado con DNAzol-etanol mezclando un volumen de DNAzol con 0.75 volúmenes de etanol absoluto. Después de decantar, se mezclaron 0.6 mL de la solución anterior con el ADN precipitado y se almacenaron las muestras durante 5 min. Se centrifugó a 5,000 x g por 4 min. Luego se removió la solución de lavado y se lavó la pastilla de ADN mezclando vigorosamente con 0.5 mL de etanol al 80 % seguido por una centrifugación de 5,000 x g durante 4 min, finalmente se removió el etanol por decantación y se colocaron los tubos invertidos en posición vertical sobre una toalla de papel secante estéril por 1-2 min para secar la pastilla de ADN. La pastilla de ADN fue resuspendida en 25 µL de buffer TE (tris-EDTA 10 mM:1 mM, pH 8.0) y se almacenó a -20 °C hasta su utilización.

**3.2.4.2. Reacciones de PCR.** Se realizaron las reacciones de PCR utilizando el ADN obtenido a partir del micelio, además de un testigo negativo (sin ADN) y uno positivo siguiendo el procedimiento descrito a continuación: se preparó una mezcla de 25 µL, que contenía: 5 µL de buffer de PCR 5x, 2 µL de MgCl a una concentración de

25 mM, 2  $\mu$ L desoxinucleótidos trifosfatados (dNTP's) a una concentración de 2.5 mM cada uno, 2  $\mu$ L de cada primer ITS-4/ITS-5 5'-tcc tcc gct tat tg ata tgc-3'/5'-gca agt aaa agt cgt aac aag g-3' (White *et al.*,1990) a una concentración de 10  $\mu$ M, 0.2  $\mu$ L de Go Taq DNA polimerasa (Promega) a una concentración de 5 U/ $\mu$ L, 9.8  $\mu$ L de agua grado Mill-Q, y 2  $\mu$ L de ADN, enseguida las muestras fueron colocadas en el termociclador con un programa térmico que consistía en un ciclo de desnaturalización a 94 °C durante 2 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 20 segundos (s) , 50 °C por 25 s y 72 °C por 50 s, y un paso de extensión final de 74 °C por 4 min.

Para el caso de las reacciones de PCR para amplificar una parte del gen  $\beta$ -tubulina, se preparó una mezcla de 25  $\mu$ L igual que para la región intergénica, con la única diferencia de los primers, Bta y Btb cuyas secuencias son 5'-ggg aac caa atc ggt gct gct ttc-3' y 5'-acc ctc agt gta gtg acc ctt ggc-3' (Glass y Donaldson 1995). Las muestras fueron colocadas en el termociclador con un programa térmico que consistía en un ciclo desnaturalización a 94 °C durante 2 minutos, seguido de 40 ciclos a 95 °C por 30 s, 55 °C por 45 s y 72 °C por 90 s y un paso de extensión final de 72 °C por 5 min.

**3.2.4.3. Electroforesis en geles de agarosa.** Los productos obtenidos por PCR fueron separados por electroforesis en función de su tamaño y carga eléctrica. Se preparó un gel de agarosa al 1 % agregando 0.4 g de agarosa a 40 mL de buffer TBE 0.5 X (tris, ácido bórico, EDTA). Se disolvió la agarosa en el buffer calentando en el horno de microondas mezclando ocasionalmente. La solución se enfrió hasta 50 °C y se agregaron 2  $\mu$ L de una solución de bromuro de etidio (10 mg/mL), se vertió la solución de agarosa en el molde formador y se dejó enfriar hasta su solidificación. Se agregaron de 100 a 150 mL de buffer TBE 0.5 X hasta cubrir 1 ó 2 mm por encima del gel, y se cargaron las muestras en el fondo de los hoyos dejados por los dientes del peine colocando 7  $\mu$ L de cada muestra. Se encendió la fuente de poder hasta 64 volts dejando 5 min para luego subir la corriente a 100 V por 30 min adicionales (aproximadamente  $\frac{3}{4}$  partes del gel). Al término se visualizó el gel en el transiluminador de luz UV. Se documentaron los resultados utilizando una cámara fotográfica.

**3.2.4.4. Secuenciación de ADN y análisis de secuencias.** Los productos de PCR obtenidos de la amplificación del ADN de muestras representativas de cada cepa fueron secuenciados en ambas direcciones con los mismos primers utilizados en las reacciones de PCR, en la compañía Psomagen (EEUU), y sus secuencias fueron ensambladas con el programa CAP3. Las secuencias consenso se analizaron mediante el programa Finch TV y se compararon con la base de datos del GenBank para su identificación a nivel de especie.

### **3.3. Prueba de patogenicidad**

Para cumplir con los postulados de Koch, se seleccionaron bulbos de ajo de la variedad “tigre”, que de manera visual se observaran sanos, sin deformaciones ni daños, los cuales fueron deshojados para la obtención de los bulbillos y su posterior siembra. Los bulbillos fueron desinfectados con una solución de cloro comercial al 10% durante un minuto, posteriormente se desinfectaron en una solución con Rovral 50 ph (ingrediente activo iprodiona) durante 7 min. Los bulbillos fueron sembrados en macetas con un volumen de 2.5 litros de suelo colocando cuatro bulbillos por maceta. Las macetas fueron inoculadas con las cepas 2 y 8. A los 60 días de la siembra, se colocó un disco de micelio de 8 mm de diámetro en el suelo de cada maceta a la altura del cuello de las plantas, después el micelio fue cubierto por tierra (Figura 15). La prueba fue mantenida en observación durante un mes.

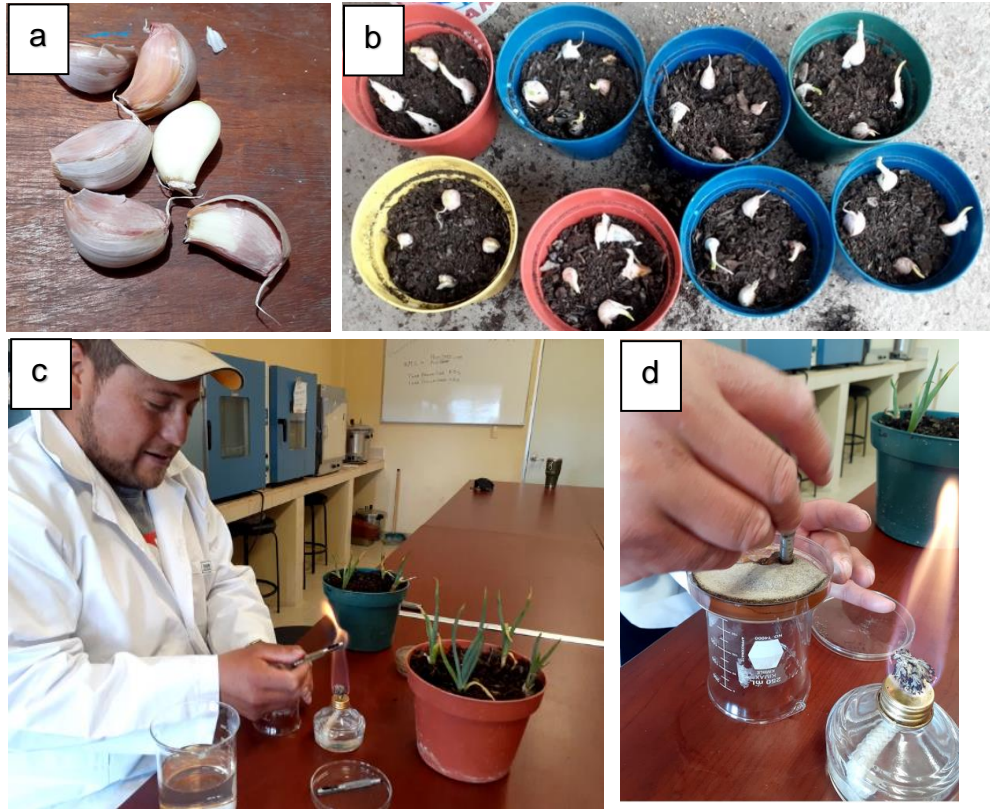


Figura 15.- Prueba de patogenicidad. a) Selección de bulbillos sanos, b) Siembra en macetas de 2.5 L de volumen, c) Desinfección de sacabocados, d) Obtención de disco de micelio para la inoculación de las macetas

### 3.4. Estimación de la incidencia y daños

Inicialmente se localizaron los manchones de plantas sintomáticas en cada lote en el campo, y sobre estos fue que se estimó la incidencia relativa de la enfermedad, determinado el número de plantas con síntomas con respecto al número de plantas totales de cada manchón. Adicionalmente, se hizo un cálculo de la relación entre la superficie de los manchones y la superficie total de cada predio, y con este dato se estimó la incidencia absoluta referida como el número de plantas enfermas en cada predio.

Para el análisis de las variables morfológicas, se utilizaron un número variable de plantas por tratamiento y por predio, considerándose cada planta como una unidad experimental, a las cuales se les tomaron los siguientes datos: peso de raíz, altura de

planta, número de hojas verdes y hojas secas, peso fresco de hojas, diámetro de bulbo, número de bulbillos por bulbo y peso de bulbo. Los datos fueron analizados bajo un diseño completamente al azar con un número variable de repeticiones utilizando un análisis de varianza al nivel de significancia del 1% ( $\alpha=0.01$ ), y los promedios fueron comparados con la prueba de Tukey, mediante el programa Diseños Experimentales versión 1.6 (Olivares, 2015).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Muestreo de plantas y aislamiento de hongos

En general, se observaron 2 síntomas predominantes en las plantas de ajo a los 60 días después del primer riego. Los síntomas observados fueron secado de hojas comenzando por las de mayor edad y con avance basípeto, es decir desde los ápices hacia la base de las hojas. El segundo síntoma fue la pudrición de los bulbos.

Al sembrar porciones de bulbillos con síntoma de pudrición en medio PDA bajo las condiciones descritas, se logró el aislamiento de 65 cepas de las cuales se purificaron 10, ya que visualmente había algunas muy parecidas y otras contaminadas (Figura 16).



Figura 16. a) Aislamientos fúngicos obtenidos a partir de las plantas colectadas, b) Cepas purificadas de los aislados obtenidos.

### 4.2. Caracterización e identificación morfológica

El micelio producido por los aislados fue variado, de colores blanco, violeta claro, morado y marrón, en todos los casos con aspecto algodonoso. Con respecto al crecimiento de las colonias en algunos casos empezó 24 horas después de la siembra con un crecimiento gradual de 1 cm diario en promedio, hasta llenar la caja (8.5 cm de diámetro) en 10 días, en algunos otros casos el crecimiento comenzó después de 48 horas de siembra (Figura 17).



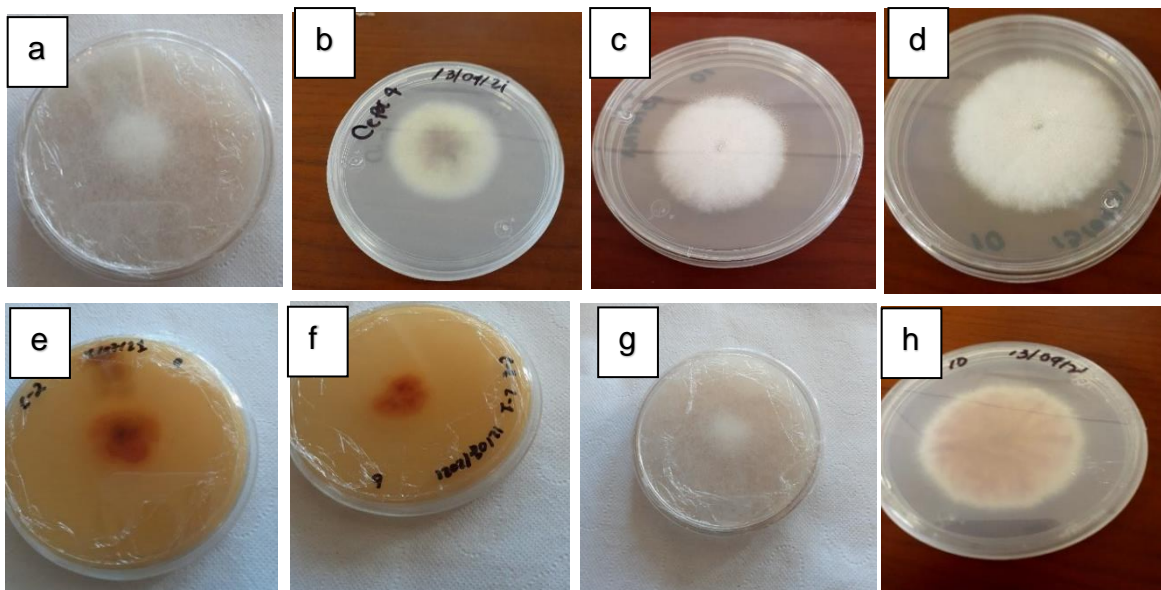


Figura 17. a, b, c y d) Vista superior de las cepas 2, 4, 6 y 10; e, f, g y h) vista inferior.

Mediante la revisión del micelio al microscopio, se observó el desarrollo de macroconidias y microconidias aplanadas con forma de tabique, lo cual dio lugar a la identificación de colonias del género de *Fusarium* spp (Figura 18).



Figura 18. Observación de micelio al microscopio compuesto. a) Formación de conidios, y macroconidias, b) Conidios en cadena, c) Polifialide.

### 4.3. Identificación molecular

Con respecto a la identificación molecular de las cepas, se logró la amplificación por PCR de los 10 aislados seleccionados de las regiones ITS y del gen  $\beta$ -tubulina obteniéndose fragmentos de 571-587 pb para ITS, y de 340 a 478 pb para  $\beta$ -tubulina (Figura 19).



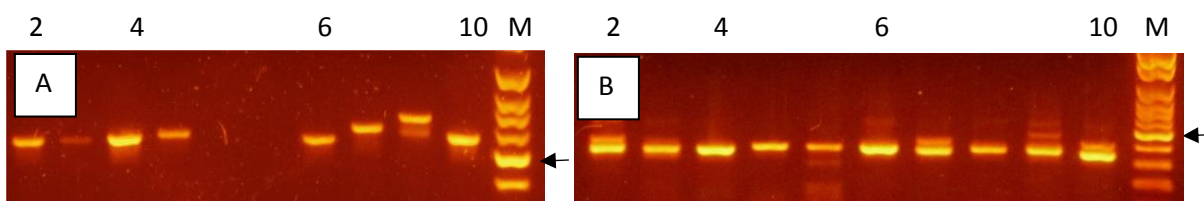


Figura 19. Electroforesis de los productos de PCR-ITS (A) y PCR- $\beta$ -Tubulina (B) del ADN de las cepas de hongos aislados de ajo. Carriles 2, 4, 6 y 10 corresponden con los números de las cepas. Las flechas señalan el fragmento de 500 pb.

Se seleccionaron 4 cepas de hongos, 2, 4, 6 y 10, las cuales fueron secuenciadas en ambas direcciones, ensambladas y comparadas con las secuencias del Genbank mediante los programas CAP3 y Blast: las cepas 2 y 6 correspondieron a *F. oxysporum*, y las cepas 4 y 10 a *F. proliferatum* (Cuadro 3, Figuras 1A a 23A del apéndice).

Cuadro 3.- Comparación con Genbank de las secuencias obtenidas a partir de los productos de PCR en cepas de hongos aisladas de ajo, en la Ascensión, Aramberri N.L.  $\beta$ T=  $\beta$ -tubulina, ITS=espaciadores intergénicos.

| Cepa | Región    | Talla (pb) | Especie identificada         | Porcentaje de similitud | Numero de entrada en GenBank |
|------|-----------|------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| 2    | $\beta$ T | 739        | <i>Fusarium oxysporum</i> ,  | 94.76%                  | LR025148.1                   |
| 2    | ITS       | 572        | <i>Fusarium oxysporum</i>    | 99.3%                   | MZ724823.1                   |
| 4    | $\beta$ T | 340        | <i>Fusarium proliferatum</i> | 98.52%                  | KF577910.1                   |
| 4    | ITS       | 587        | <i>Fusarium proliferatum</i> | 100%                    | MT428196.1                   |
| 6    | $\beta$ T | 478        | <i>Fusarium oxysporum</i>    | 97.09%                  | MH827997.1                   |
| 6    | ITS       | 571        | <i>Fusarium oxysporum</i>    | 98.74%                  | MT453296.1                   |
| 10   | $\beta$ T | 478        | <i>Fusarium proliferatum</i> | 99.39%                  | MH844692.1                   |
| 10   | ITS       | 481        | <i>Fusarium proliferatum</i> | 98.49%                  | MH392760.1                   |

#### 4.4. Prueba de patogenicidad

En las plantas de ajo inoculadas durante la prueba de patogenicidad, los primeros síntomas se observaron a los trece días después de la inoculación. Se observó secado de hojas con coloración rojiza empezando en la punta de las hojas, los tallos presentaron consistencia blanda. Se logró el aislamiento a partir de las plantas de una cepa que de manera visual es idéntica al micelio en cuanto color y crecimiento a las cepas 2 y 6 identificadas previamente como *F. oxysporum* (Figura 20).

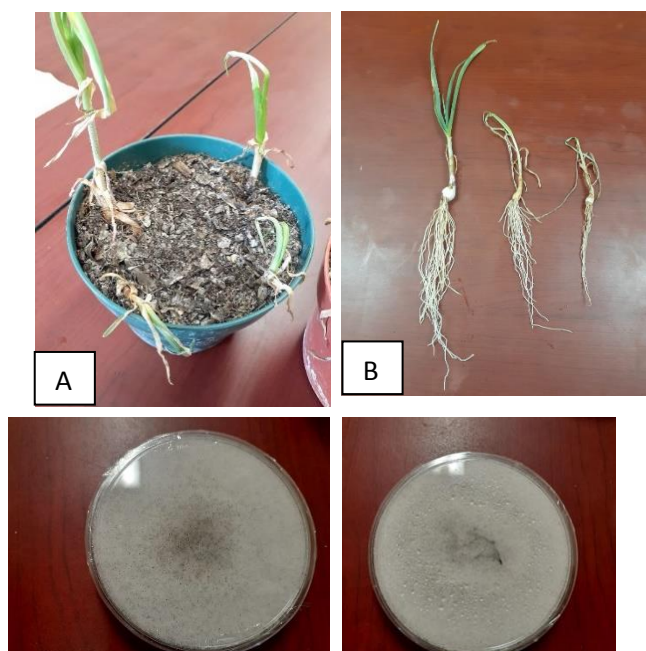


Figura 20. Prueba de patogenicidad y cepas re-aisladas a partir de plantas de ajo inoculadas. a) Plantas con síntomas de secado de hojas, b) Daños a la raíz. De izquierda a derecha es ajo sano, después con *F. proliferatum* y al último *F. oxysporum*, c) Cepas re-aisladas.

#### 4.5. Incidencia de la enfermedad

Se estimó la incidencia relativa de la enfermedad en un manchón representativo de cada parcela obteniendo en la cosecha una incidencia relativa del 80 % en la parcela 1, 70 % en la 2, 80 % en la 3, 70 % en la 4 y 60 % en la 5 (Cuadro 4).

Cuadro 4. Incidencia estimada de la enfermedad pudrición seca del ajo en La Ascensión, Aramberri, N.L.

| Parcela | Superficie<br>(ha) | Área afectada<br>(%) | Incidencia (%) |          |
|---------|--------------------|----------------------|----------------|----------|
|         |                    |                      | Relativa       | Absoluta |
| 1       | 1.75               | 2.2                  | 80             | 1.76     |
| 2       | 3.0                | 6.38                 | 70             | 4.466    |
| 3       | 2.5                | 4.7                  | 80             | 3.76     |
| 4       | 1.5                | 0.6                  | 70             | 0.42     |
| 5       | 1.5                | 2.5                  | 60             | 1.5      |
| X       | -                  | 3.276                | 72             | 2.36     |

También se estimó la relación entre la superficie con manchones de enfermedad con respecto al tamaño de la parcela, que de acuerdo con los resultados observados en el Cuadro 4, la parcela 1 tuvo un 2.2 % de superficie con daños (Figura 21), la 2 de 6.38 % (Figura 22), la 3 de 2.5 % (Figura 23) la 4 de 4.69 % (Figura 24) y en la 5 hubo 0.6 % (Figura 25). Con ambos datos (incidencia relativa y proporción de manchones), se estimó la incidencia absoluta (Cuadro 4).

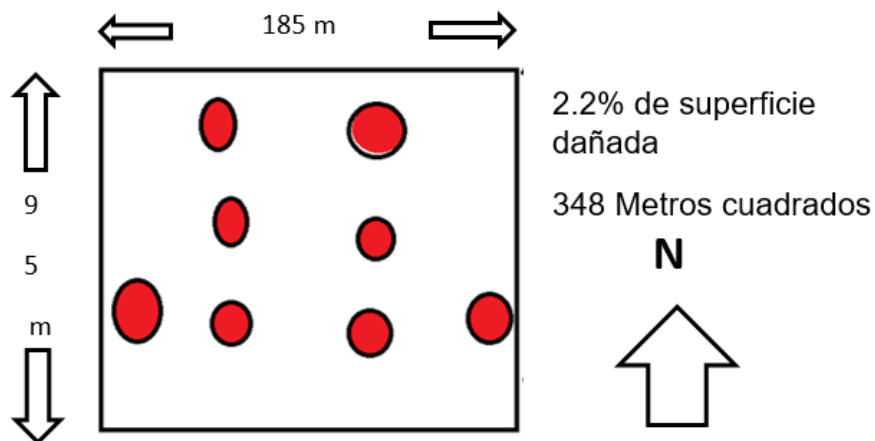


Figura 21. Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 1.

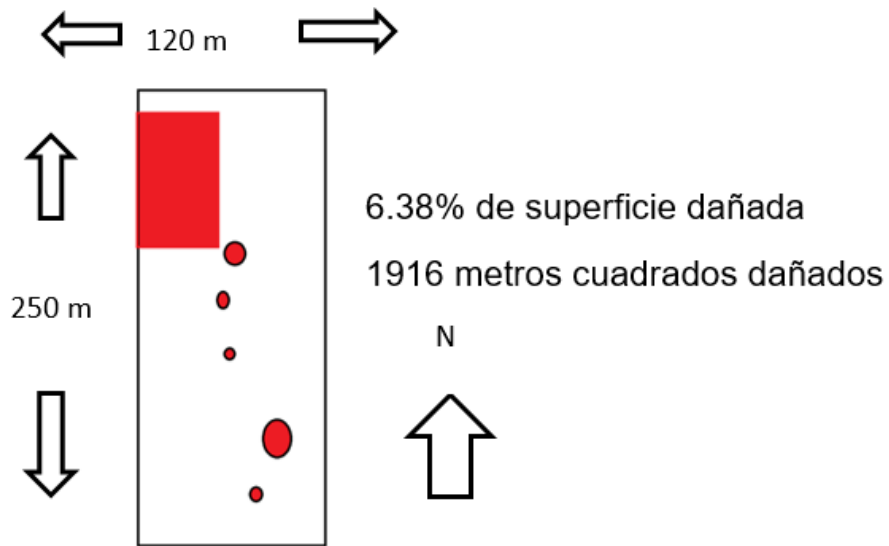


Figura 22. Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 2.

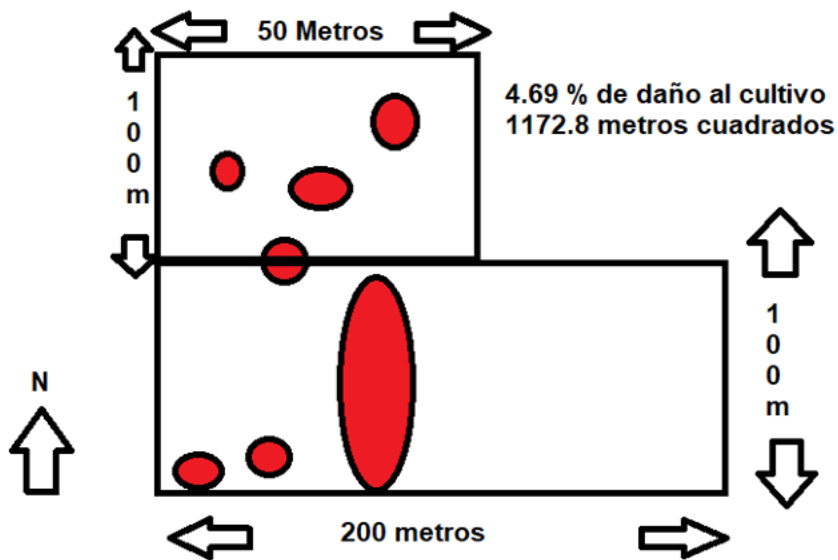


Figura 23. Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 3.

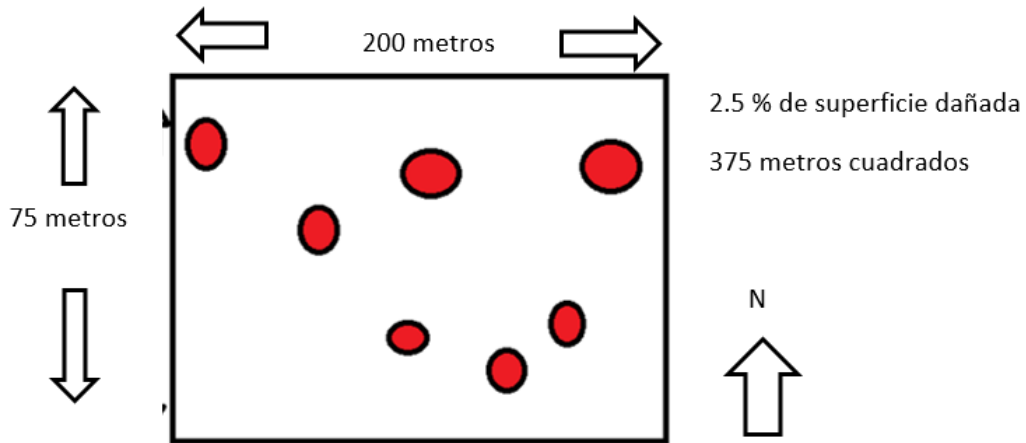


Figura 24. Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 4.

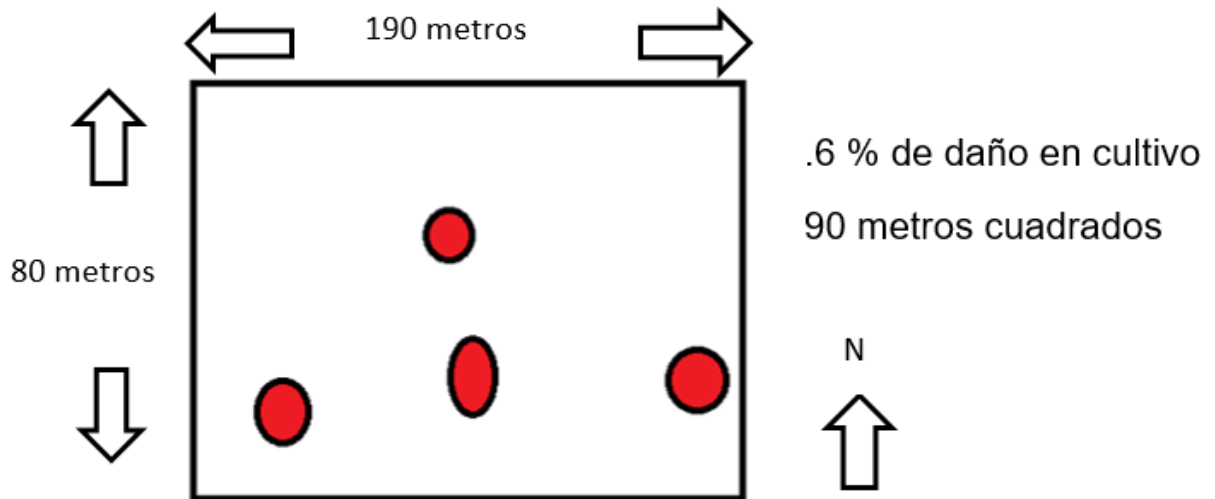


Figura 25. Relación de manchones de plantas enfermas con la superficie total en el predio 5.

#### 4.6. Efecto en el rendimiento y sus componentes

En el predio 1 se recolectaron un total de 62 plantas sanas y 32 enfermas; en el predio 2, 62 plantas sanas y 42 enfermas; en el 3, 73 plantas sanas y 35 enfermas; en el 4, 68 plantas sanas y 30 enfermas; y por último, en el predio 5, 62 plantas sanas y 31 enfermas; en total de los cinco lotes se recolectaron 327 plantas sanas y 170 plantas enfermas las cuales fueron medidas de acuerdo con lo descrito en la metodología. Los resultados del análisis estadístico de las variables de estudios se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Significancia estadística y comparación de medias de las variables morfológicas entre plantas sanas y enfermas de ajo por predio.  $\alpha$  = significancia estadística. Letras diferentes indican diferencia estadística.

| Tratamientos          | Predios  |          |          |          |          |
|-----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                       | 1        | 2        | 3        | 4        | 5        |
| Peso de raíz (g)      |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas         | 2.485 a  | 2.263 a  | 2.596 a  | 2.429 a  | 2.537 a  |
| Plantas enfermas      | 1.880 b  | 1.950 a  | 1.956 b  | 1.874 b  | 2.036 b  |
| $\alpha$              | 0.008**  | 0.170 NS | 0.011*   | 0.014*   | 0.011*   |
| Altura planta (cm)    |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas         | 34.191 a | 33.667 a | 34.432 a | 37.323 a | 34.565 a |
| Plantas enfermas      | 29.167 b | 26.881 b | 23.603 b | 33.484 b | 32.355 b |
| $\alpha$              | 0.000**  | 0.000**  | 0.000**  | 0.010**  | 0.014*   |
| N° de hojas           |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas         | 10.309 b | 10.726 a | 11.247 a | 10.468 a | 10.758 a |
| Plantas enfermas      | 11.033 a | 10.024 b | 9.559 b  | 10.935 a | 11.677 b |
| $\alpha$              | 0.000**  | 0.000**  | 0.000**  | 0.140 NS | 0.000**  |
| N° hojas verdes       |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas         | 5.471 a  | 5.629 a  | 5.274 a  | 5.468 a  | 5.548 a  |
| Plantas enfermas      | 2.633 b  | 4.238 b  | 2.588 b  | 3.613 b  | 5.387 a  |
| $\alpha$              | 0.000**  | 0.000**  | 0.000**  | 0.000**  | 0.401 NS |
| N° hojas secas        |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas         | 4.985 b  | 5.113 b  | 5.932 b  | 4.968 b  | 5.210 b  |
| Plantas enfermas      | 8.400 a  | 6.214 a  | 7.382 a  | 7.387 a  | 6.290 a  |
| $\alpha$              | 0.000**  | 0.000**  | 0.000**  | 0.000**  | 0.000**  |
| Peso fresco hojas (g) |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas         | 16.515 a | 21.990 a | 20.199 a | 19.113 a | 17.048 a |
| Plantas enfermas      | 6.913 b  | 8.800 b  | 14.356 b | 10.132 b | 7.339 b  |

|   |          |          |          |          |          |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| $\alpha$  | 0.000**  | 0.000**  | 0.006**  | 0.000**  | 0.000**  |
| Diámetro del bulbo (cm)                               |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas   | 5.331 a  | 5.748 a  | 4.977 a  | 5.569 a  | 5.363 a  |
| Plantas enfermas                                      | 4.433 b  | 4.740 b  | 4.471 b  | 5.145 b  | 4.600 b  |
| $\alpha$  | 0.000**  | 0.000**  | 0.004**  | 0.041*   | 0.000**  |
| N° de bulbillos/bulbo                                 |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas   | 12.868 a | 13.452 a | 12.890 a | 13.194 a | 13.210 a |
| Plantas enfermas                                      | 11.533 b | 12.330 b | 11.118 b | 12.742 a | 12.613 a |
| $\alpha$  | 0.009**  | 0.001**  | 0.000**  | 0.317 NS | 0.054 NS |
| Peso fresco bulbo(g)                                  |          |          |          |          |          |
| Plantas sanas   | 58.947 a | 70.919 a | 54.185 a | 63.597 a | 60.329 a |
| Plantas enfermas                                      | 46.686 b | 45.021 b | 42.435 b | 57.344 a | 42.419 b |
| $\alpha$  | 0.014*   | 0.000**  | 0.002**  | 0.185 NS | 0.000**  |
| Diferencia entre el peso del bulbo sano y enfermo (%) | 20.8     | 36.52    | 21.68    | 9.83     | 29.67    |
| Diferencia promedio (%)                               | 23.7     |          |          |          |          |

Con respecto al peso de raíz, se observó que en los cinco predios disminuye el peso de la raíz de las plantas enfermas comparadas con las sanas, y las diferencias entre los tratamientos fueron significativas al nivel 0.05 en tres de los predios y al nivel 0.01 en un predio.

Sobre la altura de las plantas, en los cinco predios fue mayor la altura en plantas sanas comparadas con las plantas enfermas, y en los cinco predios hubo diferencias significativas y/o altamente significativas.

El número de hojas totales, se redujo en las plantas enfermas solamente en dos predios con diferencias significativas al nivel 0.01, contrario con los otros tres predios en donde se tuvieron más hojas en las plantas enfermas.

En los cinco predios, el número de hojas verdes fue mayor en las plantas sanas que en las enfermas, sin embargo, solo en los predios 1, 2, 3 y 4, se encontró diferencia significativa al nivel 0.01.

Por otra parte, en los cinco predios, el número de hojas secas fue mayor en las plantas de ajo enfermas a comparación con las plantas sanas encontrándose diferencia significativa en todos los predios.

El peso fresco de las hojas fue mayor en las plantas de ajo sanas que en las plantas enfermas en los cinco predios, y se encontró diferencia significativa en todos los predios al nivel 0.01.

El diámetro de los bulbos de plantas sanas también fue mayor en todos los predios, incluso estadísticamente.

Con respecto al número de bulbillos, fue ligeramente mayor en los ajos sanos en los cinco predios, pero solamente en tres de ellos se encontró diferencia significativa entre ajos sanos y enfermos.

Finalmente, el peso fresco de los bulbos fue mayor en los cinco predios en las plantas sanas, con diferencias estadísticas en cuatro predios. La disminución promedio en el peso de los bulbos de los ajos enfermos con respecto a los sanos fue desde un 9.83 % hasta un 36.52 % entre los predios, con una reducción promedio de los cinco predios en el peso del bulbo de 23.7%. Cabe señalar que esta reducción de 23.7% en el peso de los bulbos es solamente en los manchones en donde se presentó la enfermedad con mayor evidencia visual, y no en la superficie total de las parcelas. La reducción del rendimiento absoluto incluyendo la superficie total fue de 2.36 %.



## 5. DISCUSIÓN

La pudrición seca o pudrición basal causada por *Fusarium* spp. fue reportada por primera vez en California, E.E.U.U. en 1976 y desde entonces ha habido muchos reportes en todo el mundo indicando que causa pérdidas en el rendimiento que van desde insignificantes hasta un 40 % (Zeep *et al.*, 1996).

*Fusarium oxysporum* produce marchitez vascular, pudrición de raíz, tallos, coronas y bulbos. Agrios (2011) menciona que las plantas afectadas pertenecen a varias familias que incluyen a hortalizas, plantas de flor, pastos, inclusive malezas. Se encuentra distribuido ampliamente por todo el mundo y ocasiona pérdidas considerables al disminuir las poblaciones, el crecimiento y la producción de las plantas infectadas.

La pudrición de bulbos por *Fusarium* spp. ocurren tanto en el campo como en el almacén. La pudrición puede iniciarse en la superficie sana de los bulbos, pero con frecuencia se inicia en las heridas, en el follaje o en las raíces dañadas que se hacen después de la cosecha. Los bulbos invadidos pueden o no mostrar síntomas externos de la enfermedad, es común que las raíces adquieren una tonalidad que va de café a negro, se hunden y se pudren, y a menudo contienen masas de micelio del hongo. El follaje de las plantas se torna amarillo, adquiere color púrpura o café y mueren prematuramente, la pudrición de la raíz y tallo por *Fusarium* spp. aumenta su severidad, cuando las plantas que están expuestas al patógeno sufren agobio fisiológico por las bajas temperaturas, sequía intermitente, o exceso de agua en el suelo, herbicidas, compactación de la superficie del suelo debido a las ruedas del tractor que limitan el crecimiento de las raíces de las plantas.

Los síntomas observados en las plantas de ajo en la comunidad de La Ascensión aparecieron a los 60 días después del riego inicial, y fueron hojas amarillentas desde el ápice en forma descendente comenzando en las hojas de mayor edad y continuando con las más jóvenes, en las que se tuvo menor crecimiento y desarrollo además de pudrición del bulbo y muerte de las plantas. Síntomas similares también han sido reportados por Burba (2003), Velásquez-Valle y Medina-Aguilar

(2004b); Dugan *et al.* (2007); Garcia *et al.* (2011); Galvez-Patón *et al.* (2011); Basallote *et al.* (2011); Ochoa-Fuentes *et al.* (2012); Delgado-Ortíz *et al.* (2016); Galvez y Palmero (2021), teniendo en común el agente causal: *Fusarium* spp.

A pesar de haber reportes de la enfermedad causada por varias especies de *Fusarium*, en el presente caso solo se detectó *F. oxysporum* y *F. proliferatum*, sin embargo, es posible que se hayan perdido alguna otra especie en el proceso de purificación, ya que se obtuvieron 65 aislados, de los que finalmente fueron seleccionados 4 para el análisis.

Con respecto a las pudriciones de bulbo, *F. proliferatum* ha sido citado como patógeno del ajo en el noreste de los Estado Unidos de América y Serbia, causando podredumbres húmedas de color pardo en los dientes de ajo. En España, se ha detectado, que el género *Allium* es susceptible a *F. proliferatum*, presentando índices altos de gravedad de la enfermedad en ajo, la sintomatología observada a las tres semanas de la inoculación consiste en raíces podridas con aspecto acuoso que se descomponen y finalmente desaparecen, presentaron una drástica disminución en el peso de la planta (Garcia *et al.*, 2011).

En México, Ochoa-Fuentes *et al.* (2012) reportó la presencia de diferentes especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, y por su parte Delgado-Ortíz *et al.* (2016) reportaron las mismas especies de *Fusarium*, obtenidas en campo en Zacatecas, Guanajuato y Aguascalientes.

En España, Galvez-Patón *et al.* (2011) reportaron a *F. proliferatum* como agente causal de podredumbre de ajo, los síntomas de la enfermedad se manifiestan con podredumbres húmedas en los dientes, llegando a abarcar la totalidad de este; inicialmente se aprecian lesiones en la superficie de los dientes, donde en algunos casos aparece un crecimiento de micelio blanco, así como necrosis en el disco radicular. De igual manera, Basallote *et al.* (2011) reportó en España, la podredumbre de disco basal y raíces de ajo se debía a una etiología compleja, con *F. oxysporum* y *F. proliferatum* como agentes principales, seguidos por *F. solani*. Lo antes mencionado coincide con los síntomas de las plantas analizadas y los mismos agentes causales de

la enfermedad, con excepción de *Fusarium solani* que no se encontró en la presente investigación.

En argentina Burba (2003) reportó fusariosis o podredumbre seca como una de las enfermedades más comunes en ajo, desarrollándose mejor en ambientes húmedos y calientes, las plantas atacadas muestran amarillamiento y al ser arrancadas muestran las raíces con coloraciones violetas y sectores del bulbo blando. Los dientes o bulbillos con fusariosis muestran manchas deprimidas de aspecto herrumbre. Piccolo (2007), reportó una enfermedad llamada mancha herrumbe causada por *F. oxysporum*, la infección manifiesta con un marchitamiento, las hojas presentan clorosis y las puntas se secan hacia abajo. En un ataque temprano por este patógeno, las plantas se muestran con un crecimiento reducido. Se pueden observar raíces con la enfermedad las cuales se colorean de pardo claro al principio, perdiendo turgencia y luego mueren.

Dugan *et al.* (2007) reportaron que los patógenos fúngicos más comunes en ajo en la semilla (bulbillos) son *F. oxysporum* y *F. proliferatum*, el primero produce clamidosporas y es capaz de sobrevivir en el suelo prolongadamente, por su parte *F. proliferatum* no produce clamidosporas, pero es capaz de sobrevivir prolongadamente en el suelo cuando se asocia con residuos.

Galvez y Palmero (2021), recientemente reportaron que la enfermedad en poscosecha más prevalente en ajo es la podredumbre seca con un 56.1%, y se asocia con 6 especies de *Fusarium*. *F. proliferatum* se detectó en más del 85 % de los dientes de ajo sintomáticos, seguido de *F. oxysporum* y *F. solani*.

De acuerdo con la caracterización morfológica y molecular, pudimos identificar plenamente a *F. oxysporum* y *F. proliferatum* coincidiendo los 2 fragmentos de ADN analizados, la región ITS y el gen de la  $\beta$ -tubulina. La prueba de patogenicidad validó la etiología de la enfermedad.

Con respecto a la incidencia, no se encontraron reportes comparativos, y podemos señalar que la estimación realizada aporta buena información al señalar que la incidencia se da en manchones, aunque esto lleva a plantear la pregunta sobre el

origen de la infección, si viene en la semilla o se diseminó en campo, lo cual no se dilucidó en la presente investigación. La estimación de una incidencia relativa de 72 % en promedio de los 5 lotes es muy elevada, pero esto aplica solo para el área que presentó manchones la cual representa entre un 0.6 y 6.38 % de la superficie total.

De acuerdo con los resultados, la enfermedad pudrición seca o basal ocasiona la modificación de diferentes características morfológicas en el campo, con mayor importancia en el peso y apariencia del bulbo. Para la mayoría de las variables analizadas se detectaron diferencias estadísticas significativas a los niveles 0.05 y 0.01, inclusive los valores son muy claros, con un menor peso de raíz, menor altura de planta, menor número de hojas verdes, menor diámetro de bulbos y número de bulbillos, y lo más importante, menor peso de bulbo (rendimiento) en las plantas enfermas. A pesar de que existen muchas referencias sobre la presencia de *Fusarium* en ajo, hay pocas referencias que hayan evaluado características agronómicas. Velásquez-Valle y Medina-Aguilar (2004b) mencionaron que las plantas afectadas por *Fusarium* spp. mostraron en su follaje de color café a púrpura, las plantas mostraron una disminución generalizada en altura, diámetro de cuello y bulbo, aunque el efecto negativo más evidente fue en el peso del bulbo hasta un 86 % menos que las plantas sanas. Por su parte, Revelez-Hernández *et al.* (2009) mencionan que la pudrición en bulbos de ajo por *Fusarium*, puede ser responsable por pérdidas de hasta 40 % de los bulbos de campo.

## 6. CONCLUSIONES

De acuerdo con las condiciones descritas en la presente investigación, se llegó a las siguientes conclusiones:

Se encontró como agente casual del secado de las hojas y la pudrición de bulbos de ajo a *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum*, presentando una incidencia relativa en los manchones desde un 60% hasta un 80%, y una incidencia absoluta desde 0.42 hasta 4.47% en los 5 predios estudiados.

Los hongos causales de la enfermedad reportada causaron un efecto negativo en todas las variables morfológicas de las plantas, sobre todo en el rendimiento del bulbo, con una disminución de la calidad y una reducción en la producción del ajo del 2.36% en promedio.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G.N. 2011. Fitopatología. 2ª Edición. Ed. LIMUSA. México. 838p.
- Aguiar-Rocha, A.E. 2019. Identificación e incidencia de virus patógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) en Aramberri, Nuevo León. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Agronomía, UANL.
- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 2010. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4<sup>th</sup> ed. APS. 218p.
- Basallote, M.J., Zurera, C., Melero, J.M., Prados, A.M. 2011. Nueva enfermedad en el cultivo del ajo ocasionada por *Fusarium* spp. *Phytoma España*. 229p.
- Boriss, H. 2006. Commodity Profile: Garlic. Agricultural Issues Center. Pittsboro, NC, USA. 10p.
- Burba, J.L. 2003. Producción de Ajo. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. 43p.
- Burba, J.L. 2008. Los grupos varietales del ajo (*Allium sativum* L.). Contribución para su entendimiento. *Horticultura Argentina* 27(62):20-27.
- Cavalcanti, V.P., Araújo, N.A., Schwanestrada, K.R., Pasqual, M., & Doria, J. 2018. *Athelia* (*Sclerotium*) *rolfsii* in *Allium sativum*: potential biocontrol agents and their effects on plant metabolites. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 90(4):3949-3962.
- Delgado-Ortiz, J.C., Ochoa-Fuentes, Y.M., Cerna-Chávez, E., Beltrán-Beache, M., Rodríguez-Guerra, R., Aguirre-Urbe, L.A., & Vázquez-Martínez, O. 2016. Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. *Revista Argentina de Microbiología* 48(3):222-228.
- Dugan, F.M. 2007. Diseases and disease management in seed garlic: problems and prospects. *Am. J. Plant Sci. Biotechnol*, 1:47-51.
- FAOSTAT. 2022. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. Información disponible en <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>.
- Fisher M.C., Henk, D.A., Briggs C.J., Brownstein J.S., Madoff L.C., McCraw S.L., and Gurr S.J. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* 484:186–194.
- Gálvez, L. & Palmero, D. 2021. Incidence and etiology of postharvest fungal diseases associated with bulb rot in garlic (*Allium sativum*) in Spain. *Foods* 10(5):1063.
- Gálvez-Patón, L., Gil-Serna, J., Bango, D., & Palmero, D. 2011. La podredumbre del ajo causada por *Fusarium proliferatum*. *Horticultura Revista de Frutas Hortalizas Flores y Plantas Ornamentales* 297:48-51.

García, M., De Cara, M., Gálvez, L., Iglesias, C., Vares, L., & Palmero, D. 2011. Especificidad parasitaria de aislados de *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg sobre especies del género *Allium*. *Bol. San. Veg. Plagas* 37:195-206.

Glass, N.L. and G.C. Donaldson. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous Ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 61(4):1323–1330.

Koch, H.P. 1993. Garlicin—fact or fiction? the antibiotic substance from garlic (*Allium sativum* L.). *Phytotherapy Research* 7(4):278-280.

Kwon, J.H. 2010. Stem rot of garlic (*Allium sativum*) caused by *Sclerotium rolfsii*. *Mycobiology* 38(2):156-158.

Lanfranconi, M. 2001. Historia de la Microscopía. **En:** Introducción a la Biología. Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional Mar de Plata, Argentina. Pp49-55.

Leslie, J.F. and B.A. Summerell. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing. 5<sup>th</sup> Edition.

Ochoa-Fuentes, Y.M., Cerna Chávez, E., Gallegos Morales, G., Landeros Flores, J., Delgado Ortiz, J.C., Hernández Camacho, S., ... & Olalde Portugal, V. 2012. Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Micología* 36:27-32.

Olivares-Sáenz, E. 2015. Diseños Experimentales. Versión 1.6.

Patón, L.G., Serna, S.G., Bango, D., Marquina, J.C.T., and Llamas, D.P. 2013. La podredumbre del ajo causada por *Fusarium proliferatum*. *Phytoma* 245:34.

Piccolo, R. 2007. Enfermedades micológicas y bacterianas del ajo (*Allium sativum*). Curso un Cuyo – INTA. 27p.

Retana, K., Ramírez-Coché, J.A., Castro, O., & Blanco-Meneses, M. 2018. Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Apii* asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 42(1):115-126.

Revelés-Hernández, M., Velásquez-Valle, R., & Bravo-Lozano, A.G. 2009. Tecnología Para Cultivar Ajo En Zacatecas. Libro técnico No. 11. Campo Experimental Zacatecas, CIRNOC-INIFAP. 272p.

SEDAGRO. 2020. Secretaria de Desarrollo Agropecuario del Estado de Nuevo León. Información disponible en : <https://www.nl.gob.mx/search?d=238>. Fecha de consulta 12 de noviembre del 2020.

Sepúlveda, P., Madariaga, M., & Horta, M. 2020. Enfermedades causadas por hongos que afectan el cultivo del ajo en la región de O'Higgins. **En:** Madariaga, V.M. y F.A. Catalán. Valorización del Cultivo del Ajo (*Allium sativum*) en la Región del Libertador Bernardo O'Higgins. *Boletín INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias No. 424*. pp43-62.

SIAP. 2022. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. información disponible en:

[http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/ResumenProducto.do;jsessionid=0044B880756556A16F54EEC14AD5E02](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do;jsessionid=0044B880756556A16F54EEC14AD5E02). Fecha de consulta: 5 julio 2022.

Sosa-Moss, C., Perdomo-Roldán, F., Brathwaite, C.W. and Salazar-Cruz, J.J. 1997. Manual de Técnicas para el Diagnóstico de las Enfermedades de las Plantas. IICA. 228p.

Valdez, J.G., Makuch, M.A., Ordovini, A.F., Frisvad, J.C., Overy, D.P., Masuelli, R.W., & Piccolo, R.J. 2009. Identification, pathogenicity and distribution of *Penicillium* spp. isolated from garlic in two regions in Argentina. *Plant Pathology* 58(2):352-361.

Velásquez-Valle, R., y Medina-Aguilar, M.M. 2004a. Persistencia de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. en suelos infestados de Aguascalientes y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:143-146.

Velásquez-Valle, R., & Medina-Aguilar, M.M. 2004b. Características vegetativas y susceptibilidad de variedades de ajo (*Allium sativum* L.) infectadas por *Fusarium* spp. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(3), 435-438.

Velásquez-Valle, R., Reveles-Hernández, M. y Reveles-Torres L.R. 2017. Identificación de enfermedades causadas por hongos en cultivos de Aguascalientes, Durango y Zacatecas. Folleto Técnico No. 90. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC–INIFAP, 86 p.

Velásquez-Valle, R., Reveles-Hernández, M. y Reveles-Torres L.R. 2018. Sanidad de la semilla de ajo en Aguascalientes y Zacatecas, México. Folleto Técnico No. 98. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC–INIFAP, 30 p.

White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S.; and Taylor, J. 1990. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, CA. pp. 315-322.

Zepp, G., Harwood, J. y Somwaru, A. 1996. Ajo: una evaluación económica de la viabilidad de proporcionar un seguro de cultivos contra riesgos múltiples. Servicio de Investigación Económica, Departamento de Agricultura de EE.UU. para la Oficina de Gestión de Riesgos. California Condado de Maricopa, Arizona. 48p.



## 8. APÉNDICE



Figura 1A.- Electroferograma de la región ITS-ADN del aislado 2 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

| Description  | Scientific Name  | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Acc. Len | Accession                  |
|--|------------------|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------|----------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain JIF2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal trans... | Fusarium oxys... | 1031      | 1031        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 569      | <a href="#">MN626452.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain JIF1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal trans... | Fusarium oxys... | 1031      | 1031        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 569      | <a href="#">MN626451.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate KEMS_4a small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; interna...    | Fusarium oxys... | 1031      | 1031        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 569      | <a href="#">MK922065.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain LD200518 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal...   | Fusarium oxys... | 1031      | 1031        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 569      | <a href="#">MW073409.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain LD200516 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal...   | Fusarium oxys... | 1031      | 1031        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 569      | <a href="#">MW073408.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain LD200416 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal...   | Fusarium oxys... | 1031      | 1031        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 569      | <a href="#">MW073407.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate DSM100409_FOX small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence...       | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 1135     | <a href="#">MT453296.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum Fp47 chromosome IV  | Fusarium oxys... | 1029      | 3089        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 4731052  | <a href="#">CP052041.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain GFR32 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra...  | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 584      | <a href="#">MT447537.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain GFR24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra...  | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 584      | <a href="#">MT447529.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici isolate CU-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequ... | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 571      | <a href="#">MN219649.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate Ginarsnl_1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; inter...   | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 578      | <a href="#">MN055701.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate BM14 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra...  | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 100%        | 0.0     | 99.13%     | 573      | <a href="#">MK910069.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain 149 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transc... | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 2056     | <a href="#">MK828120.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain HDXG-0 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tr...  | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 568      | <a href="#">MK641475.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum strain gss142 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra... | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 100%        | 0.0     | 99.13%     | 572      | <a href="#">MH290453.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum f. sp. dianthi partial 18S rRNA gene for 18S ribosomal RNA, strain Fod008         | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 7875     | <a href="#">LT841236.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum f. sp. dianthi partial 18S rRNA gene for 18S ribosomal RNA, strain Fod001         | Fusarium oxys... | 1029      | 1029        | 99%         | 0.0     | 99.30%     | 7875     | <a href="#">LT841222.1</a> |

Figura 2A. Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 2 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

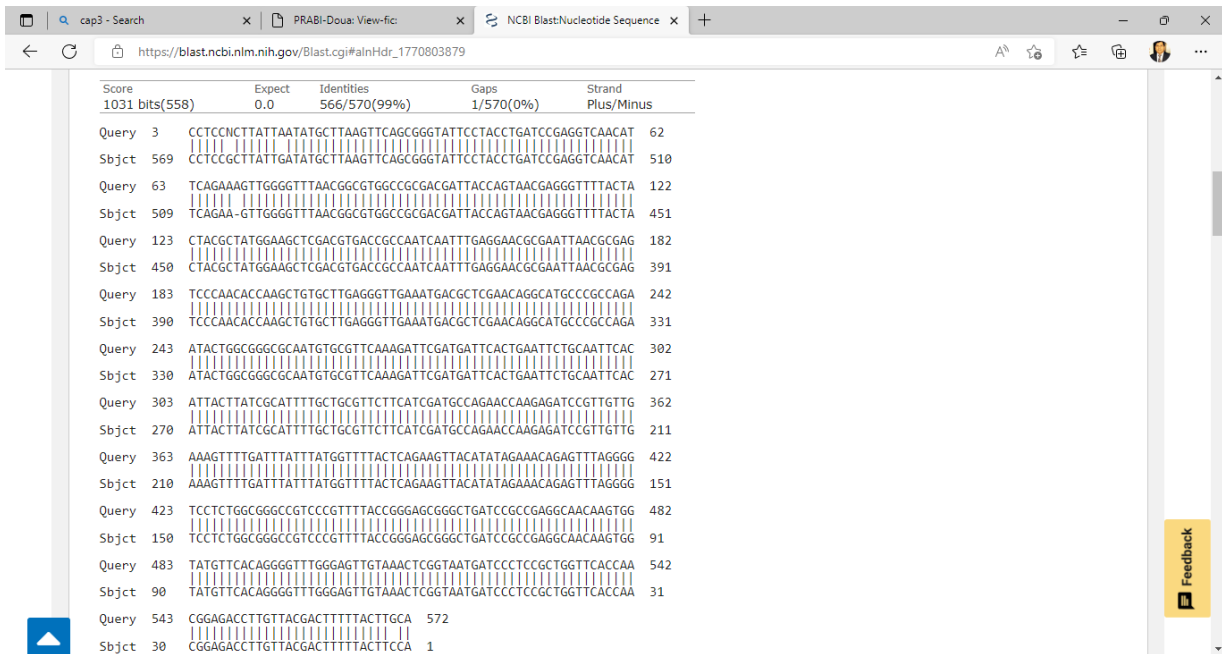


Figura 3A. Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 2 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MN626452.1 del GenBank.

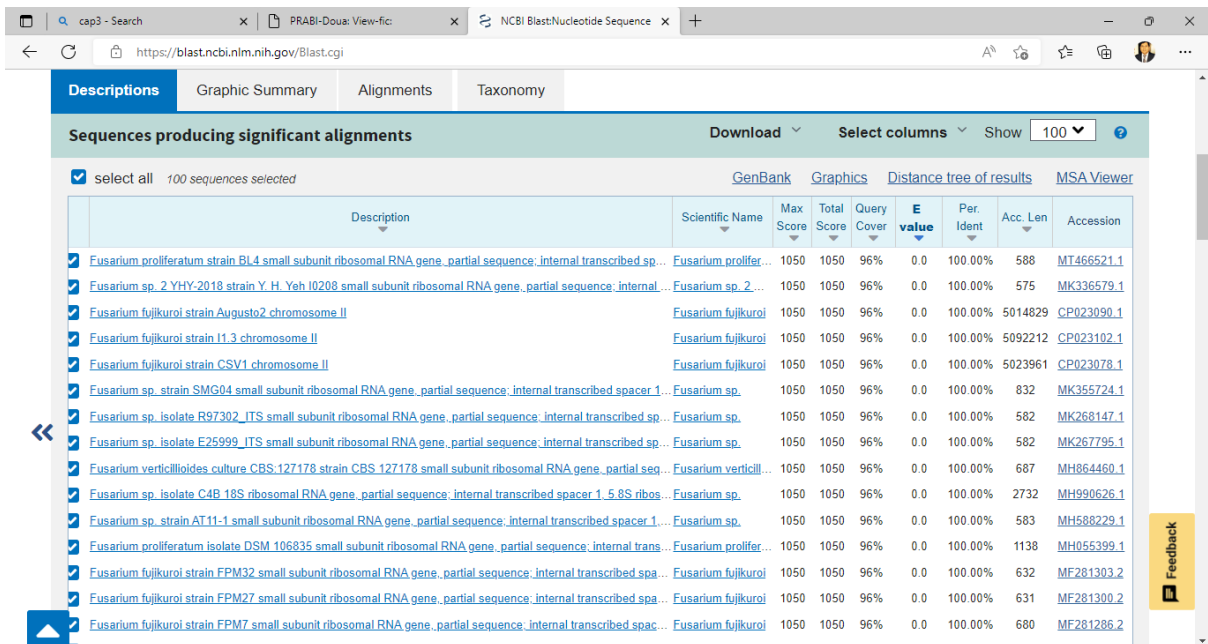


Figura 4A. Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 4 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

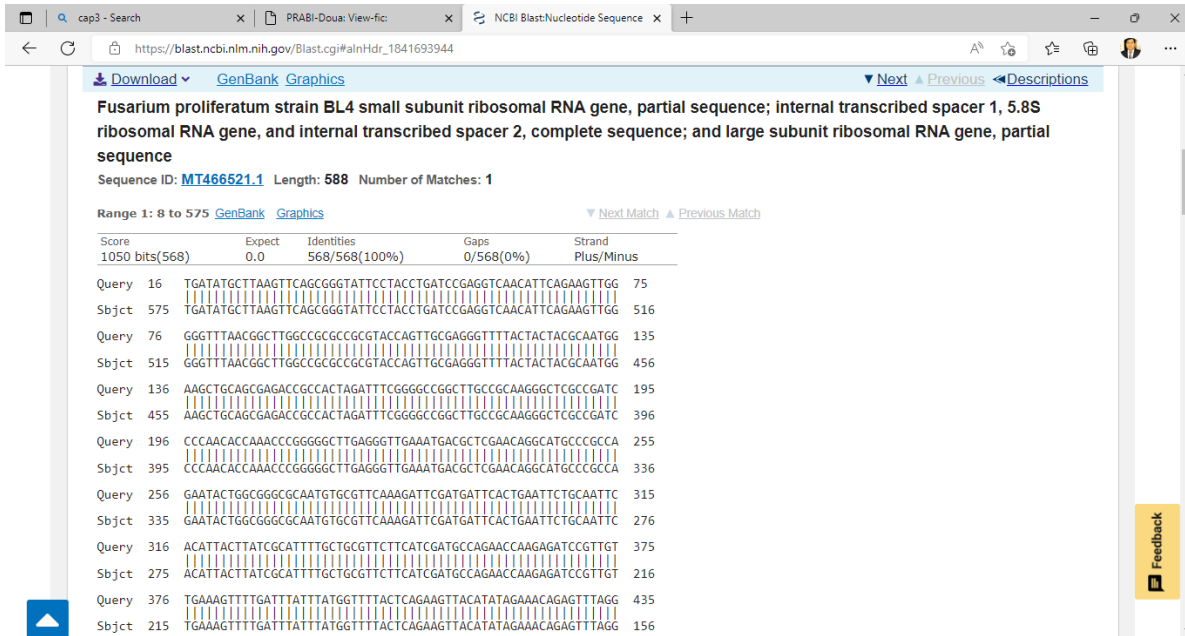


Figura 5A. Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 4 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MT466521.1 del GenBank.

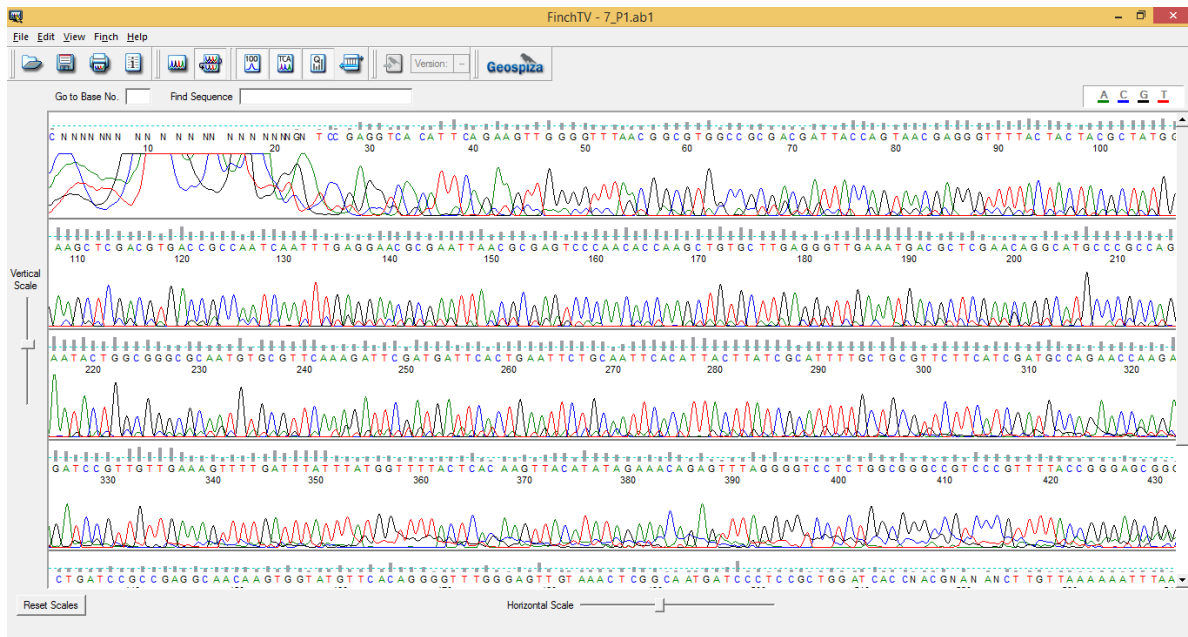


Figura 6A.- Electroferograma de la región ITS-ADN del aislado 6 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

| Description  | Scientific Name    | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per Ident | Acc. Len | Accession  |
|--|--------------------|-----------|-------------|-------------|---------|-----------|----------|------------|
| Fusarium oxysporum isolate DSM100409_FOX small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tr...      | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 1135     | MT453296.1 |
| Fusarium oxysporum F047 chromosome IV  | Fusarium oxyspo... | 994       | 2803        | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 4731052  | CP052041.1 |
| Fusarium oxysporum strain GFR32 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...    | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 584      | MT447537.1 |
| Fusarium oxysporum strain GFR24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...    | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 584      | MT447529.1 |
| Fusarium oxysporum voucher Akure_A2b small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcri...    | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 558      | MN650248.1 |
| Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici isolate CU-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; intern... | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 571      | MN219849.1 |
| Fusarium oxysporum isolate Gmranant_1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcri...   | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 578      | MN055701.1 |
| Fusarium oxysporum isolate BM14 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed sp...   | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 573      | MK910069.1 |
| Fusarium oxysporum strain 149 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...   | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 2056     | MK328120.1 |
| Fusarium oxysporum strain HDXG-0 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...     | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 568      | MK641475.1 |
| Fusarium oxysporum strain FA271-5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...    | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 559      | MK156762.1 |
| Fusarium oxysporum genomic DNA sequence contains ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, isolate Q...         | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 1419     | LT970803.1 |
| Fusarium oxysporum strain qss143 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...   | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 558      | MH290454.1 |
| Fusarium oxysporum strain qss142 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed s...   | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 572      | MH290453.1 |
| Fusarium oxysporum strain VKFO-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...     | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 865      | MG574894.1 |
| Fusarium oxysporum genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S...            | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 1406     | LT748253.1 |
| Fusarium oxysporum genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S...            | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 1419     | LT748249.1 |
| Fusarium oxysporum isolate 12PDA-Valki 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spac...    | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 559      | KX343146.1 |
| Fusarium oxysporum f. sp. diarthri partial 18S rRNA gene for 18S ribosomal RNA, strain Fod008                    | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 7875     | LT841236.1 |
| Fusarium oxysporum f. sp. diarthri partial 18S rRNA gene for 18S ribosomal RNA, strain Fod001                    | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 7875     | LT841222.1 |
| Fusarium oxysporum isolate AFIC35 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...     | Fusarium oxyspo... | 994       | 994         | 97%         | 0.0     | 98.74%    | 1057     | KU872840.1 |

Figura 7A. Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 6 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

**Fusarium oxysporum isolate DSM100409\_FOX small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**  
 Sequence ID: [MT453296.1](#) Length: 1135 Number of Matches: 1

Range 1: 29 to 583 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

| Score         | Expect | Identities   | Gaps      | Strand     |
|---------------|--------|--------------|-----------|------------|
| 994 bits(538) | 0.0    | 548/555(99%) | 0/555(0%) | Plus/Minus |

```

Query 1  TTCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAAGCGGGATTCTACCTGATCCGAGGTCAC 60
Sbjct 583 TTCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAAGCGGGATTCTACCTGATCCGAGGTCAC 524

Query 61  ATTCAGAAAGTTGGGGTTTAAACGGCTG6CCCGGACGATTACCAAGTAAACGAGGTTTACT 120
Sbjct 523 ATTCAGAAAGTTGGGGTTTAAACGGCTG6CCCGGACGATTACCAAGTAAACGAGGTTTACT 464

Query 121  ACTACGCTATG9AAAGCTCGACGTGACCGCCAACTCAATTTGAGGAACGCGAATTAAACGCGA 180
Sbjct 463 ACTACGCTATG9AAAGCTCGACGTGACCGCCAACTCAATTTGAGGAACGCGAATTAAACGCGA 404

Query 181  GTCCCAACACCAAGCTGTGCTTGAAGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGATGCCCCGACAG 240
Sbjct 403 GTCCCAACACCAAGCTGTGCTTGAAGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGATGCCCCGACAG 344

Query 241  AATACTG6CG6GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACCTGAAATCTGCAATTC 300
Sbjct 343 AATACTG6CG6GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACCTGAAATCTGCAATTC 284

Query 381  CATTACTTATCGCAATTTGCTGCGTCTTCTATCGATGCCAGAACCAGAGATCCGTTGTT 360
Sbjct 283 CATTACTTATCGCAATTTGCTGCGTCTTCTATCGATGCCAGAACCAGAGATCCGTTGTT 224

Query 361  GAAAGTTTGGATTTATTTATGGTTTACTCACAAGTTACATATAGAAAACAGAGTTAAGG 420
Sbjct 223 GAAAGTTTGGATTTATTTATGGTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAAACAGAGTTAAGG 164

Query 421  GTCCCTG6CG6GCGCTCCGTTTACCG6GAGCG6GCTGATCCGCGAGGCAACAAAGTG 480
Sbjct 163 GTCCCTG6CG6GCGCTCCGTTTACCG6GAGCG6GCTGATCCGCGAGGCAACAAAGTG 104

Query 481  GTATGTTCAAG6G6GTTTGGAGTTGTAACCTCG6CAATGATCCCTCCGCTGGATCACCN 540
Sbjct 103 GTATGTTCAAG6G6GTTTGGAGTTGTAACCTCG6CAATGATCCCTCCGCTGGATCACCA 44

Query 541  ACGNANACTTGTGTTA 555
Sbjct 43 ACGGAGACCTTGTGTTA 29
  
```

Figura 8A. Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 6 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MT453296.1 del GenBank.



Figura 9A. Electroferograma de la región ITS-ADN del aislado 10 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

| Description  | Scientific Name      | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Acc. Len | Accession  |
|--|----------------------|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------|------------|
| Fusarium sp. isolate FS8 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tr... | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 563      | MN759076.1 |
| Fusarium sp. isolate FS7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S...  | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 565      | MN759075.1 |
| Fusarium sp. isolate FS6 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tr... | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 563      | MN759074.1 |
| Fusarium sp. isolate FS5 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tr... | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 565      | MN759073.1 |
| Fusarium sp. isolate FS4 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tr... | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 564      | MN759072.1 |
| Fusarium sp. isolate FS3 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tr... | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 567      | MN759071.1 |
| Fusarium sp. isolate FS2 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tr... | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 563      | MN759070.1 |
| Fusarium sp. isolate FS1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tr... | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 563      | MN759069.1 |
| Fusarium proliferatum isolate JnUBD18 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene...    | Fusarium prolifer... | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 570      | MH392760.1 |
| Fusarium proliferatum strain FM-14 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and...   | Fusarium prolifer... | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 586      | MH010882.1 |
| Fusarium proliferatum internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal trans... | Fusarium prolifer... | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 558      | KY237800.1 |
| Fusarium sp. isolate DOF-15 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and intern...   | Fusarium sp.         | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 554      | KX611638.1 |
| Fusarium oxysporum isolate AC14 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and i...    | Fusarium oxyspo...   | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 524      | KX655586.1 |
| Fusarium oxysporum isolate ST-R-5 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and...    | Fusarium oxyspo...   | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 544      | KU258802.1 |
| Fusarium oxysporum isolate MT-S-3 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene an...     | Fusarium oxyspo...   | 822       | 822         | 96%         | 0.0     | 98.49%     | 547      | KU258799.1 |

Figura 10A. Alineamiento BLAST de la secuencia ITS-ADN del aislado 10 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

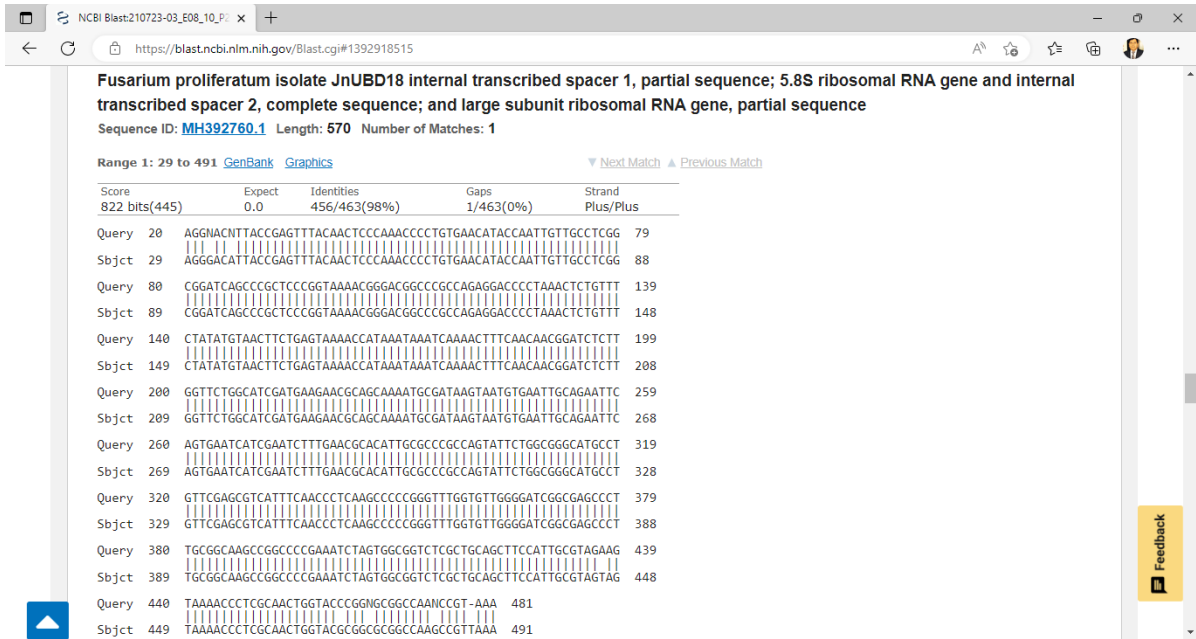


Figura 11A. Similitud de la secuencia de ITS-ADN del aislado 10 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MH392760.1 del GenBank.

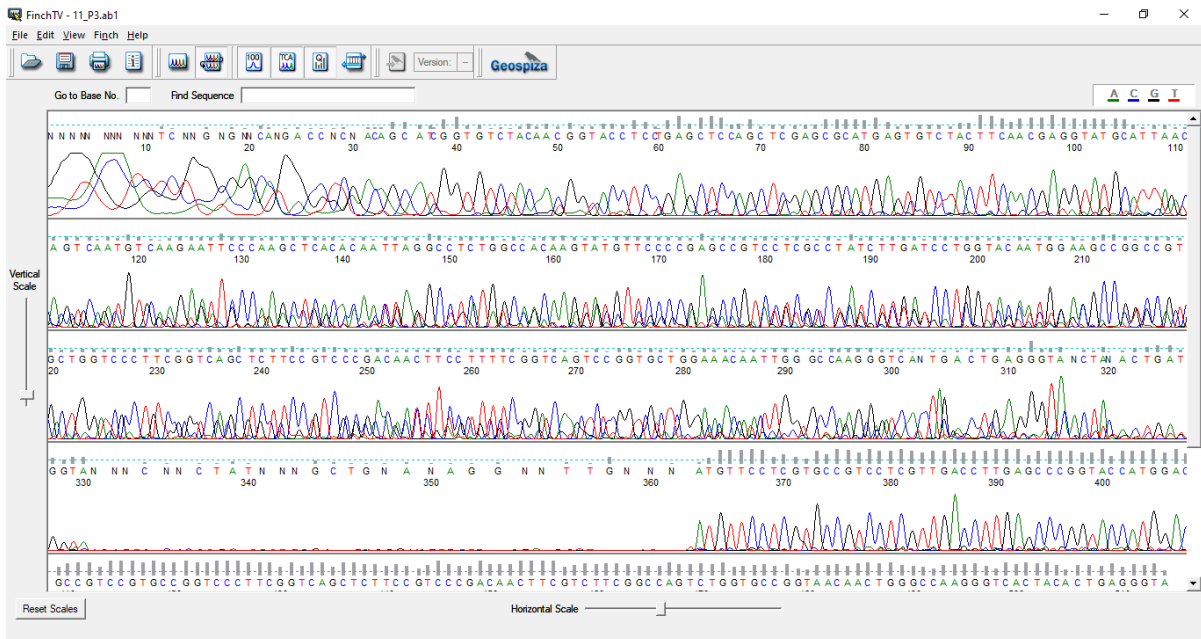


Figura 12A.- Electroferograma de la región  $\beta$ -tubulina del aislado 2 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.



| Description   | Scientific Name                         | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Acc. Len | Accession                  |
|---|---|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------|----------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum Fo47 chromosome IV</a>                               | <a href="#">Fusarium oxysporum Fo47</a> | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 4731052  | <a href="#">CP052041.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI43194 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451173.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI43195 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451172.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI42882 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451168.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI42118 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451155.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI42117 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451154.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI41920 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451152.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI32289 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451144.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI17577 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451137.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI12300 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451132.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI10605 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451127.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher VPRI10351 beta-tubulin gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451122.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher RBG6480 beta-tubulin gene, partial cds</a>   | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451115.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher RBG6466 beta-tubulin gene, partial cds</a>   | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451112.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium oxysporum voucher RBG6464 beta-tubulin gene, partial cds</a>   | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 538       | 753         | 67%         | 4e-148  | 94.49%     | 1590     | <a href="#">MN451111.1</a> |

Figura 13A. Alineamiento BLAST de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 2 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

**Fusarium oxysporum voucher VPRI43194 beta-tubulin gene, partial cds**  
 Sequence ID: [MN451173.1](#) Length: 1590 Number of Matches: 2

Range 1: 183 to 526 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

| Score         | Expect | Identities   | Gaps      | Strand    |
|---------------|--------|--------------|-----------|-----------|
| 538 bits(291) | 4e-148 | 326/345(94%) | 2/345(0%) | Plus/Plus |

```

Query 196 ATCGNGTAACCAACTCGGTGCTGCTTTCTGGCAAACCATGCCNMGCGAGCACGGCCCTCG 255
Sbjct 183 ATCAGGGTAACCAAAATCGGTGCTGCTTTCTGGCAAACCATCTCTGGCGAGCACGGCCCTCG 242

Query 256 ACAGCAATGGTGTCTACAACGGTACCTCTGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAGGTATAC 315
Sbjct 243 ACAGCAATGGTGTCTACAACGGTACCTCC-GAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAGGTCTAC 301

Query 316 TTCAACGAGGTATGCATTAAACAGTCAATGTCAAGAATTCCTCAAGCTCACACAAATAGGCC 375
Sbjct 302 TTCAACGAGGTATGCATTAAACAGTCAATGTCAAGAATTCCTCAAGCTCACACAACTAGGCC 361

Query 376 TCTGGCAACAAGTATGTTCCCGAGCCGCTCCTCGCCGATCTGGAGCCCTGGTACAATGGAA 435
Sbjct 362 TCTGGCAACAAGTATGTTCCCGAGCCGCTCCTCGTCTGATCTTGGAGCCCTGGTACAATGGAA 421

Query 436 GCCGGCCGTGCTGCTCCCTTCGGTCAGCTCTTCCGTCGGACAACCTCTTTTCGGTCAG 495
Sbjct 422 GCCGTCGTGCTGCTCCCTTCGGTCAGCTCTTCCGTCGGACAACCTCTTTTCGGTCAG 481

Query 496 TCCGGTGTGGAAACAATTGGGCCAAGGGTCANTG-ACTGAGGGT 539
Sbjct 482 TCCGGTGTGGAAACAATTGGGCCAAGGGTCACCTACCTGAGGGT 526
  
```

Range 2: 375 to 526 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#) [First Match](#)

| Score         | Expect | Identities   | Gaps      | Strand    |
|---------------|--------|--------------|-----------|-----------|
| 215 bits(116) | 8e-51  | 140/152(92%) | 0/152(0%) | Plus/Plus |

Figura 14A. Similitud de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 2 de *F. oxysporum* de La Ascensión, Aramberri, N.L. con la secuencia MN451173.1 del GenBank.



Figura 15A.- Electroferograma de la región  $\beta$ -tubulina del aislado 4 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

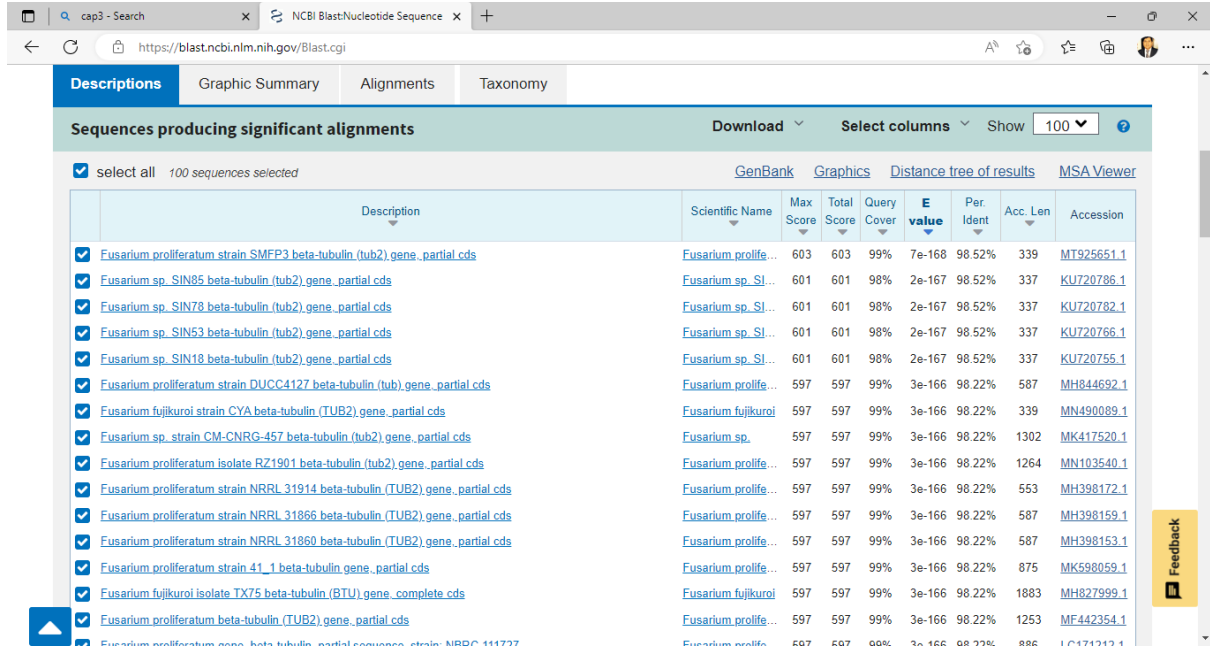


Figura 16A. Alineamiento BLAST de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 4 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.





Figura 17A. Similitud de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 4 de *F. proliferatum* de La Ascensi3n, Aramberri, N.L. con la secuencia MT925651.1 del GenBank.



Figura 18A.- Electroferograma de la regi3n  $\beta$ -tubulina del aislado 6 de *F. oxysporum* de La Ascensi3n, Aramberri, N.L.

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

| Description   | Scientific Name                         | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Acc. Len | Accession                  |
|---|---|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------|----------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate CH1977 beta-tubulin (BTU) gene, complete cds | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 584       | 584         | 71%         | 4e-162  | 97.09%     | 1885     | <a href="#">MH827997.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate NM157-2 beta-tubulin gene, complete cds      | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 584       | 584         | 71%         | 4e-162  | 97.09%     | 1745     | <a href="#">MT565433.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum Fo47 chromosome IV                                   | <a href="#">Fusarium oxysporum Fo47</a> | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 4731052  | <a href="#">CP052041.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI43194 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451173.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI43195 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451172.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI42882 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451168.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI42118 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451155.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI42117 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451154.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI41920 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451152.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI32289 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451144.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI17577 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451137.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI12300 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451132.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI10605 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451127.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher VPRI10351 beta-tubulin gene, partial cds     | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451122.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher RRG6480 beta-tubulin gene, partial cds       | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451115.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher RRG6466 beta-tubulin gene, partial cds       | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451112.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum voucher RRG6464 beta-tubulin gene, partial cds       | <a href="#">Fusarium oxysporum</a>      | 579       | 579         | 71%         | 2e-160  | 96.80%     | 1590     | <a href="#">MN451111.1</a> |

Figura 19A. Alineamiento BLAST de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 6 de *F. oxysporum* de La Ascensi3n, Aramberri, N.L.

Fusarium oxysporum isolate CH1977 beta-tubulin (BTU) gene, complete cds

Sequence ID: [MH827997.1](#) Length: 1885 Number of Matches: 1

[See 1 more title\(s\)](#) [See all Identical Proteins \(IPG\)](#)

Range: 1: 340 to 683 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

| Score         | Expect | Identities   | Gaps      | Strand    |
|---------------|--------|--------------|-----------|-----------|
| 584 bits(316) | 4e-162 | 334/344(97%) | 1/344(0%) | Plus/Plus |

```

Query 66 ATCGGNGTAACAACTCGGTGCTGCTTTCTGGCAAACCATNTCTGGCGAGCACGGCCTCG 125
Sbjct 340 ATCAGGGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTCTGGCAAACCATCTCTGGCGAGCACGGCCTCG 399

Query 126 ACAGCAATGGTGTCTACAACGGTACCTCCGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAGTGTACT 185
Sbjct 400 ACAGCAATGGTGTCTACAACGGTACCTCCGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAGTGTACT 459

Query 186 TCAACGAGGTATGCATTAAACAGTCAATGCCAAGAATCCCAAGCTCACACAAATAGGCCT 245
Sbjct 460 TCAACGAGGTATGCATTAAACAGTCAATGCCAAGAATCCCAAGCTCACACAACTAGGCCT 519

Query 246 CTGGCAACAAGTATGTTCCCGAGCCGCTCTCGTGCATCTTGAGCTGGTACCATGGACG 305
Sbjct 520 CTGGCAACAAGTATGTTCCCGAGCCGCTCTCGTGCATCTTGAGCTGGTACCATGGACG 579

Query 306 CCGTCCGTGCTGGTCCCTTCGGTCAGCTCTCCGTCGCCGACAACTCTTTTCGGTCAGT 365
Sbjct 580 CCGTCCGTGCTGGTCCCTTCGGTCAGCTCTCCGTCGCCGACAACTCTTTTCGGTCAGT 639

Query 366 CCGGTGCTGGAACAATTGGGCCAAGGGTCACTGN-CTGAGGGT 408
Sbjct 640 CCGGTGCTGGAACAATTGGGCCAAGGGTCACTACACTGAGGGT 683

```

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Next](#) [Previous](#) [Descriptions](#)

Fusarium oxysporum isolate NM157-2 beta-tubulin gene, complete cds

Sequence ID: [MT565433.1](#) Length: 1745 Number of Matches: 1

Figura 20A. Similitud de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 6 de *F. oxysporum* de La Ascensi3n, Aramberri, N.L. con la secuencia MH827997.1 del GenBank.

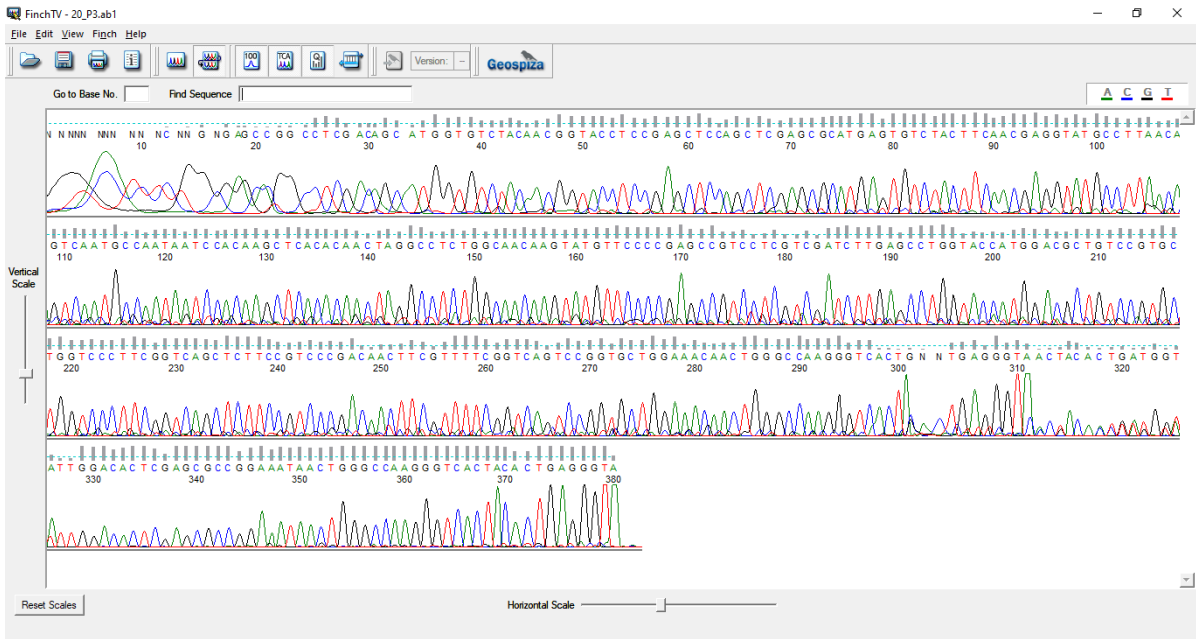


Figura 21A.- Electroferograma de la región  $\beta$ -tubulina del aislado 10 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

cap3 - Search | PRABI-Doua: View-fic | NCBI Blast:Nucleotide Sequence | +

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

| Description   | Scientific Name                     | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per Ident | Acc. Len | Accession                  |
|---|-------------------------------------|-----------|-------------|-------------|---------|-----------|----------|----------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain SMFP3 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>        | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 597       | 730         | 86%         | 5e-166  | 99.39%    | 339      | <a href="#">MT925651.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium sp. SIN106 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>                       | <a href="#">Fusarium sp. SI...</a>  | 595       | 655         | 76%         | 2e-165  | 99.39%    | 337      | <a href="#">KUJ20793.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium sp. SIN85 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>                        | <a href="#">Fusarium sp. SI...</a>  | 595       | 725         | 85%         | 2e-165  | 99.39%    | 337      | <a href="#">KUJ20786.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium sp. SIN78 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>                        | <a href="#">Fusarium sp. SI...</a>  | 595       | 725         | 85%         | 2e-165  | 99.39%    | 337      | <a href="#">KUJ20782.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium sp. SIN53 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>                        | <a href="#">Fusarium sp. SI...</a>  | 595       | 725         | 85%         | 2e-165  | 99.39%    | 337      | <a href="#">KUJ20766.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium sp. SIN18 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>                        | <a href="#">Fusarium sp. SI...</a>  | 595       | 725         | 85%         | 2e-165  | 99.39%    | 337      | <a href="#">KUJ20755.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain DUC4127 beta-tubulin (tub) gene, partial cds</a>       | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 587      | <a href="#">MH844692.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium sp. strain CM-CNRG-457 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>           | <a href="#">Fusarium sp.</a>        | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 1302     | <a href="#">MK417520.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum isolate RZ1901 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds</a>      | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 1264     | <a href="#">MN103540.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain NRRL 66442 beta-tubulin (TUB2) gene, partial cds</a>   | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 593         | 69%         | 6e-165  | 98.80%    | 578      | <a href="#">MH398224.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain NRRL 31914 beta-tubulin (TUB2) gene, partial cds</a>   | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 553      | <a href="#">MH398172.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain NRRL 31866 beta-tubulin (TUB2) gene, partial cds</a>   | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 587      | <a href="#">MH398159.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain NRRL 31860 beta-tubulin (TUB2) gene, partial cds</a>   | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 587      | <a href="#">MH398153.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain 41_1 beta-tubulin gene, partial cds</a>                | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 875      | <a href="#">MK598059.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum strain KUY2001B-2-7 beta-tubulin (TUB2) gene, partial cds</a> | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 593         | 69%         | 6e-165  | 98.80%    | 584      | <a href="#">MH888082.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium fujikuroi isolate TX75 beta-tubulin (BTU) gene, complete cds</a>           | <a href="#">Fusarium fujikuroi</a>  | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 1883     | <a href="#">MH827999.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Fusarium proliferatum beta-tubulin (TUB2) gene, partial cds</a>                     | <a href="#">Fusarium prolife...</a> | 593       | 655         | 77%         | 6e-165  | 98.80%    | 1253     | <a href="#">MF442354.1</a> |

Feedback

Figura 22A. Alineamiento BLAST de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 10 de *F. proliferatum* de La Ascensión, Aramberri, N.L.

cap3 - Search | PRABI-Doua: View-fic | NCBI Blast:Nucleotide Sequence

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr\_2029085369

### Fusarium proliferatum strain SMFP3 beta-tubulin (tub2) gene, partial cds

Sequence ID: [MT925651.1](#) Length: 339 Number of Matches: 3

Range 1: 1 to 328 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

| Score         | Expect | Identities   | Gaps      | Strand    |
|---------------|--------|--------------|-----------|-----------|
| 597 bits(323) | 5e-166 | 326/328(99%) | 0/328(0%) | Plus/Plus |

```

Query 71  GGTAAACCATNTCGGTGCTGCTTTCTGGCAAACCATCTGGCGAGCACGGCCTCGACAGC 130
Sbjct 1    GGTAAACCAATCGGTGCTGCTTTCTGGCAAACCATCTGGCGAGCACGGCCTCGACAGC 60

Query 131 AATGGTGTCTACAACGGTACCTCCGAGCTCCAGCTCGAGCCATGAGTGTCTACTTCAAC 190
Sbjct 61  AATGGTGTCTACAACGGTACCTCCGAGCTCCAGCTCGAGCCATGAGTGTCTACTTCAAC 120

Query 191  GAGGTATGCCTTAACAGTCAATGCCAATAATCCACAAGCTCACACAACATAGGCCTCTGGC 250
Sbjct 121  GAGGTATGCCTTAACAGTCAATGCCAATAATCCACAAGCTCACACAACATAGGCCTCTGGC 180

Query 251  AACAAAGTATGTTCCCGAGCCGTCTCGTCTGATCTTGAGCCTGGTACCATGGACGCTGTC 310
Sbjct 181  AACAAAGTATGTTCCCGAGCCGTCTCGTCTGATCTTGAGCCTGGTACCATGGACGCTGTC 240

Query 311  CGTGCTGGTCCCTTCGGTCAGCTCTTCCGTCGCCACAACCTTCGTTTTTCGGTCAGTCCGGT 370
Sbjct 241  CGTGCTGGTCCCTTCGGTCAGCTCTTCCGTCGCCACAACCTTCGTTTTTCGGTCAGTCCGGT 300

Query 371  GCTGGAACAACCTGGGCCAAGGGTCACT 398
Sbjct 301  GCTGGAACAACCTGGGCCAAGGGTCACT 328

```

Range 2: 1 to 47 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#) [First Match](#)

| Score         | Expect | Identities | Gaps     | Strand    |
|---------------|--------|------------|----------|-----------|
| 71.3 bits(38) | 1e-07  | 44/47(94%) | 0/47(0%) | Plus/Plus |

```

Query 3  GGTAAACCAATCGGTGCTGCTTTCTGGCAGACATTTTCGGCGAGCA 49

```

Feedback

Figura 23A. Similitud de la secuencia  $\beta$ -tubulina del aislado 10 de *F. proliferatum* de La Ascensi3n, Aramberri, N.L. con la secuencia MT925651.1 del GenBank.