

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISION DE AGRONOMÍA



**Especies de Fusarium Causantes de la Roña de la  
Espiga de Trigo (*Triticum aestivum* L) en Cinco  
Localidades de México**

POR:

SATURNINO ORTEGA HERNANDEZ

**TESIS**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PARASITOLOGÍA

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.  
ABRIL DEL 2002

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**



Especies de *Fusarium* Causantes de la Roña de la Espiga de Trigo (*Triticum aestivum* L) en Cinco Localidades de México

**POR:  
SATURNINO ORTEGA HERNANDEZ**

**TESIS**

**QUE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PARASITOLOGÍA**

**APROBADO POR:**

---

**DR. GASPAR MARTÍNEZ ZAMBRANO  
Presidente**

---

**DR. ABIEL SANCHEZ ARISPE  
Sinodal**

---

**ING. MODESTO COLÍN RICO  
Sinodal**

---

**DR. REYNALDO ALONSO VELASCO  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

**Buenavista Saltillo, Coahuila, México.  
Abril del 2002**

## DEDICATORIA

A Dios nuestro señor, gracias por permitirme alcanzar una meta mas en el camino de la vida, perdon por las fallas, y por favor no te separes de mi y de las personas que me rodean.

Con el eterno y sincero agradecimiento a mis padres:

Saturnino Ortega  
Adela Hernandez

Que con mucho sacrificio me brindaron su apoyo para culminar mi carrera, y que ahora ven logrado con satisfacción, no encuentro palabras para agradecerles su amor.

A mis hermanos:

Martha, Clara, Ma. De la Luz (□), Carlos, Simón, Nazario, José Luis, Gumesindo, Reyes, Adrián (□) y a Erasmo B. Sobre todo con mucho cariño a todos mis sobrinos habidos y por haber,

Ami querida esposa :

Claudia Rodríguez

Por todo tu amor, apoyo y comprensión y sobre todo por que en ti encontré la felicidad.

A mis hijos:

Guadalupe  
Adrián  
Samara

Con todo mi amor y cariño, y son un buen motivo para superarme y darles un buen ejemplo a seguir.

A mis suegros:

Jesús Rodríguez  
Rosario Valenzuela

Que con su confianza y entusiasmo me motivaron a salir adelante.

A mis cuñadas y cuñados:

Juana, Roció, Esther, Patricia, Paty P, Lucio, Silverio, Armando, Abel, Cirilo, José Luis,  
Gerardo.

Por su apoyo brindado y por todas las atenciones que para mi han tenido.

Gracias nuevamente por tener en ustedes a mis mejores amigos, les dedico todo éste esfuerzo y les deseo lo mejor en la vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autonoma Agraria “Antonio Narro”

Que me permitio continuar mi carrera.

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), por todas las facilidades brindadas para la realización de la investigación.

A la Dra, Lucy Gilchrist, por el apoyo brindado.

A Carmen Velázquez, por su apoyo en la realización del presente trabajo.

Al Mc. Roberto Muñoz, por su valiosa amistad y apoyo durante este trabajo.

Al Dr. Gaspar Martinez, por su amistad y apoyo incondicional para la culminación de este trabajo.

Al Mc. Abiel Sánchez, por su amistad, por sus oportunas sugerencias y apropiadas correcciones al presente trabajo.

Al Ing. Modesto Colin, por su valiosa amistad y desinteresada ayuda.

A Francisco López, por su apoyo durante las fases de invernadero, y valiosa amista y desinteresada ayuda.

A la Ing. Rosa María López, por su apoyo durante la fase de laboratorio.

Al personal del laboratorio de Fitopatología del CIMMYT, a Monica Preciado, María Elena Lemus, Vicente Miranda, José Luis Miranda.

A los compañeros de la U.A.A.N. Y a todos aquellos que no menciono.

## INDICE

INDICE DE CUADROS.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	8
II. REVISION DE LITERATURA.....	12
<b>2.1.- Origen del trigo y Distribución en México.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.- Importancia:.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.1.- Del cultivo .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.2.- De la enfermedad .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.3.- Pérdidas económicas.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3.- Características del Patógeno.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.1.- Clasificación taxonómica.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.2.- Ciclo de vida del hongo.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3.3.- Producción de Toxinas .....</b>	<b>23</b>
<b>2.4.- Postulados de Koch .....</b>	<b>26</b>
<b>2.5.- Métodos de inoculación para Fusarium.....</b>	<b>27</b>
<b>2.5.1.- Inoculación de espiga individual (Método de algodón) .....</b>	<b>27</b>
<b>2.5.2.- Inoculación en masa ( Método de aspersión).....</b>	<b>27</b>
<b>2.5.3.- Inoculación con jeringa .....</b>	<b>28</b>
<b>2.5.4.- Inoculación con grano infectado.....</b>	<b>28</b>
<b>2.6.-Evaluación de los Síntomas .....</b>	<b>28</b>

III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	30
<b>3.1.- Colecta de Muestras</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2.- Aislamientos</b> .....	<b>30</b>
<b>3.3.- Purificación de los aislamientos</b> .....	<b>30</b>
<b>3.4.- Cultivos monospóricos</b> .....	<b>31</b>
<b>3.5.- Conservación de cepas</b> .....	<b>31</b>
<b>3.6.- Identificación de las cepas</b> .....	<b>31</b>
<b>3.7.- Incremento y concentración del inóculo</b> .....	<b>31</b>
<b>3.8.- Pruebas de Patogenicidad en Invernadero</b> .....	<b>32</b>
<b>3.8.1.- Siembra de genotipos</b> .....	<b>32</b>
<b>3.8.2.- Inoculación por el método de algodón</b> .....	<b>33</b>
<b>3.8.3.- Evaluación</b> .....	<b>33</b>
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	35
<b>4.1.-LABORATORIO</b> .....	<b>35</b>
RESUMEN.....	39
V.- CONCLUSIONES .....	41
VI. BIBLIOGRAFIA .....	43
VII. APENDICE .....	53



## INDICE DE CUADROS

		PAG
<b>CUADRO 1</b>	<b>Frecuencia (%) de especies de <i>Fusarium</i> en trigo harinero, trigo duro y triticale en las localidades de Patzcuaro y Toluca en 1989.</b>	<b>10</b>
<b>CUADRO 2</b>	<b>Efectos tóxicos de las micotoxinas y signos clínicos en animales.</b>	<b>20</b>
<b>CUADRO 3</b>	<b>Escala modificada para evaluación de Fusariosis de la espiga (<i>Fusarium graminearum</i>) en campo e invernadero.</b>	<b>23</b>
<b>CUADRO 4</b>	<b>Genotipos usados en las pruebas de patogenicidad y su caracterización de resistencia.</b>	<b>27</b>
<b>CUADRO 5</b>	<b>Especies del genero <i>Fusarium</i> aisladas de semillas de trigo procedentes de cinco localidades de México.</b>	<b>30</b>
<b>CUADRO 6</b>	<b>Prueba de Tukey (<math>\alpha= 0.05</math>) para las variables localidad, variedad, y cepa.</b>	<b>34</b>
<b>CUADRO 7</b>	<b>Comparación de medias para la variable Variedad, y su reacción esperada y encontrada.</b>	<b>34</b>

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo del trigo, se extiende ampliamente en muchas partes del mundo por ser una especie que tiene un amplio rango de adaptación y por su gran consumo en muchos países, de tal manera que en la actualidad ocupa el primer lugar entre los cuatro cereales de mayor producción mundial (trigo, arroz, maíz y cebada) (Milton, 1983). El consumo del cereal es fundamental en la dieta humana y consumo animal, también es importante por su contenido energético que es de 337 kilocalorías, superando al fríjol que contiene 332. En cuanto al contenido de proteínas, el trigo contiene 10.6 gr. superior al del arroz que posee 7.4 gr.

El trigo en México, constituye uno de los principales granos alimenticios, además de maíz, fríjol y arroz. Estos cultivos son un componente esencial en la alimentación de la población mexicana. La mayor producción de trigo se localiza en las regiones del noroeste (Baja California, Sonora y Sinaloa) y Bajío (Guanajuato, Jalisco y Michoacán) (SAGAR, 1997).

La Economía Agrícola mundial es afectada por pérdidas causadas por diversos organismos, causales de enfermedades entre los cuales figuran hongos, bacterias, virus y nemátodos. Esto puede ocurrir en países pobres, así como en países con grandes recursos científicos y técnicos (Romero, 1993).

La roña o tizón de la espiga de trigo es una enfermedad de gran importancia en regiones de climas cálidos y húmedos del mundo (Dubin *et al.*, 1997); donde puede afectar cereales como trigo, cebada, avena y centeno (Cassini, 1981). Los cultivos de maíz y trigo en América Latina sufren daños considerables como resultado de la enfermedad genéricamente conocida como fusariosis,

causada por el hongo *Fusarium graminearum* Schw. (telomorfo: *Gibberella zeae*) (Trenholm *et al.*, 1990).

La roña o tizón de la espiga del trigo es una de las mayores limitantes para la producción de este cereal en los Valles Altos y húmedos de México; cómo en los estados de Michoacán, Jalisco, y el Estado de México, que son áreas potencialmente productoras de trigo (Ireta, 1986 b.).

En el Oriente y Medio-Oeste de Estados Unidos la fusariosis ha sido un problema en los cultivos de trigo y cebada, trayendo como consecuencia pérdidas económicas (Dubin *et al.*, 1997). La Fusariosis está asociada con diferentes especies del genero *Fusarium*, entre las que destacan; *F. graminearum*, *F.culmorum*, *F.avenaceum*, *F.poa*e y *Microdochium nivale* (*Monographella nivalis*) (Parry *et al.*, 1995). Investigadores en Inglaterra señalan que *F.graminearum* depende nutricionalmente de los compuestos químicos que contienen nitrógeno, colina y betaína. Estos compuestos son encontrados en anteras y en el ovario de la flor. Estas sustancias promueven el crecimiento acelerado del hongo, el cual es fundamental para la infección (Galich, 1989).

En Sud-Africa se aislaron de granos infectados 6 especies de *Fusarium*, de las cuales el 48.4% de los aislamientos comprendió a la especie *F.graminearum*, 36.3% *F.moniliforme*, 9.7% *F.equiseti*, 3.2% *F.chlamydosporum*, 1.6% *F.subglutinans* y el 0.8% *F.oxysporum* (Boshoff *et al.*, 1998).

En Croacia, de 4656 muestras de granos infectados analizados, se aislaron diferentes especies de hongos, las que correspondieron a los generos *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Epicocum*, *Trichothecium* y *Rhizopus*, correspondiendo en su total a 91.66% y el 1.84% a especies del genero *Fusarium* (Draženka *et al.*, 1998).

En Paraguay, en el año 1972 se redujo apreciablemente la superficie, el rendimiento y la producción global del trigo como consecuencia de las intensas epifitias provocadas por la septoriosis (*Septoria nodorum*), la fusariosis (*Fusarium graminearum*) y la helmintosporiosis

(*Helminthosporium sativum*). En ese año la producción sufrió una disminución del 70%, (Viedma, 1989).

Del mismo modo, durante 1978 en Argentina, las pérdidas de rendimiento se estimaron en 30% y en 1985 se estimó el 10% (Galich, 1989).

En Hungría la fusariosis de la espiga es muy importante por las pérdidas en rendimiento así como también por los granos infectados que son consumidos por los animales y el hombre (Aponyi, 1998).

Las micotoxinas son compuestos químicos tóxicos producidos por algunos hongos, siendo las más importantes la zearalenona y un grupo de compuestos afines llamados tricotecenos, que incluye la vomitoxina, la toxina T-2 y la toxina HT-2 (Trenholm *et al.*, 1990).

El género *Fusarium* es uno de los más prolíficos en la producción de micotoxinas, especialmente cuando ataca cereales como maíz, trigo, arroz, cebada y sorgo. Estos metabolitos tóxicos, afectan la salud humana y animal (Ireta y Gilchrist, 1994).

Los tricotecenos se dividen en dos categorías: Grupo "A", a este grupo pertenecen la Toxina T-2, T-2 tetraol, neosolaniol, diacetoxicirpenol (DAS) y Acetil T-2 como las más tóxicas, los que producen irritación dérmica, náuseas, vómitos, diarreas, abortos y alteraciones hematológicas (leucopenia). Actúan como carcinogénicos y pueden llegar a ocasionar la muerte en el hombre y en otros animales.

Las toxinas correspondientes al grupo "B" son deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV) y fusarenona-x (FUS-X), como las más importantes. Estas originan alteraciones digestivas sin llegar a producir la muerte, pero de hallarse juntas DON y NIV la toxicidad se asienta (Yoshizawa y Morooka. 1974, Ueno.1983, citado por Lori *et al.*, 1992).

Con base en los antecedentes expuestos se plantea el presente trabajo de investigación con los siguientes objetivos:

### **Objetivos**

- Conocer los agentes causales de la roña del trigo en cinco localidades de México.
- Conocer la capacidad patogénica de las cepas de *Fusarium spp.* aisladas de las diferentes localidades.

### **Hipótesis**

Bajo la hipótesis de que en México, el tizón de la espiga es causado por diferentes especies del genero *Fusarium*.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1.- Origen del trigo y Distribución en México.

El trigo, es una de las primeras plantas domésticas en la historia de la humanidad, pertenece a la familia de las *Gramíneas*, al género *Triticum* y especie *aestivum* (INEGI, 1997).

Se cree que el trigo ya se cultivaba 7,000 años antes de Cristo, y los descubrimientos arqueológicos permiten indicar su importancia en las civilizaciones como la Egipcia, Griega y Persa. Aunque sigue siendo polémico donde se originó, la teoría más aceptada es la que sostiene que tuvo su origen en el área del Cáucaso, Turquía e Irak, de donde se extendió a Europa (Camacho, 1997)

La introducción de trigo hacia América la realizaron los colonizadores, los cuales primeramente lo llevaron al norte del continente; existiendo registros de su producción y venta en Massachusetts y Virginia desde los primeros años del siglo XVII (SAGAR, 1997).

En México, la historia cuenta que el trigo cultivado por primera vez provino de tres o cuatro granos que fueron encontrados por unos esclavos de Cortés (Camacho, 1997) así mismo, se considera que para el año 1530 ya se sembraban granos de trigo de diferente origen (SAGAR, 1997).

La producción de trigo en México se localiza en su mayor parte en las regiones Noroeste (Baja California, Sonora y Sinaloa) y Bajío (Guanajuato, Jalisco y Michoacán), aunque su cultivo se desarrolla en más de 20 estados del país (SAGAR, 1997).

### 2.2.- Importancia:

#### 2.2.1.- Del cultivo

El trigo es el cereal cultivado más importante del mundo, su importancia se deriva de las propiedades físicas y químicas que contiene (Milton, 1983). Siendo una especie que tiene un amplio

rango de adaptabilidad, de tal manera que es uno de los principales cereales consumidos en el mundo dentro de los cinco cereales mas importantes, trigo, arroz, maíz, cebada y sorgo (Robles, 1983).

El trigo en México es el cereal que sigue ganando preferencia en la alimentación humana, además de ser el cultivo anual más tecnificado del país, como resultado de la generación de la tecnología eficiente de producción. (Rodríguez, 1988). Por lo cual la importancia radica en lo siguiente a) por la variedad de alimentos que se obtienen; b) por ser parte importante de la dieta alimenticia de la población y; c) por ser materia prima elemental de la industria harinera (SAGAR, 1997).y la creciente preferencia por los productos alimenticios elaborados con trigo, es consecuencia de la mayor cantidad de sus productos industrializados, así como de una mejor calidad de éstos. El consumo creciente de pan, galletas, pastelillos, pastas para sopas, tortillas, harinas preparadas para pasteles, germen de trigo, etc. es una de las manifestaciones del mayor consumo del cereal (Rodríguez, 1988).

Durante el periodo de 1991-95 se sembró en el mundo un promedio de 620 millones 354 mil hectáreas con los cinco principales cereales. Al trigo se le dedicó la mayor superficie de siembra, con un promedio anual de 221 millones 44 mil hectáreas (35.6%); seguido por el arroz (23.7%), maíz (21.7%), cebada (11.8%) y sorgo (7.2%) (FAO, 1991-95 citado por Camacho 1997).

Entre 1990 y 1995, la producción de trigo en México, fue de una superficie anual promedio de 968 mil hectáreas, sembradas en los estados de Sonora, Guanajuato, Sinaloa, Baja California y Michoacán; los que sumaron el 65% de la superficie dedicada anualmente al cultivo de trigo. En particular, Sonora es el que dedicó una mayor área a su cultivo, siendo ésta de un promedio anual de 250 mil hectáreas, es decir, casi un 26% de la superficie destinada a la producción de este cereal en México (SAGAR, 1997)

### 2.2.2.- De la enfermedad

Desde 1891 la Fusariosis de la espiga ha sido una enfermedad importante en regiones cálido-húmedas del mundo (Ireta y Gilchrist, 1994)

La Fusariosis de la espiga, es la enfermedad causada por diferentes especies del género *Fusarium* en trigo y otros cereales de grano pequeño, causando también pudriciones de raíz (Zillinsky, 1984).

La enfermedad está presente en el norte-centro de Europa, Asia, y principalmente en China y Japón donde la enfermedad se considera endémica. La Fusariosis también se presenta en la zona costera del norte de África, norte de Estados Unidos y sur de Canadá; en los altiplanos de México; así como en Sudamérica, especialmente en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay (Ireta y Gilchrist, 1994; Kohli, 1989; Saari y Wilcoxon, 1974).

La Fusariosis ha sido relacionada con diferentes especies del género *Fusarium* entre ellas: *F. culmorum*; *F. avenaceum* (*G. avenaceae*); *F. graminearum* (*G. zae* Syn. *G. subinettii*); *F. poae* y *Microdochium nivale*. Estas y otras especies atacan a diferentes cereales de granos pequeños como: trigo, cebada, avena, centeno y triticale (Parry *et al.*, 1995).

Snijders y Perkowski (1990), mencionan que en los países bajos y en algunas regiones del centro de Europa se considera a *F. culmorum* como la especie más importante, causante de la Fusariosis.

En Holanda, se publicó que dos especies afectan las espigas de trigo, *F. culmorum* y *F. graminearum*, invadiendo directamente al grano, reduciendo la producción y la calidad en proteínas (Snijders, 1990 cita a Bechtel *et al.*, Meyer *et al.* 1986). También en diferentes estudios realizados en Minnesota E.E. U.U. en los años de 1984, 1985 y 1986, fueron colectados granos de trigo de primavera de 24 estaciones agrícolas y de los aislamientos obtenidos se identificaron 18

especies de *Fusarium*, donde *F. graminearum* comprendió el 75%, *F. poae* el 17%, y otras especies, (*F. equiseti*, *F. sporotrichioides*, *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. moniliforme*, *F. avenaceum*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *F. sambucinum*, *F. tricinctum* y *F. crookwellense*) de 1 a 2% (Wilcoxson *et al.*, 1988).

En Croacia, se analizaron 9 cultivos, y se tomaron 4,658 muestras de grano, donde se aislaron con mayor frecuencia a 5 generos de hongos; *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Trichothecium* y *Rhizopus*. De los aislamientos de las semillas se identificaron el 0.1 a 1.84% de especies del genero *Fusarium*, siendo los más importantes, parásitos de la semilla de trigo y quedando *Alternaria* como el principal saprófito (Draženka *et al.*, 1998). Sin embargo, en un estudio realizado sobre 2,450 muestras de espigas infectadas provenientes de 21 provincias de China, se pudo aislar e identificar a 18 especies del genero *Fusarium* que demostraron poseer baja agresividad sobre los trigos analizados (Liu, 1985). En otros estudios realizados en China, para determinar los hongos causantes del tizón de la espiga del trigo, se realizaron diferentes aislamientos y se identificaron hasta 18 especies de *Fusarium*: (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. camptoceras*, *F. moniliforme*, *F. subglutinans*, *F. longipes*, *F. equiseti*, *F. compactum*, *F. sambucinum*, *F. graminum*, *F. avenaceum*, *F. tricinctum*, *F. acuminatum*, *F. nivale*, *F. sporotrichoides*, *F. clamydosporum*, *F. semitectum*, *F. oxysporum* y *F. solani*) (Wang y Miller, 1988).

Las áreas productoras de trigo de temporal en México, donde la incidencia de la roña es muy alta son la Sierra Tarasca, la región de los Altos y la Sierra del Tigre y Tapalpa en Jalisco, el valle de Toluca y Jicotepec, en el Estado de México. En algunos años también se presenta una incidencia de importancia relativa en los Valles Altos de Tlaxcala e Hidalgo. La presencia de esta enfermedad ha aumentado en los últimos años, debido quizá al incremento del área sembrada con cereales y a la rotación de cultivos maíz-trigo o cebada. El tizón de la espiga se ha presentado hasta en el 60% a nivel poblacional y del 10 al 15% a nivel individual o de espiga. Estas incidencias producen un daño

moderado en el rendimiento, aunque cuando se presenta en variedades susceptibles puede disminuir la producción comercial hasta en un 17% (Ireta, 1986 b.).

El trigo en México se cultiva durante la estación de lluvias en una superficie de 40 mil hectáreas; el exceso de humedad y el clima templado a frío favorecen la presencia de la enfermedad. Algunas de las principales zonas productoras de trigo, donde la incidencia de la fusariosis de la espiga del trigo es muy alta, corresponden a: La Sierra Tarasca en Michoacán, los Altos de Jalisco, la Sierra del Tigre en el Estado de Jalisco, y el Valle de Toluca en el Estado de México (Ireta, 1986 b.). Algunas especies causantes de la fusariosis descritas en dos zonas de México en los cultivos de trigo harinero, trigo duro y triticale, se muestran en el Cuadro 1.

**Cuadro 1. Frecuencia (%) de especies de Fusarium en trigo harinero, trigo duro y triticale en las localidades de Pátzcuaro y Toluca en 1989.**

Especies	Toluca			Pátzcuaro			
	TH	TD	TCL	TH	TD		
<i>F. graminearum</i>	28.2	40.7	(59.2)*	91.5	95.1	64.8	(74.4)*
<i>F. equiseti</i>	4.2	12.3	(0.9)	0.9	2.5	6.5	(1.4)
<i>F. avenaceum</i>	47.9	19.8	(32.7)	5.7	1.2	20.4	(9.6)
<i>F. nivale</i>	19.7	27.2	(3.2)	1.9	1.2	8.3	(----)

Ireta y Gilchrist, 1994

\*Nivel de infección durante 1988

TH=Trigo harinero TD=Trigo duro TCL=Triticale

### 2.2.3.- Pérdidas económicas

A nivel mundial, la fusariosis de la espiga causa serios daños económicos, ya sea por la pérdida de rendimientos en grano o el deterioro de su calidad (Liu, 1985).

Una infección de roña causada por *Fusarium* puede reducir el tamaño y peso del grano, causando reducción en el rendimiento. La invasión de la espiga por *Fusarium* destruye los gránulos de almidón, el almacenamiento de proteínas y paredes celulares, resultando en un producto de calidad pobre (Snijders, 1989; cita a Meyer *et al.*, 1986).

En los Países Bajos se registró una incidencia de la enfermedad en aproximadamente 66.6% de los campos de agricultores, con una severidad media del 1.9% de espiguillas infectadas durante el período 1979-1985. En los casos más severos, redujo el rendimiento del grano hasta en un 50% (Snijders, 1989). Suty y Mauler-Machnick, (1996) mencionan que en Alemania, de acuerdo a las condiciones favorables que existen para el desarrollo del patógeno, éste puede disminuir la producción de trigo hasta en un 50%.

En Estados Unidos, la Fusariosis fue encontrada en 31 de 40 estados, desde 1917, con pérdidas estimadas en 288,320 toneladas esto fue inicialmente en Ohio, Indiana e Illinois. Posteriormente en 1982, la Fusariosis o roña causó pérdidas estimadas en 4% de la producción total equivalente a más de 2.72 millones de toneladas (McMullen, *et al.* 1997). En los cultivos de cebada provenientes de Minnesota, se han estimado pérdidas de 69.6 millones de toneladas con un valor aproximado de 122 millones de dolares (Brian, 1998).

En Argentina, ésta enfermedad está presente en la mayor parte de la región triguera, pero es predominante en el norte y sur-este de la provincia de Buenos Aires, el sur de Santa Fe, el sur-este de Córdoba y Entre Ríos. Las estimaciones de rendimiento indican que en el norte de Buenos Aires y Sur de Santa Fe se perdió alrededor del 20% durante 1945-46 y un 30% en 1978 (Annone *et al.*, 1994); y en el sur-este de Córdoba un 10% (Galich, 1986 b.).

En los Valles Altos de México, el daño se ha incrementado en los últimos años debido, al crecimiento del área sembrada con cereales y a la rotación que existe, la que incluye maíz, trigo o cebada. Por lo que las incidencias fluctúan hasta un 60% y los niveles de severidad son del orden del

15%, por lo cual resulta un daño moderado en rendimiento. Las pérdidas de producción comercial estimada sobre las variedades susceptibles son de hasta un 17% (Ireta, 1986).

### 2.3.- Características del Patógeno.

#### 2.3.1.- Clasificación taxonómica

(Alexopoulos y Mims, 1978. Burgess *et al.*, 1988.):

Super reino: Eukarionta

Reino: Miceteae

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Deuteromycetes

Subclase: Hyphomycetidae

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Fusarium*

Ireta y Gilchrist (1994) mencionan que el hongo en condiciones de laboratorio y en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), presenta variaciones en color, de rosa o café hasta rojo intenso o púrpura. Produce un abundante micelio aéreo que se torna blanco o rojo cuando hace contacto con el agar. Tiene como temperatura óptima para su crecimiento en medio de cultivo de 24°C a 26°C.

Conidios.- Microconidios ausentes. Macroconidios son hialinos de 3-7 septas, miden 25-50 x 3-4  $\mu\text{m}$  pared delgada, rectos a moderadamente curvos, curvados desigualmente con la superficie ventral casi recta y la superficie dorsal ligeramente arqueada (forma de canoa). La célula basal en forma de pie. La célula apical es en forma de cono o constreñida.

Conidióforos.- ramificados o no, fiálides simples.

Clamidosporas.- están insertadas a lo largo de las hifas generalmente tardan mucho en formarse en medio de cultivo; cuando estas se presentan, son esféricas, con una pared interior lisa o ligeramente rugosa, hialinas o de color café pálido, aisladas, en cadenas o grupos; miden 10-12  $\mu\text{m}$  de diámetro (Nelson *et al.*, 1983; Burgess *et al.*, 1988)

Zillinsky (1984) menciona que *F.graminearum* produce fiálides laterales cortos de 3.5 $\mu\text{x}$ 10 $\mu$ -14 $\mu$  y macroconidios en forma de canoa. Una característica de los macroconidios de éste hongo es la célula basal en forma de pie. La producción de macroconidios en medio de cultivo se realiza sobre fiálides simples, que pueden o no estar sobre conidióforos ramificados o agrupados formando un esporodoquio. Esta especie no produce microconidios. La formación de clamidosporas se puede observar en forma intercalar o terminal en el micelio o en los macroconidios. Las clamidosporas son de forma globosa, llegando a medir de 10 $\mu$  a 12 $\mu$  de diámetro. La fase sexual se desarrolla en las glumas en algunas localidades al final del ciclo vegetativo y permanece en el rastrojo durante el invierno.

*Gibberella zeae* (Schw. Petch) es el estado sexual de *F.graminearum* y es de las pocas especies que producen peritecios bajo condiciones de campo; los peritecios son de color púrpura a negro y se forman a partir de un estroma inconspicuo o ligero, son de forma ovoide, papilada, con un diámetro de 150 $\mu$ -350 $\mu$ . Cada peritecio posee ocho ascas distribuidas en su interior; las ascas son de forma clavada y llegan a medir 8 $\mu$  -11 $\mu$  x 60 $\mu$  - 85 $\mu$ . De igual forma, cada asca posee en su interior ocho ascosporas que miden 3 $\mu$  -5 $\mu$  x 17 $\mu$  -25 $\mu$  y presentan de una a cuatro septas.

Existe una especialización patogénica de *F. graminearum* en relación con su lugar de ataque en las plantas de trigo; ésta situación ha dado lugar a la formación de dos poblaciones patogénicas del hongo denominadas Grupo I ó Heterotálico y Grupo II u Homotálico, la diferencia distintiva entre los dos grupos, es que el Grupo I no forma peritecios en medio de cultivo y es patogénico sobre las raíces y corona del trigo.

El Grupo II sí forma peritecios en medio de cultivo, y está asociado con los tizones de los órganos aéreos del trigo y maíz (Burgess *et al.*, 1988).

### **2.3.2.- Ciclo de vida del hongo**

#### **Sobrevivencia del hongo**

*F. graminearum* es un parásito facultativo, y como tal tiene la capacidad de sobrevivir como saprófito asociado a restos de trigo, maíz, arroz, y varias malezas del tipo de las gramíneas (Kohli et al. 1995, cita a Bai y Shaner, 1994). Kohli et al 1995., cita a Reis en 1989, que describió un número considerable de especies vegetales sobre las que observó la presencia de peritecios de *G. zae* y entre las que destacan especies de gramíneas que constituyen importantes pasturas y/o malezas (*Lolium multiflorum*, *Paspalum dilatatum*, *Sorghum halepenses*, *Cynodon dactylon*, entre otras).

El hongo sobrevive como saprófito en el suelo en forma de micelio; con paredes gruesas y densas, o en clamidosporas. Los desechos de las plantas huéspedes, tales como los tallos, mazorcas o espigas y rastrojos, son las principales fuentes de inóculo. (Reis, 1989)

Agrios, (1978) menciona que el patógeno se ha incrementado debido a la rotación de cultivos de cereales: maíz-trigo, maíz-cebada o cebada-trigo. Este hongo en forma de peritecios, micelio o clamidosporas en los restos de plantas.

Los rastrojos infectados de los cultivos de trigo que quedan en la superficie del suelo, desempeñan un papel importante en la supervivencia del hongo en los campos donde se presentan la

rotación de siembra de cereales de invierno o maíz en la misma área. En el caso del trigo, los peritecios del hongo se forman sobre los tejidos infectados de los rastrojos que quedan en los campos. La formación de peritecios es más abundante sobre los granos infectados, seguidos en orden decreciente por espiguillas que contienen los granos infectados, el raquis y los nudos (Reis, 1989) También menciona que, el hongo es incorporado en el suelo como micelio asociado a tejidos infectados y es la fuente de inóculo considerada más importante para la infección de las raíces del trigo y de los demás cereales de invierno causando la pudrición radical.

### **Fuente de Inóculo**

El proceso de infección de la fusariosis de la espiga se puede iniciar con diferentes tipos de inóculo, a).- macroconidios producidos por esporodoquios o en forma individual; b).-ascosporas producidas en el interior de los peritecios de *Gibberella zeae*; c).-clamidosporas que persisten en el suelo o sobre los residuos, aunque este tipo de inóculo es menos frecuente y por último; d).- el micelio que sobrevive sobre los restos de maíz o trigo (Ireta y Gilchrist, 1994).

Reis (1989), considera tres tipos de inóculo: micelios, conidios y ascosporas. Para que se produzcan epifitias, los factores climáticos que favorecen la producción y dispersión de esporas, el desarrollo sobre la superficie del huésped y la infección, deben coincidir con el momento en que la planta es susceptible al hongo. Las temperaturas entre 15 °C y 35 °C, la lluvia salpicada o arrastrada por el viento, que contribuyen a la dispersión de esporas y la humedad persistente ( $\geq 48-60$  hrs) en las espigas y mazorcas favorecen a la infección del hongo (Evans, 1997 cita a Miller *et. al.*, 1990). Según Parry *et al.* (1995), el inóculo puede tener hospederos alternativos semejantes, como hierba, pasto y algunas malezas. Reis (1989) menciona que los hospederos más comunes de *F. graminearum*, además del trigo, son la cebada, la avena, el centeno, el maíz, la alfalfa y el triticale y

algunas gramíneas silvestres, como *Brachiaria plantagia* (L.K.) Htch; *Pennisetum purpureum* Chumach, *Pennisetum clandestinum* Chov; *Digitaria sanguinalis* (L.) Scap; *Paspalum spp.* *Andropogon bicornis* (L.) y *Eryathus sp*, son hospederos secundarios o sustratos saprofiticos.

### **Diseminación del Inóculo**

Ireta y Gilchrist (1994), Reis (1989) y Parry *et al* (1995) consideran que los principales medios de diseminación del inóculo son la lluvia y el viento, aunque los conidios formados en la superficie de los órganos infectados, no son adaptados a la desiminación anemófila por estar embebidos en una sustancia gelatinosa que los protege de la desecación, y que sólo es disuelta por el agua. Por lo que éste tipo de inóculo es diseminado por la salpicadura de la lluvia, por lo cual hay varias alternativas que han sido propuestas; se tiene a los artrópodos como vectores.

### **Síntomas**

El lugar de ataque de *F.graminearum* son las espigas de trigo, particularmente los órganos florales, la espiguillas infectadas pierden clorofila rapidamente y se tornan descoloridas, posteriormente toma un color rosa salmón , especialmente en la base y bordes de la gluma (Ireta y Gilchrist, 1994; y Wiese, 1977).

Evans (1997) menciona que la enfermedad puede producir puntos negros. La mancha y decoloración se expande en todas direcciones desde el punto de infección, los granos dañados presentan un color café- grisaseo con una decoloración en el interior, la muerte prematura o blanqueado de la espiga (Parry *et al.*, 1995). En el campo es común observar que las primeras espiguillas infectadas por la fusariosis se encuentren en el tercio medio de la espiga, debido a que ahí es donde se inicia la antesis. Si las condiciones ambientales permanecen favorables, la infección avanza hacia las espiguillas adyacentes, en algunos casos, puede llegar a infectar toda la espiga

incluyendo el raquis o el pedúnculo de la misma. Los granos dañados se encogen y presentan un color café-grisáceo con una decoloración en el interior. La muerte prematura o blanqueado de la espiga de los cereales es un síntoma común, y se observa en la emergencia inmadura de espiga donde una o más espiguillas o la espiga entera es afectada (Wiese, 1987; citado por Parry, 1995). Sobre las espigas infectadas aparecen puntos negros como resultado de los peritecios azul-blanquecinos, dando apariencia de roña, tales peritecios están comúnmente asociados con espigas infectadas con *Gibberella zeae* (*F. graminearum*). Cuando las espigas son severamente afectadas por la roña, pedúnculo se puede tornar de un color café (Parry, 1995).

Cuando la infección de *F. graminearum* es fuerte, los granos dañados son cubiertos por el micelio del hongo y toman una apariencia de masa algodonosa de color rosa. Si la severidad del ataque es moderada, los granos pueden quedar chupados y de bajo peso, además de tomar una coloración blanquecina. La formación de los peritecios de *Gibberella zeae* se puede observar cuando el cultivo, en general, ha llegado o está próxima a la madurez. Es entonces cuando las espiguillas enfermas aparecen masas de peritecios de color negro que parecen emerger de los tejidos infectados (Ireta y Gichrist, 1994)

### **2.3.3.- Producción de Toxinas**

La fusariosis de la espiga, además de provocar pérdidas importantes en rendimiento, produce pérdidas adicionales por la generación de compuestos potencialmente tóxicos para animales monogástricos y para el hombre (Miller, 1989).

Lori, *et al* (1992) mencionan que los tricotecenos son separados en dos categorías: Grupo A, constituido por la toxina T-2; T-2 tetraol; neosolaniol; diacetoxiescirpenol (DAS) y acetyl T-2 como los más tóxicos. Todos estos son altamente peligrosos ya que pueden llegar a ocasionar la muerte

tanto en el hombre como en animales. El grupo B, constituido por deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV), y fusarenona-x (FUS-X), estas no llegan a producir la muerte.

El principal patógeno del trigo y maíz, *F. graminearum* Schwabe, produce micotoxinas como deoxynivalenol (DON) y 15-acetyldeoxynivalenol (15-ADON), y el alto nivel de éstas micotoxinas que poseen los granos infectados, inhiben la síntesis de proteínas (Adams *et al.*, 1989) y empeoran las propiedades semejantes como la calidad de la levadura, el contenido de almidón y el valor nutricional (Wang y Miller, 1988)

Snijders (1989) señala que la infección causada por *F. graminearum* en trigos harineros, contamina los granos particularmente con deoxynivalenol (DON) y nivalenol (NIV). En un estudio que se realizó en Holanda durante 8 años, con un promedio de infección de 1.7 % de todas las espigas colectadas, la estimación de contaminación por DON fue de 0.9 ppm, teniendo un nivel estandar de contaminación de 2 ppm.

Existen varias especies de *Fusarium* incluyendo a *F. culmorum* y *F. graminearum* capaces de producir micotoxinas de la clase de los tricotecenos: deoxynivalenol (DON, vomitoxina), acetyldeoxynivalenol con sus respectivos isómeros (3-ADON y 15-ADON), y nivalenol (NIV) (Snijders y Perkuski, 1990, cita a Kurata y Ueno, 1984; Marasas *et al.*, 1984).

En Argentina se aislaron e identificaron 91 cepas de *Fusarium spp* a partir de muestras de trigo, proveniente de 17 localidades, de estas se detectaron cepas productoras de tricotecenos del grupo B y zearalenona. El 82.4% de las cepas evaluadas produjeron tricotecenos que se subdividieron en dos grupos; a) las cepas productoras de deoxynivalenol (DON) el 65.9% y su precursor 3 acetyl-deoxynivalenol (AcDON) y b) las productoras de nivalenol (NIV) el 7.7% y su precursor 4 acetyl-nivalenol o fusarenona-x (FUS-X); y el 26 % produjeron simultáneamente DON y NIV. Exclusivamente las cepas de *F. graminearum* fueron toxigénicas (Lori *et al*, 1992).

Galich, también en Argentina (1989) señala la presencia de dos tipos de micotoxinas: tricotecenos y zearalenona, después de realizar un estudio a partir de 82 muestras de granos con alto grado de contaminación. de las cuales se encontró que *F. graminearum* estuvo presente en la totalidad de las muestras, con una frecuencia de 2% a 44%. Se determinaron otras especies involucradas las cuales no revazaron el 5%. Ellas fueron: *F. poae*, *F. tricinctum*, *F. nivale*, *F. heterosporum*, *F. semitectum*, *F. moniliforme* y *F. equiseti*. Las micotoxinas encontradas en el 100% de las muestras analizadas correspondieron a deoxynivalenol (DON). Estas fueron detectadas en niveles que variaron desde 0.1 a 2.5 ppm. La mayor frecuencia (47.5%) de las muestras estuvo entre el nivel de 4.1 a 10 ppm.

Algunos estudios muestran que el ganado para carne puede ser alimentado con grano que tenga arriba de 12 ppm de DON, pero las crías pueden tener problemas con niveles mucho más bajos. Las vacas pueden tolerar diariamente 8 ppm sin que se afecte el rendimiento de la leche; las vacas y los borregos y las aves de corral pueden tolerar arriba de 15 ppm de DON en el grano. Los cerdos son particularmente susceptibles a los efectos tóxicos de DON, mostrando efectos adversos a niveles tan bajos como 1 a 2 ppm (Clear *et al.*, 1996). En el Cuadro 2 se hace una breve descripción, del grupo de las micotoxinas y los efectos que producen sobre el desarrollo deficiente y problemas de reproducción y enfermedades en animales de granja, especialmente en el ganado porcino.(Trenholm, *et al* 1990).

### **Cuadro 2. Efectos tóxicos de las micotoxinas y signos clínicos en animales**

Micotoxinas	Signos clínicos
-------------	-----------------

Zearalenona	Vulva enrojecida e hinchada, prolapso vaginal y en ocasiones prolapso rectal en los cerdos; las lechonas pueden presentar agrandamiento de la vulva; problemas de fecundidad
Vomitoxina(deoxinivalenol, DON)	Inapetencia y disminución de la ganancia de peso en los cerdos con concentraciones de DON de $\geq 2$ mg/kg en el alimento; vómito y rechazo del alimento con concentraciones muy elevadas de DON ( $\geq 20$ mg/kg de alimento) <sup>a</sup>
Otros tricotecenos Toxina T-2 Toxina HT-2 Diacetoxiescirpenol	Más tóxicas que el DON; disminución de la ingestión de alimentos; emesis; irritación cutánea y gastrointestinal; neurotoxicidad; crías con anomalías; mayor sensibilidad a las enfermedades; hemorragias
Ocratoxina	Afecta principalmente los túbulos proximales de los riñones en los cerdos y aves de corral; los riñones se ven muy agrandados y pálidos; hígados grasos en las aves de corral
Alcaloides del carnezuelo	Transtornos del sistema nervioso; temblores; convulsiones; diarrea; necrosis de las extremidades (gangrena); disminución de la ingestión de los alimentos; abortos; crías nacidas muertas y agalactia (escasa producción de leche); ennegrecimiento de la cresta, las uñas y el pico en las aves de corral

Trenholm, 1990. <sup>a</sup>Mg/kg = partes por millón (ppm).

#### 2.4.- Postulados de Koch

Para fines de investigación y para asegurarse, qué las especies aisladas fueron agentes causales de la fusariosis de la espiga, se deben aplicar los postulados de Koch que son los siguientes:

1. El patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen.
2. El patógeno debe aislarse y desarrollarse en un cultivo puro en medios nutritivos y se deben describir sus características (parásito no obligado), o bien debe permitirse que se desarrolle sobre una planta hospedera susceptible (parásito obligado) y registrar su presencia y los efectos que produzca.

3. El patógeno que se desarrolle en un cultivo puro debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad y debe producir la misma enfermedad en las plantas inoculadas.
4. El patógeno debe aislarse una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo punto.

Si los puntos mencionados se cumplen, se estará seguro que las cepas aisladas son realmente el o los agentes causales de la fusariosis de la espiga. (Agrios, 1978).

## 2.5.- Métodos de inoculación para Fusarium

Existen diferentes métodos de inoculación que se utilizan para evaluar material genético con resistencia a Fusariosis. Estos se describen a continuación:

### **2.5.1.- Inoculación de espiga individual (Método de algodón)**

Se seleccionan espigas que estén en inicio de floración, se cortan las barbas para facilitar cubrirlas con bolsas de papel glasine. Se satura un cotonete de algodón con una suspensión de conidios (50 mil conidios/ml) se abre la gluma y se coloca en el punto medio de la espiga (Gilchrist, *et al.*, 1995)

### **2.5.2.- Inoculación en masa (Método de aspersión)**

Se aplica el inóculo con un aspersor a una concentración de 50 mil esporas por ml y 20 ml por un surco doble de un metro de largo, y se aplica a una distancia de 10 a 15 cm, hasta que se observe un empapado uniforme de las espigas. Las inoculaciones deben hacerse cuando un 5-10% de las anteras en la parcela hayan emergido. (Gilchrist, *et al* 1995).

### 2.5.3.- Inoculación con jeringa

Utilizando una jeringa dosificadora, se aplica una gota (0.1 ml) de suspensión de esporas en una espiguilla central a inicio de floración. La suspensión de esporas es ajustada a una concentración de  $4 \times 10^3$  conidios /ml, que corresponde aproximadamente 400 conidios por gota (Sartori, 1987).

### 2.5.4.- Inoculación con grano infectado

Para éste método se utiliza grano de avena, el grano se pone en el autoclave por dos horas, previamente remojado durante 24 horas. Se inoculan con el patógeno, se incuban por cinco a siete días a una temperatura de 25°C y los granos de avena colonizados por *Fusarium*, se dispersan a razón de 38 kg/ha en la superficie del suelo, la segunda aplicación se realiza a las dos semanas después, 10 a 15 días antes de la floración, ya que este método depende de la temperatura y la humedad para el desarrollo de las ascosporas después de la inoculación (Zhou and Xia, 1984; Bai, *et al*, 1989; Xu and Chen, 1993)

### 2.6.-Evaluación de los Síntomas

La magnitud de los síntomas de la Fusariosis de la Espiga puede visualizarse por lo menos a través de dos variables patométricas: 1) incidencia (I= porcentaje de espigas afectadas ) y 2) severidad (S= porcentaje de espiguillas afectadas/espiga). Estas variables pueden ser estimadas visualmente o cuantificadas a través de un conteo a fin de caracterizar el nivel de desarrollo de la enfermedad. Debido a las dificultades de la diseminación de la infección tanto a nivel de la población como a nivel de espiga no es uniforme las escalas de 0-5, que son más simples, son usadas para evaluar la infección en invernadero y en campo. En algunos casos la escala 0-5 abarca el porcentaje de espigas infectadas y el porcentaje de espiguillas dañadas por espiga que se evalúan conjuntamente (Wilcoxon et al, 1992).

**Cuadro 3. Escala modificadas para evaluación de fusariosis de la espiga (*Fusarium graminearum*) en campo e invernadero**

Escala	Nivel de resistencia	%infección		Epiгуillas enfermas en una espiga**
		invernadero	campo*	
0	Inmune	0	0	0
1	Resistente	1-8	1-5	1-2
2	Mod. Resistente	9-11	5-25	2-4
3	Mod. susceptible	12-20	25-50	2-6
4	Susceptible	21-50	50-75	>7
5	Muy susceptible	>50	>75	Toda espiga

• Escala brasilera y japonesa basada en severidad de espiga afectada

\*\* Escala CIMMYT para uso en campo

Fuente: Kohli (1989) e Ireta y Gilchrist (1994)

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología, Invernadero y campo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, Int.), El Batán, Edo de México.

#### 3.1.- Colecta de Muestras

Las espigas fueron colectadas en Octubre de 1998. El muestreo fué dirigido, seleccionando espigas que presentaran síntomas de forma natural, en diferentes zonas trigueras de México: Ma. de Jesús, Tepatitlán, y Sierra del Tigre, localidades del estado de Jalisco; Pátzcuaro en el estado de Michoacán y en Nochistlan, Oaxaca

#### 3.2.- Aislamientos

De las espigas colectadas, se seleccionó un número variado de granos con síntomas visibles, estos fueron sembrados en medio de PDA (ver Apéndice). Las cajas fueron colocadas en una cámara a temperatura ambiente con alternancia de luz/oscuridad de 12 horas, para proporcionarle condiciones apropiadas para el crecimiento y esporulación del patógeno.

#### 3.3.- Purificación de los aislamientos

De las colonias de tres a cuatro días de edad, se tomó 2 mm<sup>2</sup> de micelio y se transfirió a cajas limpias de PDA, y de acuerdo a las características de cada colonia se transfirieron en un número variado de colonias. Estas se dejaron crecer en las mismas condiciones de aislamientos.

### 3.4.- Cultivos monospóricos

De cultivos de 7 días de edad, se tomo una asada de conidios, que se transfirieron a tubos de ensaye que contenian 10 ml de agua destilada estéril. Apartir de este se realizarón dilusiones 1:10 y 1:100. Las suspensiones homogeneas se transfirieron a 5 cajas de Agar Agua (AA) (ver Apéndice) por dilusión durante tres minutos. El exceso de la dilusión se retiro de las cajas Petri; y estas fueron incubadas a temperatura ambiente y en oscuridad durante 15-16 hrs, para que los conidios germinaran. Bajo la lupa de un estereoscopio (1.5-4x), se sacaron los conidios germinados con una aguja de disección en forma de lanza, y se transfirieron individualmente a cajas de Petri con PDA. Las cajas se incubaron de la misma forma que los aislamientos a partir del grano.

### 3.5.- Conservación de cepas

De cultivos monospóricos maduros de 5 a 7 días de edad se realizarón cortes cilíndricos con una espátula estéril, se tomó la parte superficial que contenía al hongo, este se colocó sobre papel filtro estéril y se realizaron dobleces, hasta dejar un cuadrado de 1x1cm. Estos se colocaron en una caja de Petri estéril durante 6 días a 20°C, tiempo necesario para que estuvieran secos. El papel filtro con el hongo se protegió con papel aluminio estéril y así se conservó a 6°C.

### 3.6.- Identificación de las cepas

Los conidios se sembraron en medio Clavel Agar (CLA) (ver Apéndice), a los 10 días del cultivo, se hicieron mediciones de largo y ancho de los conidios en el microscopio compuesto (objetivo 40/0.65 X, ocular W10/18 X), y con la ayuda de las claves taxonómicas descritas por Burgess *et al* (1988), se identificaron las diferentes especies de *Fusarium* encontradas.

### 3.7.- Incremento y concentración del inóculo

En matraces erlenmeyer de 250 ml con 100 ml de extracto de “Mungo bean” *Phaseolus*

*aereus* Roxb. (Ver Apéndice) se depositó un trozo de 1 cm de diámetro de un cultivo de 7 días de edad, se puso en agitación constante a temperatura ambiente durante 5 a 6 días.

Con un hemacitómetro se contó el número de conidios de cinco campos (A, B, C, D, E) con tres repeticiones, y con esta información se ajustó a una concentración de 50 mil conidios/ml (Gilchrist, *et al* 1995).

### 3.8.- Pruebas de Patogenicidad en Invernadero

#### 3.8.1.- Siembra de genotipos

La siembra se realizó en un diseño completamente al azar, cada tratamiento tuvo siete repeticiones, donde las cepas fueron los tratamientos. Se utilizaron seis genotipos de trigo, proporcionados por el programa de fitopatología de trigo del CIMMYT. En el cuadro 4 se presentan los genotipos y la caracterización de resistencia o susceptibilidad al ataque de *F. graminearum*.

**Cuadro 4. Genotipos usados en las pruebas de patogenicidad y su caracterización de resistencia.**

<b>GENOTIPOS</b>	<b>HISTORIA DE SELECCION</b>	<b>COMPORTAMIENTO</b>
<b>MAYOOR</b>	CIGM84.295-1M=1PR-3M-2Y-0M-0Y-1PR-4M-1PR-3B-0PR-0M	<b>Moderadamente resistente</b>
<b>FLYCATCHER</b>	CM43598-II-8Y-1M-1Y-3M-3Y-0B-7M- 0Y	<b>Moderadamente susceptible</b>
<b>ALTAR84</b>	CD22344-A-8M-1Y-2Y-1M0Y	<b>Susceptible</b>
<b>SUMAI#3</b>	Origen Chino	<b>Resistente</b>
<b>ECHA/LI94</b>	Origen Brasil	<b>Susceptible</b>
<b>BCN//DOY1/AE.SQUARROSA (447)</b>	CASS94Y00006S-53PR-2B-0M-1Y- 0M	<b>Moderadamente Susceptible</b>

Los genotipos fueron sembradas en macetas (21.5 cm X 22 cm) con suelo estéril, depositando tres golpes por maceta, y seis semillas por golpe.

### **3.8.2.- Inoculación por el método de algodón**

La inoculación se realizó en la etapa de floración, ya que en ésta etapa es cuando las espigas son más susceptible al ataque de *Fusarium*. Se utilizó una concentración de 50 mil conidios/ml, con un pedacito de algodón saturado de inóculo se colocó entre la lema y palea, eligiendo la espiguilla central. Las plantas se incubaron en una cámara húmeda durante 48 horas, alternando 15 min de humedad sin luz por 45 min de luz sin humedad, a una humedad relativa de 90% y de 22 a 24 °C.

Las plantas se transfirieron a un invernadero donde permanecieron a una temperatura de 24-25°C durante 16 días.

### **3.8.3.- Evaluación**

La evaluación se realizó a los 18 días posteriores a la inoculación se cuantifico el número de espiguillas totales, y el número total de espiguillas dañadas, de cada espiga.

Para comprobar estadísticamente, se realizo comparación de medias por medio de la prueba de Tukey



## IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1.-LABORATORIO

De los cultivos monosporicos obtenidos a partir de las colonias generadas en los aislamientos de los granos seleccionados de las localidades correspondientes se muestran en el cuadro 5.

**Cuadro 5. Especies del genero *Fusarium* aisladas de semillas de trigo procedentes de cinco localidades de México.**

LOCALIDAD	CEPAS AISLADAS POR ESPECIE		
	<i>F. graminearum</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>F. nivale</i>
Ma. de Jesús, Jalisco.	5		
Tepatitlan, Jalisco.	7		
Sierra del Tigre, Jalisco.	6		2
Patzcuaro, Michoacán.	14	1	2
Nochistlan, Oaxaca.	10		

De los cuales fueron 47, estos se identificaron especies de *Fusarium*, y la especie que más predominó es *F. graminearum* (89.3 %) la que estuvo presente en las cinco localidades, quedando ubicado *F. equiseti* (2.1%) y *nivale* (8.5%), en la zona de Sierra del Tigre, Jalisco y Patzcuaro. Por lo cual estos resultados coinciden con los obtenidos por Ireta y Gilchrist (1994) que detectaron a *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. nivale*, *F. equiseti* como principales especies causantes del tizón de la espiga en Patzcuaro y Toluca predominando *F. graminearum* en las dos zonas.

Esto nos indica que la especie que predomina más en las diferentes zonas de México es *F. graminearum*.

#### 4.1.1.-Pruebas de patogenicidad en invernadero

La respuesta de las variedades a las diferentes cepas inoculadas. Se resumen en la siguiente Tabla 1.

**Tabla 1. Evaluación de 5 cepas de *F.graminearum* y *F.nivale* en seis variedades de trigo, procedentes de cinco localidades de México El Batán, Edo de México.**

LOCALIDAD	No. DE CEPA	V1	V2	V3	V4	V5	V6
Ma.J.J.	1.2.M1*	21.55	26.27	26.42		19.44	37.00
	1.2.M2*	42.74	39.66	31.73		28.89	44.12
	4.1.1.M1*	39.80	33.05	51.96		19.81	52.00
	4.1.1.M2*	35.19	40.00	15.25		38.46	44.12
	4.2.1.M1*	39.83	9.48	9.26		29.41	40.82
TP.	7.1.1.M1*	37.27	22.03	9.52		25.00	32.08
	6.1.1.M1**	28.07	37.93	20.37		26.53	48.00
	7.2.1.M2*	17.80	32.14	24.56		22.12	39.62
	10.2.1.M1*	43.18	35.71	22.64		14.00	34.62
	11.1.1.M1*	43.64	29.25	33.72		18.27	51.00
SJ.	14.1.1.M1*	39.58	38.33	40.35	23.81	23.96	7.14
	12.2.1.M1*	36.79	36.61	17.59		28.75	41.18
	14.2.1.M1***	42.37	41.53	10.53	23.81	20.83	35.19
	17.2.1.M1*	37.50	37.70	26.04	23.81	20.45	33.00
	18.1.1.M1□	50.00	35.25	31.25	50.00	22.92	41.00
PZ.	19.1.1.M2*	43.14	24.59	22.13	6.52	13.27	44.23
	20.2.1.M1*	33.64	30.83	19.17	5.36	12.24	41.00
	21.1.1.M3*	34.21	34.55	32.41	57.33	28.00	44.23
	22.2.2.M1*	34.26	38.18	28.07	5.45	12.04	45.28
	25.2.1.M3*	34.91	26.92	25.44	55.42	20.19	45.83
OAX.	32.2.1.M1*	44.00	30.51	20.00	76.56	25.49	38.10
	33.2.1.M3*	25.49	34.21	12.93	55.85	9.57	42.86
	35.2.1.M1*	28.18	37.25	13.93	63.89	17.71	31.11
	36.3.1.M3*	35.45	29.66	26.27	52.19	38.18	46.67
	35.1.1.M1*	43.40	37.07	29.31	57.33	31.13	38.18

\**F.graminearum* \*\**Sp* \*\*\**F.nivale*

La respuesta de las variedades a las cinco cepas inoculadas, de acuerdo a los porcentajes de daño, promedio por espiga, donde el nivel de severidad va desde un 7.14% hasta 76%. Esto nos permitió observar que los aislamientos inoculados se comportan diferente, ante las variedades.

Como se muestra en el cuadro 6 con la prueba de Tukey, la variable localidad no es significativa, esto indica que la localidad no interfiere en el experimento, en este caso por haberse probado en condiciones invernadero por lo tanto esta variable no es importante, por consecuencia la variable variedad el valor de F es altamente significativa, esto nos indica la variabilidad de las fuentes de resistencia expresadas de las variedades siendo constante, razón por lo cual fueron seleccionadas.

Cuando se analiza la interacción de las variables localidad por variedad (Loc\*Var) el valor de F es altamente significativo, esto significa que la variedad tiene diferente comportamiento ante las cepas de las localidades.

**Cuadro 6. Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para las variables Localidad, Variedad y Cepa.**

<b>FUENTES</b>	<b>GRADOS DE LIBERTAD</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Localidad</b>	<b>4</b>	<b>0.07443256</b>	<b>0.2399 NS</b>
<b>Variedad</b>	<b>5</b>	<b>1.38269642</b>	<b>&lt;.0001***</b>
<b>Loc*Var</b>	<b>18</b>	<b>0.06715492</b>	<b>0.0001***</b>
<b>Cepa(loc)</b>	<b>19</b>	<b>0.09668917</b>	<b>&lt;.0001***</b>
<b>Var*Cepa(Loc)</b>	<b>86</b>	<b>0.06213128</b>	<b>&lt;.0001***</b>

NS= No significativo

\*=Altamente significativo.

Para efecto de las variedades se realizó una comparación de medias ajustadas, por medio de la prueba de Tukey, y agrupándolas según su comportamiento al patógeno.

**Cuadro 7. Comparación de medias para la variable Variedad, y su reacción esperada y encontrada.**

VARIEDAD	GRUPO	GL	Promedio de la media ajustada	Reacción esperada	Reacción encontrada
BCN//DOY1/AE.SQUARROSA (447)	A	165	39.98	S	S
MAYOOR	A B	165	36.99	MR	MS
FLYCATCHER	B	168	32.29	MS	MS
ALTAR 84	C	166	23.61	S	MR
ECHA/LI94	C	165	21.75	MS	MR
SUMAI #3	D	83	17.09	R	R

S=Susceptible

MS=Moderadamente Susceptible

MR=Moderadamente Resistente

R=Resistente

De acuerdo al cuadro 7, nos indica la respuesta de la variedades hacia el patógeno. Los genotipos BCN//DOY1/AE.SQUARROSA (447) (39.98%), FLYCATCHER (32.29%) y SUMAI #3 ( 17.09%) se comportaron de manera similar a lo esperado. Estos genotipos han sido evaluados por varios años por el programa de Patología del CIMMYT en condiciones de campo, por lo cual los han caracterizado como variedades testigos para identificar genotipos con resistencia a la Fusariosis y también para caracterizar las cepas en zonas donde la fusariosis es un problema Gilchrist, *et al* (1997).

Los genotipos MAYOOR (36.99%) ALTAR 84 (23.61%) ECHA/LI94 (31.71%) se comportaron de manera diferente a lo esperado, dedido quizás a la variabilidad de la antesis o a la humedad o debido a que no se inoculo en el momento preciso, para el desarrollo de *Fusarium*, esto coincide con Ireta y Gilchrist (1994) que mencionan que la identificación de materiales resistente se

dificulta por pequeñas diferencias en el ciclo vegetativo de los genotipos determinando diferencias en la infección.

Esto indica que la base de resistencia es diferente en cada uno de los materiales.

Es importante señalar que la base de resistencia en un programa de mejoramiento es indispensable para la creación de variedades. De esta manera la reacción de diferentes aislamientos también sea amplió.

Esto muestra que la expresión de resistencia de estos genotipos está altamente influenciada por el medio ambiente, Liu y Wang (1991).

## **RESUMEN**

El cultivo del trigo, se extiende ampliamente en muchas partes del mundo por ser una especie que tiene un amplio rango de adaptación y por su gran consumo en muchos países, de tal manera que en la actualidad ocupa el primer lugar entre los cuatro cereales de mayor producción mundial (trigo, arroz, maíz y cebada). en México, constituye uno de los principales granos alimenticios, además de maíz, frijol y arroz. La mayor producción de trigo se localiza en las regiones del noroeste (Baja California, Sonora y Sinaloa) y El Bajío (Guanajuato, Jalisco y Michoacán).

La Economía Agrícola mundial es afectada por pérdidas causadas por diversos organismos, causales de enfermedades entre los cuales figuran hongos, bacterias, virus y nemátodos. La roña o tizón de la espiga de trigo es una enfermedad de gran importancia en regiones de climas cálidos y húmedos del mundo, donde puede afectar cereales como trigo, cebada, avena y centeno. Los cultivos de maíz y trigo en América Latina sufren daños considerables como resultado de la enfermedad genéricamente conocida como fusariosis, causada por el hongo *Fusarium graminearum* Schw. (telomorfo: *Gibberella zeae*).

La roña o tizón de la espiga del trigo es una de las mayores limitantes para la producción de este cereal en los Valles Altos y húmedos de México; cómo en los estados de Michoacán, Jalisco, y el Estado de México, que son áreas potencialmente productoras de trigo. La Fusariosis está asociada con diferentes especies del genero *Fusarium*, entre las que destacan; *F. graminearum*, *F.culmorum*, *F.avenaceum*, *F.poa* y *Microdochium nivale* (*Monographella nivalis*). En diversos estudios se han aislado de granos infectados 6 especies de *Fusarium*, de las cuales el 48.4% de los aislamientos comprendió a la especie *F. graminearum*, 36.3% *F. moniliforme*, 9.7% *F. equiseti*, 3.2% *F. chlamydosporum*, 1.6% *F. subglutinans* y el 0.8% *F. oxysporum*.

Con base en los antecedentes expuestos se planteó el presente trabajo de investigación con los objetivos de conocer los agentes causales de la roña del trigo en cinco localidades de México y conocer la capacidad patogénica de las cepas de *Fusarium spp.* aisladas de las diferentes localidades.

La investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología, Invernadero y campo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, Int.), El Batán, Edo de México. Las espigas fueron colectadas en Octubre de 1998. El muestreo fue dirigido, seleccionando espigas que presentaran síntomas de forma natural, en diferentes zonas trigueras de México: Ma. de Jesús, Tepatitlán, y Sierra del Tigre, localidades del estado de Jalisco; Pátzcuaro en el estado de Michoacán y en Nochistlan, Oaxaca.

Mediante cultivos monospóricos de las muestras cultivadas y aisladas a partir del material de campo, se encontró que hubo tres especies del género *Fusarium*: *F. Graminearum*, *F. Equiseti* y *F. Nivale*. *F. graminearum* fue la especie más dominante con el 89.3% de los aislamientos y estuvo presente en las cinco localidades. *F. nivale* con el 8.5% y *F. equiseti* con el 2.1% , ambas en las localidades de Sierra del Tigre, Jalisco y Pátzcuaro, Michoacán.

Respecto a las pruebas de patogenicidad de *F. garminearum*, se encontró que la capacidad de infección dependió de la variedad hospedante, y varió de 7.14 a 76%, pero la procedencia geográfica del inóculo no fue importante. En cambio las diferentes cepas aisladas del patógeno mostraron diferente capacidad de infección y esta también estuvo influenciada por la variedad hospedante.

## V.- CONCLUSIONES

De acuerdo con la investigación realizada y el análisis e interpretación de sus resultados, se pueden sacar las siguientes conclusiones:

1.- Los agentes causales del tizón del trigo, son del genero *Fusarium* spp. siendo *Fusarium graminearum* el principal agente causal de la enfermedad, en cinco zonas muestreadas.

2.- La diversidad patógena de las diferentes cepas aisladas, son expresadas de acuerdo a las variedades y a las condiciones ambientales en las que se encuentren.

## VI. BIBLIOGRAFIA

- Abramson, D., Clear, R.M., Usleber, E., Gessler, R., Nowicki, T. W and Märtlbauer, E..1998, Fusarium Species and 6-Keto-Trichotecene Mycotoxins in Manitoba Barley. Cereal Chem. 75(1): 137-141.
- Adams, G.C., and Hart, L. P. 1989. The role of deoxinivalenol and 15-acetyldeoxynivalenol in pathogenesis by *Gibberella zeae*, as elucidated through protoplast fusions between toxigenic and nontoxigenic strains. Phytopathology 79(4): 404-408.
- Agrios, G.N. 1978. Plant Pathology, Second Edition. Academic, Press. Nueva York, San Francisco, Londres 43 pp.
- Alexopoulos, C.J. y Mims, C.W. 1985. Introducción a la micología. Tercera Edición. Austin, Texas, E.U.A.
- Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. 1997. Secretaria de Agricultura, Ganaderia y Desarrollo Rural. Tomo I.
- Annone, J.,M.T.V. Galich y A. Galich. 1994. Entre los hongos acecha el “golpe blanco”. Revista Campo y Tecnología, INTA. No. 15. Pp 522

- Aponyi I. Nagy G. Kajti I. 1998. Fusarium infection of wheat seeds in Hungary between 1970 and 1997. *Cereal Research Communications*, 26(3): 253-259.
- Boshoff; W.H. P. Protorius Z.A. and Swart, W. J. 1998. Fusarium species in wheat grown from head blight infected seed. *S. Afr. Tydskr. Plant Grond*. 15 (1):46-47.
- Brian, J. steffenson. 1998. Fusarium head blight of barley: epidemics, impact, and breeding for resistance. *Technical Quarterly* 35(4): 177-184.
- Burgess, L.W. Lidell, C. M. and Summerel, B.A. 1988. *Laboratory manual for Fusarium research*. The University of Sydney. Australia.
- Cassini, R. 1981. Fusarium diseases of cereals in Western Europe. In: *Fusarium: Diseases, Biology, Taxonomy*. P. E. Nelson, T. A. Toussoun, R. J. Cook, eds. The Pennsylvania State University Press, University Park. Pp 56-63
- Camacho, C.M.A. 1997. El trigo en el contexto de la producción agrícola nacional y mundial. Primer simposio internacional de trigo,. Cd. Obregón, Sonora, México. Pp 19-32
- Cook, J. 1980, Fusarium foot rot of wheat and its control in the Pacific Northwest; *Plant Disease*. 64 (12): 1061-1066.

- Craig M. Liddell. 1997. Identification of *Fusarium* species: Beyond morphology and phylogenetics. *Cereal Research Communications*. 25(2/3): 597-599.
- Draženka, J. Mirta, C. Jasenka. C. 1998. Mycopopulation of the treated winter wheat seed in Easter Croatia. *Cereal Research Communications*. 26(1): 67-72.
- Dubin, J. Gilchrist, L, Reeves, J. and A. McNab, eds. 1997. *Fusarium Head Scab: Global Status and Future Prospects*. México, D. F. CIMMYT.
- Duthie, J.A. and Hall, R.1987. Transmission of *Fusarium graminearum* from seed to stems of winter wheat. *Plant Pathology* 36(1): 33-37.
- Evans, I. and Howard, R. 1997. *Fusarium head blight of barley and wheat*. Plant Pathologists. Alberta Agriculture, Food and Rural Development. Alberta Canadá.
- Fisher, N. L., Burgess, L.W., Toussoun, T. A., and Nelson, P. E. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. *Phytopathology* 72(1): 151-153.
- Galich, M.T 1989. Importancia y Distribución de la Fusariosis del Trigo en Argentina, En : M.M. Kohli (ed). Taller sobre la Fusariosis de la espiga en América del sur. México, D. F. CIMMYT. Pp 7

García, C. B. 1989. Evaluación de resistencia a la Fusariosis en campo mediante inoculación artificial. En: M.M. Kohli (ed). Taller sobre la fusariosis de la espiga en América del Sur México, D.F. CIMMYT. Pp 77

Gilchrist-Saavedra, L; G. Fuentes-Dávila y C. Martínez-Cano. 1995. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. México, D.F.: CIMMYT.

INEGI, 1997. Cultivos anuales de México. Censo agropecuario. Primera impresión. México D.F. pp.363-373.

Ireta M. J. y Gilchrist L. S.1994. Roña de la espiga de trigo. Informe especial de trigo No. 20. México, D.F.: CIMMYT.

Ireta M.J. 1986 b. Selección de un modelo de crecimiento para la fusariosis del trigo causada por *Fusarium graminearum* (chw) En: M.M. Kohli (ed). Taller sobre la fusariosis de la espiga en América del Sur México, D.F. CIMMYT. Pp 91

Ireta, M. J. 1986. Estimación de pérdidas en trigo (*Triticum sp.*) causadas, por la roña (*Fusarium graminearum*). Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados, Montecillo, México.

Khonga, E.B., and Sutton. J.C. 1988. Inoculum production and survival of *gibberella zae* in maize and wheat residues. Can. J. Plant Pathol. 10(3): 232-239.

- Kohli, M.M 1989. Análisis de la fusariosis de trigo en el Cono Sur. En: M.M. Kohli (ed.). Taller sobre la Fusariosis de la espiga en América del sur. México, D.F. CIMMYT.
- Kohli, M.M., Annone, J.C. Galich, M.T.V. 1995. Fusariosis de la espiga y su manejo Trabajo presentado en XII Congreso de Micología, Rosario, Argentina.
- Leissner, Christian E. W. Marti L. Niessen and Rudi F. Vogel. Use of the AFLP technique for the identification and discrimination of *Fusarium graminearum*. Cereal Research Communications. 25 (3/2):555-557.
- Liu, Z.Z. and Wang, Z.Y. 1991. Improved Scab Resistance in China: Sources of Resistance and Problems. In: Wheat for the Nontraditional, Warm Areas. México, D.F.: CIMMYT.
- Liu, Z.Z. 1985. Recent advances in research on wheat scab in China. In: Wheats for more tropical environments. México, D.F. CIMMYT.
- Lori, G.A., Carranza, M.R., Violante, A., Rizzo, I. Y H. Alippi. 1992, *Fusarium* spp en trigo, capacidad toxicogénica y quimiotaxonomía de las cepas aisladas en la Argentina. Agronomie 12:459-467.
- Marasas. W.F.O., Nelson, P.E. & Tousson, T.A., 1984. Toxigenic *Fusarium* species, identity and mycotoxic ology. The Pennsylvania State University Park and London. 328 pp

- Magnes , J.R., Markle, G.M., Compton, C.C. 1971. Food an feed Crops of the United States. Interregional Research Proyect IR-4, IR Bul.1 (Bulletin 828 New Jersey Agr. Expt. Station.
- McMullen, M. Jones, R. and D. Gallenberg. 1997. Scab of wheat and barley: A re-emerging disease of devastating impact. *Plant Dis.*81(12): 1340-1348.
- Miedaner, T. Gang; Schlling, A, G, and Geiger, H.H. 1997. Aggressiveness and Mycotoxin production of populations of *Fusarium colmorum* and *Fusarium graminearum* in winter rye. *Cereal Research Communication.* 25(3/1): 471-475.
- Milton, P.J. 1983. Mejoramiento genético de las cosechas. Octava impresión. Ed. Limusa, S.A. México, D.F. pp. 123.
- Miller, J.D., and Arnison. P.G. 1986. Degradation of deoxynivalenol by suspension cultures of the fusarium head blight resistant wheat cultivar Frontana. *Can. J. Plant Pathol.* 8(2): 147-150.
- Miller, J.D. 1989. Biochemical nature of micotoxins and host tolerance. In: M.M. Kohli. Taller sobre la Fusariosis de la espiga en América del sur. México, D.F. CIMMYT. Pp 131
- Muler A. Machnik, Suty A. 1997. New findings on the epidemiology, importance and control of *Fusarium* ear blight on wheat. In: *Cereal Research Communications.* 25 (3/2): 705-709.
- Nelson, P.E. Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium species An illustrated manual for identification.* The Pennsylvania State University Press. University Park and London.

- Nelson, P.E. Toussom, T.A. and Cook, R.J. 1981. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University.
- Parry. D.W., Jenkinson, P., and Mcleod, L. 1995. *Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals-a review*. *Plant Pathology*. (44) 207-238.
- Pettersson, H. and Hedman, R. 1997. Toxicity and metabolism of nivalenol in farm animals. *Cereal Research Communications*. 25(3/1): 423-427.
- Reis, E. M. 1989. Fusariosis: Biología y Epidemiología de *Gibberella zeae* en Trigo. En: M.M. Kohli. Taller sobre la Fusariosis de la espiga en América del sur. México, D.F. CIMMYT. Pp 97
- Robles, S. R. 1983. *Producción de granos y forrajes*. 4 ta Edición. Ed. Limusa, S. A. México, D.F.
- Rodríguez, V.J. 1988. Importancia del trigo en la producción de alimentos en México. I Conferencia Nacional Trigo, Cd. Obregón, Sonora, México Marzo de 1992 . Pp 9-34
- Romero, C. S. 1993. *Hongos fitopatógenos*. 1era impresión. Universidad Autónoma Chapingo. México. 341pp.
- Saari, E.E. y R.D. Wilcoxon. 1974. Plant disease situation of high-yielding dwarf wheats in Asia and Africa. *Ann. Rev. Phytopath.* 12:49-68.

SAGAR. 1997. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Centro de Estadística Agropecuaria. Situación Actual Y Perspectiva de la Producción de Trigo en México 1990-1997. México, Octubre 1997. pp 1-8

Snijders, C.H.A. 1989. Current status of breeding wheat for *Fusarium* head blight resistant and mycotoxin problem in the Netherlands. Foundation of Agricultural Plant Breeding. Wageningen. In: M.M. Kohli (ed.). Taller sobre la Fusariosis de la espiga en América del sur. México, D.F. CIMMYT. Pp 141-144

Snijders, C.H.A., and Perkowski, J. 1990. Effects of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and weight of wheat kernels. *Phytopathology* 80(6): 566-570.

Snijders, C. H. A., and Krechting, C. F. 1992. Inhibition of deoxynivalenol translocation and fungal colonization in *Fusarium* head blight resistant wheat. *Can. J.Bot.* 70(8): 1570-1576.

Sutton, J. C. 1981. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4(2): 195-209.

Suty, A. and Mauler-Machnick, A. 1996. *Fusarium* head blight on wheat-new findings on the epidemiology and control of *Gibberlla zea* the teleomorph of *Fusarium graminearum* with Follicur. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 49(1): 55-69.

- Trenholm L., Prelusky, D. B. Young J. C. y. Miller, J. D. 1990. La reducción de micotoxinas en alimentos para animales. Publicación No. 1827 de Agricultura de Canadá. México. D. F. CIMMYT.
- Van Ginkel, M., Van, D. S., Zhuping, W.Y. and Rajaram, S. 1996. Inheritance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. *Plant Disease* 80(8): 863-867.
- Viedma, L 1989. Importancia y distribución de la fusariosis del trigo en Paraguay. En: M.M. Kohli (ed.). Taller sobre la Fusariosis de la espiga en América del sur. México, D.F. CIMMYT.
- Yoshizawa, T. Morooka, N. (1974). Studies on the toxic substances in the infected cereals. III. Acute toxicities of new trichothecene mycotoxins: deoxynivalenol and its monoacetates. *J Food Hyg Soc Jpn* 15, 261-269.
- Xu Y-G and Chen L-F. 1993. Wheat Scab: Theory and practice on control. Jiansu Science and Technology Publishing House, Nanjing.
- Wang Y-Z, Yang X-N, Xiao Q. P. 1982. The improvement of identification technique for scab resistance of wheat and the development of resistance sources, *Scientia Agricultura Sinica*. 5: 67-77.
- Walsh, E. J., Fanning and Bannon E. 1998. An evaluation of screening techniques to assess Fusarium head blight resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Cereal Research Communications*. 26 (1): 59-65.

- Wang Y. Z. and J. D. Miller. 1988. Effects of *Fusarium* metabolites on wheat tissue in relation to *Fusarium* head blight resistance. *J. Phytopathol.* 122, 118-125.
- Wilcoxson, R. D., Kommedahl, T., Ozmon, E.A ., and Windels, C.E. 1988. Occurrence of *Fusarium* species in scabby wheat from Minnesota and their pathogenicity to wheat. *Phytopathology* 78(5): 586-589.
- Wiese, M.V. 1977. Compendium of wheat diseases. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota. USA.
- Zhou C-F, Xia S-S. 1984. Preliminary research on the breeding for *Fusarium* head blight-resistant wheat. *Jiangsu Agricultural Science* (2):15-18
- Zillinsky, F. 1984. Guía para identificación de enfermedades en cereales de grano pequeño. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. México, D.F. 142 P.

## VII. APENDICE

### Medios de cultivos utilizados

#### 1. Agar-Agua

Componentes:

Agar                    15-20 g

Agua destilada    1000 ml

Preparación: En un matraz de 1 lt, agregar 10 gr de agar y agregar 500 ml de agua. Sellar el matraz con un tapón de algodón o papel aluminio y esterilizarlo por 20 min a 16 lb de presión.

#### 2. Papa-Dextrosa-Agar (PDA)

Componentes:

Papas partidas        400 g

Dextrosa                20 g

Agar Bacteriológico 20 g

Agua destilada        1000 ml

Preparación: hervir 200 g de papas en 500 a 600 ml de agua destilada durante 30 a 35 minutos. La suspensión se filtra y se pasa por una gasa, el filtrado se coloca en un matraz con 10 g de dextrosa y 10 de agar bacteriológico, y luego se le afora con agua destilada hasta 500 ml.

Sellar el matraz con un tapón de algodón o papel aluminio y esterilizarlo por 20 min a 16 lb de presión.

Se deja enfriar en baño maria a 50 °C y se vacía aproximadamente 20 ml en cajas Petri de 8.5 cm de Ø y 1.2 cm de alto.

### **3. Hojas de Clavel-Agar (CLA)**

Componentes:

Agar 20 g

Agua destilada 1000 ml

Trocito de hojas de clavel (Previamente liofilizadas)

Preparación: En un matraz de 1 lt, agregar 10 g de agar y diluir en 500 ml de agua destilada, y esterilizar por 20 min. a 16 lb de presión, se pone en baño maria a una temperatura de 50 °C, se vacía en cajas Petri el agar; cuando el agar está cerca del punto de solidificación, se colocan de tres a cinco trocitos de hojas en cada caja, de tal forma que queden incluidos en la parte superior del agar.

### **4. Medio de incremento para *Fusarium graminearum* Fríjol chino (*Phaseolus aureus* Roxb.):**

éste medio es eficiente para producir inóculo en grandes cantidades.

Componentes:

Frijoles chinos 20 gr

Agua destilada 1000 ml

Preparación: se hierven los frijoles en agua durante 20 minutos y se filtra; el filtrado se esteriliza por 20 minutos en matraces de 500 ml (sólo llenar a la mitad).

Se inoculan los matraces y se hacen crecer durante 5 días bajo agitación constante.