



## Variabilidad morfológica/patogénica de *Fusarium verticillioides* en la Ciénega/Chapala, México y evaluación de técnicas de inoculación<sup>1</sup>

### Morphological/pathogenic variability of *Fusarium verticillioides* in La Ciénega/Chapala, Mexico and inoculation techniques evaluation

Norma Y. Zacamo-Velázquez<sup>2</sup>, Javier Ireta-Moreno<sup>3</sup>, Yolanda Salinas-Moreno<sup>3</sup>, Víctor M. Gómez-Rodríguez<sup>2</sup>, Humberto Ramírez-Vega<sup>2</sup>, Raquel Martínez-Loperena<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Recepción: 10 de enero, 2022. Aceptación: 18 de mayo, 2022. Este trabajo formó parte de la tesis doctoral de la primera autora. Doctorado en Biociencias. Centro Universitario de los Altos. Universidad de Guadalajara, México.

<sup>2</sup> Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de los Altos. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. normita\_zave@hotmail.com (<https://orcid.org/0000-0003-0926-8081>), victor.gomez@cualtos.udg.mx (<https://orcid.org/0000-0003-2551-6938>), humberto.rvega@academicos.udg.mx (<https://orcid.org/0000-0002-5935-4618>), raquel.martinez@cualtos.udg.mx (<https://orcid.org/0000-0003-2447-9735>).

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. salinas.yolanda@inifap.gob.mx (autor para correspondencia; <https://orcid.org/0000-0001-8145-2225>), ireta.javier@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0003-4079-6931>).

## Resumen

**Introducción.** La pudrición de mazorca en maíz causada por *Fusarium verticillioides* es una enfermedad de las más importantes en el mundo. En México ocasiona pérdidas de hasta 30 %. El incremento en los niveles de esta enfermedad en los últimos años requiere inspecciones en las zonas productoras para identificar las principales cepas que afectan el grano de maíz. **Objetivo.** Determinar la variabilidad morfológica y patogénica de aislados de *F. verticillioides* de muestras de maíz de la zona productora de maíz La Ciénega/Chapala, México, e identificar la mejor técnica de inoculación del patógeno en mazorcas. **Materiales y métodos.** Se obtuvieron veinte aislamientos de *F. verticillioides* de muestras de granos de maíz con síntomas de la enfermedad. Los aislamientos se usaron para inocular, mediante diferentes técnicas, mazorcas en desarrollo (R2) del maíz P-3057 cultivado en Tepatitlán, Jalisco en el ciclo Primavera/Verano 2019 bajo condiciones de temporal. Se evaluó la incidencia y severidad de la infección (SDI) de los aislamientos y la morfología microscópica de las cepas. **Resultados.** Los aislamientos de *F. verticillioides* difirieron en color de la colonia, tipo de micelio, abundancia y coloración del micelio vegetativo. La incidencia y severidad fueron estadísticamente diferentes entre los aislamientos de *F. verticillioides* y las técnicas de inoculación probadas, con interacción entre aislamientos y técnicas de inoculación. La incidencia de la enfermedad mostró valores de 82 y 95 % con las técnicas de inoculación por aspersión y del palillo, respectivamente. La SDI varió entre 8 % y 15,5 % con las técnicas de inoculación por aspersión y palillo, en ese orden. **Conclusiones.** Las cepas de *F. verticillioides* mostraron variabilidad para patogenicidad y severidad de la infección. La patogenicidad se relacionó con la técnica de inoculación utilizada. La técnica de inoculación del palillo fue la que presentó mayor incidencia y severidad de la infección.

**Palabras clave:** *Zea mays*, pudrición de mazorca, técnica de inoculación.



## Abstract

**Introduction.** Corn ear rot caused by *Fusarium verticillioides* (*F. verticillioides*) is one of the most important diseases in the world. In Mexico it causes losses of up to 30 %. The increase in the levels of this disease in the last years requires inspections in producing areas to identify the main strains that damage the grain. **Objectives.** To determine the morphological and pathogenic variability of *F. verticillioides* isolates from corn samples from the corn producing area of La Ciénega/Chapala, Mexico, and to identify the best technique for inoculating the pathogen in ears. **Materials and Methods.** Twenty isolates of *F. verticillioides* were obtained from samples of corn kernels with disease symptoms. The isolates were used to inoculate, with the use of different inoculation techniques, developing corn cobs (R2) of P-3057 cultivated in Tepatitlán, Jalisco during the Spring/Summer 2019 agricultural cycle under rainfed conditions. The incidence and severity of the disease (SDI) of the isolates and the microscopic morphology of the strains were evaluated. **Results.** *F. verticillioides* isolates differed in colony color, mycelial type, abundance, and vegetative mycelial coloration. The incidence and severity were statistically different between *F. verticillioides* isolates and inoculation techniques tested. Interaction between isolates and inoculation technique was observed. The disease incidence showed values of 82 and 95% with aspersion and toothpick inoculation techniques, respectively. The SDI varied between 8 and 15.5 % with the aspersion and toothpick techniques, in that order. **Conclusions.** *F. verticillioides* strains showed variability for pathogenicity and severity of infection. Pathogenicity was related to the inoculation technique used. The toothpick inoculation technique was the one that presented the highest incidence and severity of infection.

**Keywords:** *Zea mays*, ear rot, inoculation technique.

## Introducción

México ocupa el octavo lugar en producción de maíz en el mundo (Fideicomisos Instituidos con Relación a la Agricultura [FIRA], 2016), con veintiocho millones de toneladas en las dos principales modalidades de cultivo (temporal y riego). A nivel nacional, el estado de Jalisco es el principal productor de maíz de temporal, con una producción de 3,6 millones de toneladas (Sistemas de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2021). La zona productora comercial más importante en el estado es la región de La Ciénega de Chapala (Ciénega/Chapala), que incluye trece municipios que conjuntan una superficie aproximada de 351 296 ha cultivadas con maíz para grano (SIAP, 2021).

A nivel mundial, el promedio de las pérdidas post-cosecha en maíz varían entre 30 y 60 % (Gitonga et al., 2013) y se atribuyen a factores tanto bióticos como abióticos (García-Lara & Bergvinson, 2007; López-Castillo et al., 2018). De los factores bióticos, destacan por su incidencia, las plagas de almacén y las pudriciones de mazorca causadas por hongos del género *Fusarium* (Vázquez Badillo & Moreno Martínez, 2016), cuyas especies se consideran los patógenos más comunes en el maíz (Wang et al., 2021).

El agente causal de la pudrición de mazorca, que es la enfermedad más importante del cultivo de maíz en todo el mundo, es *F. verticillioides* (Wit et al., 2011). El primer síntoma de daño es una coloración rosa-salmón o café rojiza sobre la superficie del grano o grupos de granos, seguida de grietas sobre el pericarpio (Lanubile et al., 2017).

Los impactos negativos de esta pudrición son de carácter económico y de salud. En el primero, la afectación en la calidad del grano representa pérdidas para el productor, al aplicarse un castigo cuando excede el máximo de grano dañado según el grado de calidad del maíz (Secretaría de Economía, 1995); en el segundo, el hongo al desarrollar y crecer sobre los granos de maíz produce compuestos tóxicos (micotoxinas) denominados fumonisinas (Torres-Sánchez & López-Carrillo, 2010). Algunas fumonisinas, como las del tipo B, son consideradas como agentes cancerígenos por la Agencia internacional de investigación en cáncer (IARC) (Torres-Sánchez & López-

Carrillo, 2010). Estas micotoxinas están relacionadas con enfermedades como leucoencefalomalacia en equinos, edema pulmonar en cerdos y cáncer de esófago en humanos (Missmer et al., 2006; Torres-Sánchez & López-Carrillo, 2010).

Para *F. verticillioides* se han aislado e identificado un número elevado de cepas o razas con diferente grado de virulencia y patogenicidad (Duncan & Howard, 2010; Rangel-Castillo et al., 2017). Se ha constatado que no todas las cepas de este patógeno producen fumonisinas. La relación entre pudrición de mazorca y presencia de fumonisinas no ha sido demostrada para *F. verticillioides* (Covarelli et al., 2012).

La patogenicidad y virulencia de las diferentes especies de hongos está sustentada en su diferenciación genética (Rauwane et al., 2020). Esta característica no es ajena a *F. verticillioides*, ya que la diferenciación genética de sus cepas está influenciada por las particularidades climáticas de la localidad de producción y el genotipo de maíz utilizado (Silva et al., 2017).

La selección de genotipos de maíz tolerantes a pudriciones de grano causadas por *Fusarium*, requiere que se realicen infestaciones de mazorca en campo, para lo cual se recurre a diferentes técnicas. Entre las más utilizadas se hallan la de aspersión de estigmas y la de infestación con palillo. No obstante, no se tienen resultados contundentes respecto a que técnica es la más efectiva para seleccionar materiales tolerantes a pudrición de mazorca.

Las condiciones climáticas de cada región productora de maíz, en combinación con los genotipos utilizados, determinan la incidencia y magnitud del daño que *Fusarium* puede causar (Covarelli et al., 2012; Silva et al., 2017); sin embargo, los cambios en temperatura y la humedad y distribución del patrón de lluvias en las diferentes zonas productoras de maíz en el mundo, atribuidos al cambio climático, hacen necesario un monitoreo periódico de los patógenos asociados con la pudrición de mazorca.

El objetivo del presente estudio fue determinar la variabilidad morfológica y patogénica de aislados de *F. verticillioides*, de muestras de maíz de la región Ciénega de Chapala, México, e identificar la mejor técnica de inoculación del patógeno en mazorcas.

## Materiales y métodos

### Material biológico

Durante la temporada de cosecha del ciclo PrimaveraVerano/2018, se obtuvieron 319 muestras de grano de maíz en un centro de acopio de la Barca, Jalisco, ubicado a una altitud de 1529 m en las coordenadas 20°17'0" latitud norte y 102°34'0" longitud oeste. Las muestras provinieron del muestreo que realiza el centro de acopio en los camiones que llegan a entregar el grano. El muestreo se realizó con una balloneta neumática en cinco puntos diferentes, se obtuvo 1 kg por punto, sobre la superficie del grano contenido en el camión que transportaba 15 t. Esta muestra se redujo por el método de cuarteo a 1 kg y se llevó al Laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), donde se determinó el porcentaje de infección (PI) por hongos de cada muestra. Se consideró con daño por hongos todos aquellos granos que presentaban daño con coloración rosada, presencia de micelio y aspecto de grano chupado. El PI en las 319 muestras varió entre 3,8 y 26 %. De estas se seleccionaron once con PI entre 14-26 %, a partir de las cuales se realizaron los aislamientos de *F. verticillioides*.

### Aislamiento de cepas de *F. verticilloides*

De cada una de las once muestras se tomaron cinco granos de maíz con infección por *Fusarium*. Para precisar la condición de daño, se consideró la sintomatología ya descrita en el párrafo anterior. Los granos se lavaron con

agua de grifo por 5 min para eliminar impurezas. Se desinfectaron sumergiéndolos en una solución de alcohol al 70 % en agitación constante durante 45 s y se enjuagaron cuatro veces con agua destilada estéril. Una segunda desinfección se realizó con hipoclorito de sodio al 1 % en agitación constante por 45 s. Se repitió el lavado con agua destilada estéril para eliminar residuos del agente desinfectante y se dejaron secar dentro de la campana de flujo laminar. Luego, se sembraron en una caja Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (Bioxon). Las cajas Petri con los granos se mantuvieron a temperatura ambiente en condiciones alternas de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Cinco días después de la siembra, se revisaron las cajas para ver los crecimientos miceliales sobre cada grano. Los crecimientos miceliales con características morfológicas de *F. verticillioides*, según el manual de Leslie & Summerell (2006), se aislaron en medio papa dextrosa agar (PDA).

### **Purificación de cepas de *F. verticillioides***

Los aislamientos de *F. verticillioides*, se sembraron en medio de cultivo agar-agua (AA) y se incubaron a temperatura ambiente durante siete días, bajo condiciones alternas de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Estos aislamientos se purificaron por el método punta de hifa. Por cada aislamiento se realizaron cinco purificaciones con este método. En total se obtuvieron veinte aislamientos purificados que se crecieron en cajas Petri con medio PDA. A los siete días de crecimiento, se tomó micelio de cada aislamiento para observarlo en microscopio compuesto (Olympus, modelo CX31, Melville, NY, USA), con los objetivos 10X y 40X. El proceso de purificación de las cepas de *F. verticillioides*, así como la identificación morfológica con base en las características microscópicas de los aislamientos, se realizó conforme al manual de Leslie & Summerell (2006). La apreciación de los colores desarrollados por cada aislamiento en la caja Petri se realizó entre 8-10 días de crecimiento.

### **Preparación de inóculo de cepas de *F. verticillioides***

Las veinte cepas seleccionadas, se sembraron por separado en caldo de cultivo papa-dextrosa. Para la preparación del caldo, se utilizaron 200 g de tubérculo de papa sin pelar, que se cortaron en trozos y se hirvieron en 500 mL de agua destilada. Una vez fría la mezcla, se filtró y se centrifugó para retirar los residuos de tubérculo. El sobrenadante se aforó a 1 L, se le agregaron 20 g de dextrosa en polvo (Bioxon) y se esterilizó en autoclave a 121 ° C por 20 min. A un matraz estéril de 500 mL se añadieron 250 mL de caldo de papa y se inoculó con un trozo (0,7 cm de diámetro) de crecimiento de las cepas de *F. verticillioides*. El matraz se mantuvo en un agitador orbital (Labnet, Edison, Nueva Jersey, USA) a 150 rpm, por siete días en ciclos de 12 h luz / 12 h oscuridad. Este procedimiento se realizó para cada una de las veinte cepas. Siete días después de la inoculación, se realizó un conteo de conidios con una cámara de Neubauer. De cada cepa se realizaron diluciones de conidios hasta obtener una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios por mL, que se utilizaron en las diferentes técnicas de inoculación.

### **Evaluación de técnicas de inoculación asistida en elote de maíz, con las cepas de *F. verticillioides* aisladas**

El ensayo se estableció en los terrenos del Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, ubicado en Tepatitlán de Morelos, Jalisco, durante el ciclo Primavera-Verano del año 2019. Como material vegetal se utilizó el híbrido P-3057, que es un maíz de grano blanco cultivado en la zona Altos de Jalisco, catalogado como tolerante a pudriciones de mazorca. Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas, se seleccionaron 42 surcos (dos surcos por aislamiento) de 30 m de largo y 0,8 m de ancho. La siembra se realizó el 17 de julio y la inoculación del elote se efectuó el 10 de octubre. En la estación meteorológica del sitio donde se estableció el experimento de campo, se obtuvieron datos de temperatura media, precipitación y humedad relativa durante el desarrollo del cultivo.

Se utilizaron cinco técnicas de inoculación asistida: 1) aspersión de estigmas (A), con la ayuda de un atomizador manual, limpio y estéril, se asperjaron 5 mL de inóculo sobre los estigmas; 2) doble aspersión de estigmas (DA), se realizó dos veces la aspersión de estigmas con 5 mL de inóculo, con una separación de siete días entre la primera y la segunda aspersión; 3) inyección en la punta de la mazorca (IPM), se inyectaron 5 mL de inóculo con una jeringa estéril en la punta de la mazorca en desarrollo (elote); 4) inyección en los lados de la mazorca (ILM), en la que se inyectó 1 mL de inóculo por los costados de la mazorca, en total se aplicaron 5 mL; 5) inserción de un palillo de dientes (IPD), se tomó inóculo con el palillo de dientes y se mantuvo en forma paralela a la mazorca, de manera que permaneciera en contacto directo con los estigmas y las ampollas o “blíster” (Mesterházy et al., 2012).

Las cinco técnicas se aplicaron con cada uno de los veinte aislamientos seleccionados. Para cada aislamiento se inocularon cincuenta plantas que se hallaban en la etapa de desarrollo reproductivo R2, denominada “blíster” (Gordon, 2021), lo que ocurrió a los 86 días después de la siembra. Se emplearon diez plantas para cada técnica de inoculación. En las parcelas testigo, conformadas por diez plantas para cada técnica, solo se usó agua estéril o palillos estériles, según correspondiera. La infestación que experimentó el testigo fue natural, por las esporas del hongo presentes en su alrededor. Después de la inoculación de las mazorcas en desarrollo con cada una de las técnicas, esta se cubrió con una bolsa de papel. La cosecha de las parcelas se realizó de forma manual en diciembre del 2019, con una humedad de grano  $\pm 25$  %. La incidencia se calculó por medio del número total de mazorcas con presencia de infección y el número de mazorcas tratadas, mediante la ecuación 1.

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{No. de mazorcas con síntomas de infección}}{\text{No. de mazorcas tratadas}} \times 100 \quad (1)$$

Para calcular la severidad de la enfermedad, que se consideró como la relación entre el área de infección de la mazorca entre la superficie total de esta, se empleó la ecuación 2.

$$\% \text{ Severidad} = \frac{\text{Área de infección}}{\text{Área total de la mazorca}} \times 100 \quad (2)$$

### Análisis estadístico de los datos

Los datos de incidencia y severidad expresados en porcentajes, se transformaron con la fórmula  $\sqrt{x+1}$ , (Gómez & Gómez, 1984), para ajustarse a los lineamientos de homogeneidad de varianzas y distribución normal requeridos para el análisis de varianza que se realizó para cada variable, con las técnicas de inoculación y los diferentes aislamientos de *F. verticillioides* como fuentes de variación. Cuando se obtuvo diferencia significativa entre tratamientos, se realizaron pruebas de comparación de medias con Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Se obtuvo el peso de las mazorcas inoculadas con cada uno de los aislamientos de *F. verticillioides* y se realizó un análisis de regresión con los datos de severidad de infección. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS versión 9.3.

## Resultados

### Diversidad morfológica de los aislamientos de *F. verticillioides*

En las once muestras de grano seleccionadas para realizar los aislamientos de *F. verticillioides*, se presentó crecimiento de diferentes hongos, entre los cuales se identificaron a nivel morfológico: *Cladosporium sp.*,

*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. y *Fusarium graminearum*. Las características morfológicas de los microconidios y las características particulares del micelio desarrollado por cada uno de los veinte aislamientos de *F. verticillioides* se presentan en el Cuadro 1. Las diferencias entre aislamientos se encontraron en el color de la colonia, el tipo de micelio y su abundancia, así como la coloración del micelio vegetativo, que se apreció en el fondo de la caja Petri en que creció la colonia.

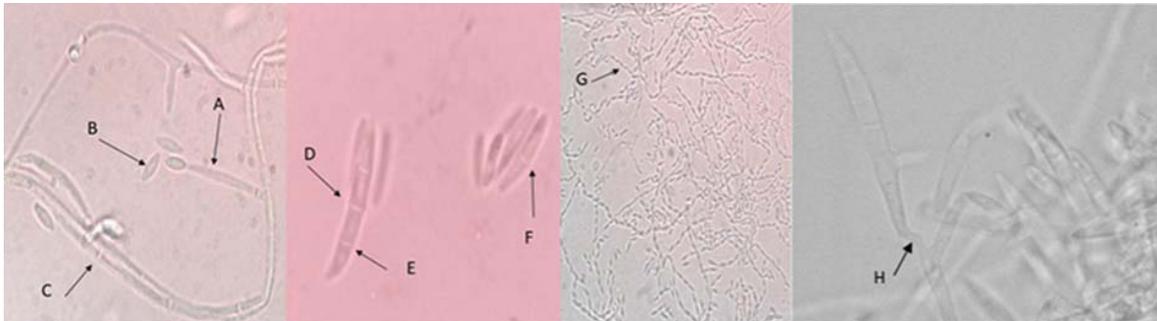
**Cuadro 1.** Características macro y microscópicas de veinte aislamientos de *F. verticillioides* obtenidos de las muestras de grano de maíz de la región Ciénega/Chapala (2018). Laboratorio de Fitopatología, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

**Table 1.** Macro and microscopic characteristics of twenty isolates of *F. verticillioides* obtained from maize grain samples from the Ciénega/Chapala region (2018). Phytopathology Laboratory, Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlan de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.

No.	Características microscópicas /conidios)			Características macroscópicas		
	Identidad	Forma	Fiálide	Color de la colonia	Tipo de micelio	Color de micelio vegetativo
1	F.V.	Oval unicelular	Mono	Lila	Poco abundante	Beige/gris
2	K220	Oval unicelular	Mono	Blanco	Poco abundante	Beige
3	K23	Oval unicelular	Mono	Blanco	Poco abundante	Beige
4	K78	Oval unicelular	Mono	Blanco	Aéreo, poco abundante	Beige/gris/violeta
5	K212	Oval unicelular	Mono	Violeta	Aéreo, medianamente abundante	Beige
6	K5	Oval unicelular	Mono	Blanco, con tonalidades violeta	Compacto, medianamente abundante	Gris intenso
7	K49	Oval unicelular	Mono	Blanco, violeta	Compacto, abundante	Violeta
8	K214-3	Oval bicelular	Mono	Blanco	Compacto, abundante	Violeta tenue
9	K214-2	Oval unicelular	Mono	Rojo	Poco abundante, blanco	Rojo abundante
10	K214-1	Oval unicelular	Mono	Blanco	Micelio aéreo, abundante	Beige/gris
11	K92	Oval unicelular	Mono	Blanco	Aéreo, poco abundante	Beige/rosa
12	K163-2	Oval unicelular	Mono	Blanco con tonalidades lila	Compacto, abundante	Rosa/salmon/gris
13	T1	Oval unicelular	Mono	Blanco con rojo	Aéreo, poco abundante	Rojo intenso
14	K1	Oval bicelular	Mono	Blanco con marrón	Compacto, poco abundante	Marrón
15	K221	Oval unicelular	Mono	Blanco con violeta	Compacto abundante	Salmón/rosa
16	K14	Oval unicelular	Mono	Violeta	Compacto, abundante	Violeta
17	K163-3	Oval unicelular	Mono	Blanco con rojo	Compacto abundante	Rosa
18	T2	Oval unicelular	Mono	Blanco con gris y marrón rojizas	Compacto, abundante	Gris/azul
19	K73	Oval unicelular	Mono	Blanco con rosa	Compacto, abundante	Salmón/rosa
20	K213	Oval unicelular	Mono	Blanco con gris-violeta	Compacto, abundante	Salmón/beige/gris

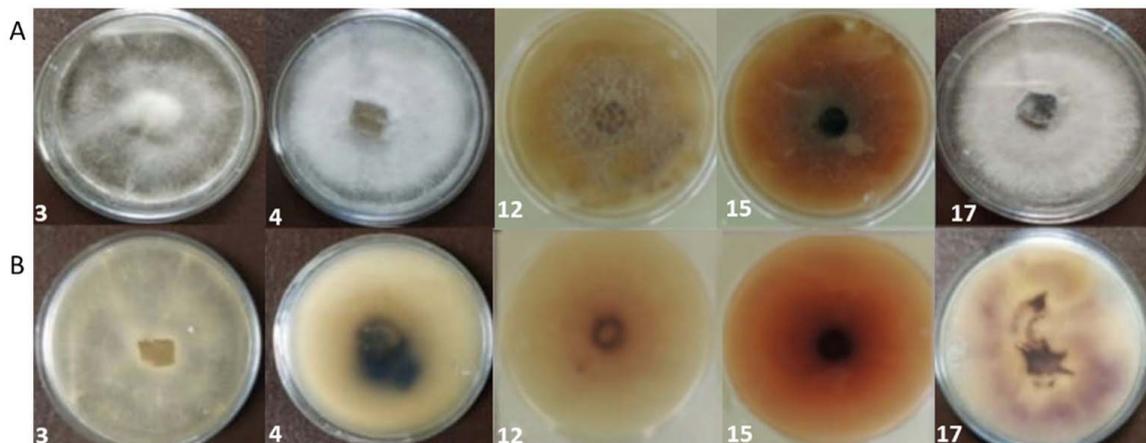
Las cepas de *F. verticillioides* presentaron microconidios unicelulares (característicos de este hongo) y monofiálides. En algunos aislamientos se observaron macroconidios poco abundantes, hialinos, con tres a siete septos y ausencia de clamidosporas (Figura 1).

Crecimientos representativos de los veinte aislamientos de *F. verticillioides* se muestran en la Figura 2. La diversidad de micelios reproductivos fueron compactos y aéreos color blanco, amarillo y ocre, que conforme pasó el tiempo, el micelio vegetativo adquirió coloraciones violeta (Figura 2A) y en algunas cepas se formaron agrupaciones de microconidios con coloraciones salmón, rosada y púrpura (Figura 2B).



**Figura 1.** Estructuras morfológicas de *F. verticillioides*. **A:** Conidioforo; **B:** Microconidio unicelular; **C:** Micelio septado; **D:** Macroconidio en forma de canoa septado; **E:** Septo de macroconidio; **F:** Microconidios bicelulares **G:** Microconidios unicelulares en cadena larga; **H:** Fiálides. Laboratorio de Fitopatología, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

**Figure 1.** Morphological structures of *F. verticillioides*. **A:** Conidiophore; **B:** Unicellular microconidium; **C:** Septate mycelium; **D:** Septate canoe-shaped macroconidium; **E:** Septate of macroconidium; **F:** Bicellular microconidia; **G:** Unicellular microconidia in long chain; **H:** Phialides. Phytopathology Laboratory, Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlan de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.



**Figura 2.** Aspecto del crecimiento y desarrollo de *F. verticillioides* en cajas Petri representativas de la variabilidad observada en características macroscópicas en las veinte cepas. Laboratorio de Fitopatología, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

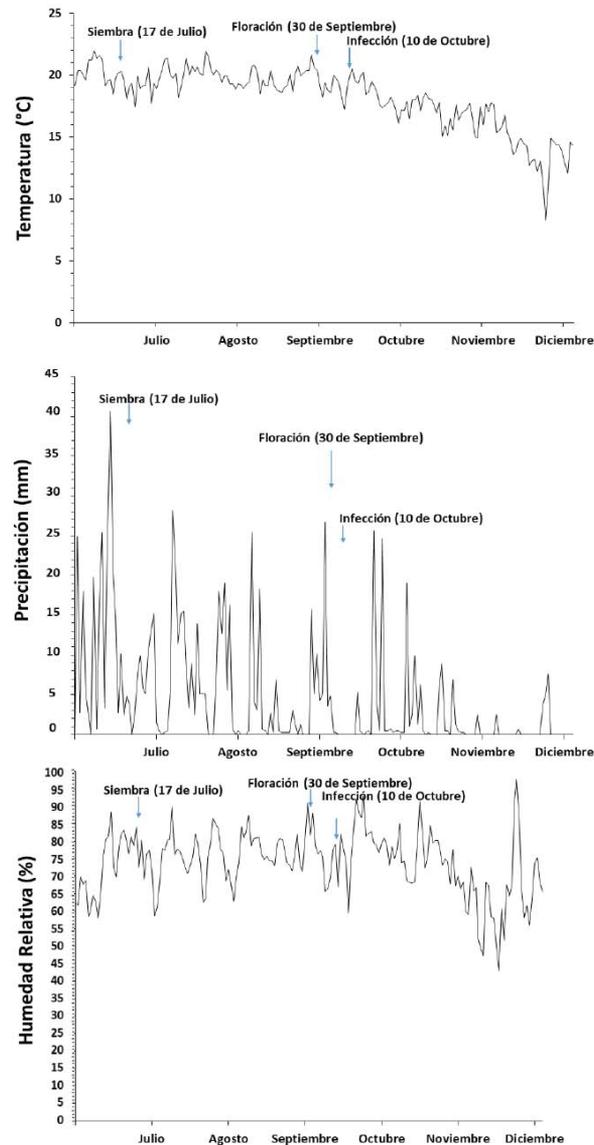
**A)** Micelio reproductivo: 3: Micelio blanco poco abundante, 4 y 17: Micelio compacto-abundante, 12: Micelio con tinte amarillo, 15: Micelio con tinte ocre. **B)** Micelio vegetativo, 3: Coloración beige, 4: Coloración beige con presencia de pigmentación gris-violeta, 12: Coloración beige con tonalidad rosa en el centro de la caja, 15: Coloración ocre con mayor intensidad al centro de la caja Petri, 17: Coloración beige con tonalidades violeta.

**Figure 2.** Aspect of growth and development of *F. verticillioides* in Petri dish representative of the variability in macroscopic characteristics observed in the twenty strains. Phytopathology Laboratory, Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlan de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.

**A)** Reproductive mycelium: 3: Little abundant white mycelium, 4 and 17: Compact-abundant mycelium, 12: Yellow tint mycelium, 15: Ocher tint mycelium. **B)** Vegetative mycelium: 3: Beige coloration, 4: Beige coloration with presence of gray-violet pigmentation, 12: Beige coloration with a pink hue in the center of the dish, 15: Ocher coloration with greater intensity in the center of the Petri dish, 17: Beige coloration with violet tones.

### Incidencia y severidad de la infección por técnica de inoculación

Los datos de temperatura media, precipitación y humedad relativa, que prevalecieron durante el desarrollo del cultivo del maíz P-3057 se observan en la Figura 3. La temperatura promedio en la fecha de la inoculación

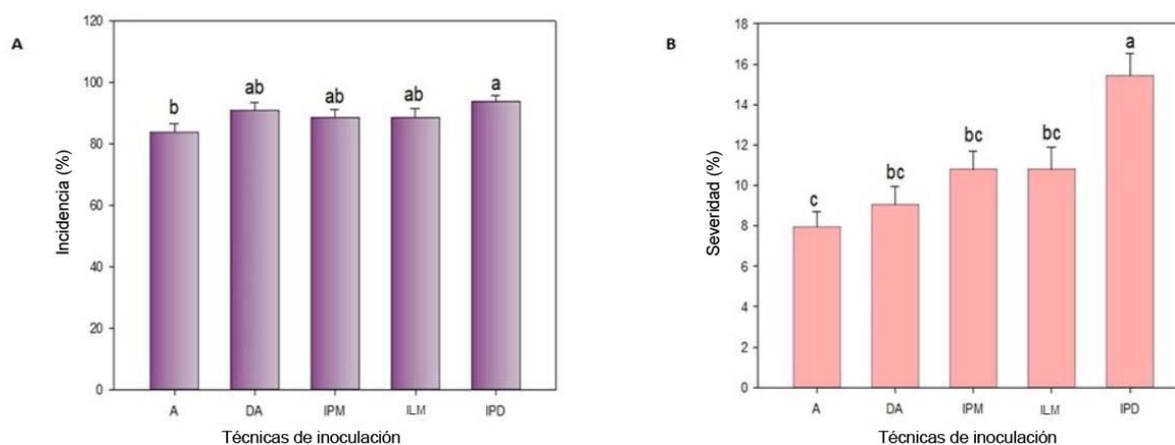


**Figura 3.** Datos climáticos del sitio donde se realizó el experimento de campo de las técnicas de inoculación con los diferentes aislamientos de *F. verticillioides*. Los datos se obtuvieron de julio a diciembre de 2019 en la Estación Meteorológica del Campo Experimental Centro altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

**Figure 3.** Climatic data of the site where the field experiments of the inoculation techniques of the different isolates of *F. verticillioides* were carried out. The data were obtained from July to December, 2019, in the Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL) Meteorological Station, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlan de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.

(infección) fue de alrededor de 16 °C, en tanto que no se presentó precipitación ese día. Sin embargo, la humedad relativa se hallaba cercana a 94 %, debido a una fuerte precipitación ocurrida dos días antes. Después de realizada la infección, la temperatura promedio tendió a decrecer.

Se presentó efecto de la técnica de inoculación en las variables de incidencia y severidad (Figura 4). Los porcentajes de incidencia de la enfermedad en el grano del maíz híbrido P-3057, fueron diferentes ( $p < 0,05$ ) entre las técnicas de inoculación A (84,3 %) e IPD (95 %). Las técnicas DA, IPM e ILM, mostraron una incidencia de la enfermedad igual estadísticamente entre ellas, pero mayor que la técnica A y menor que la técnica IPD (Figura 4A). En lo referente a la severidad de la infección (SDI), la mayor se observó con la técnica IPD, en tanto que la menor se obtuvo con la técnica A. Al igual que ocurrió con la incidencia de la enfermedad, en la severidad no se presentó diferencia ( $p > 0,05$ ) entre las técnicas DA, IPM e ILM (Figura 4B).



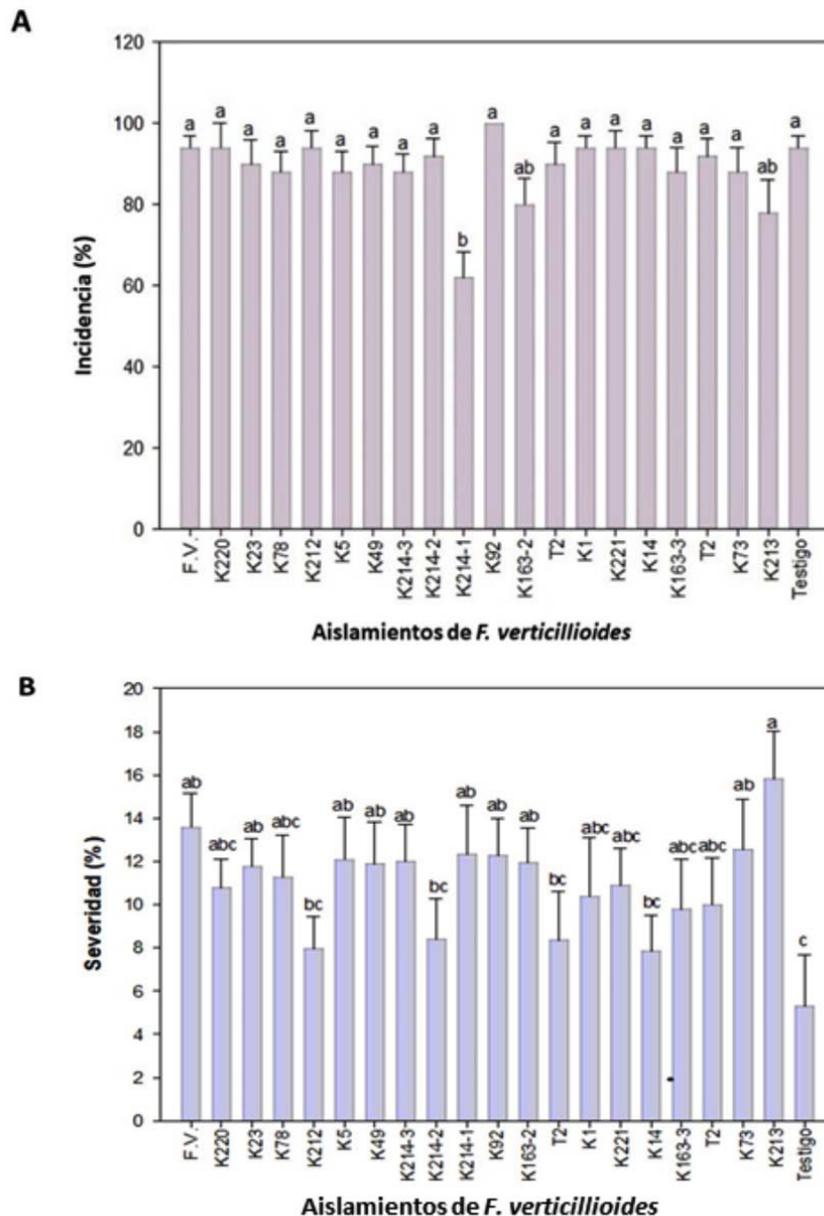
**Figura 4.** Valores promedio de incidencia (A) y severidad de la infección (B) de veinte aislamientos de *F. verticillioides* utilizados en la evaluación de las técnicas de inoculación en mazorcas de maíz. Laboratorio de Fitopatología, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

**Figure 4.** Average values of incidence (A) and severity of infection (B) of the twenty isolates of *F. verticillioides* used in the inoculation techniques evaluated. Phytopathology Laboratory, Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlan de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.

### Incidencia y severidad de la infección por aislamientos de *F. verticillioides*

Todos los aislamientos de *F. verticillioides* mostraron igual ( $p > 0,05$ ) incidencia de la enfermedad que el testigo, excepto la cepa K-214-1, que mostró un valor menor de 80 % (Figura 5A).

Con respecto a la SDI de los aislamientos, se apreció variabilidad entre las cepas, con un rango para esta variable entre 8 y 15,5 % (Figura 5B). El aislamiento que mostró mayor severidad fue K213. Los aislamientos con la menor severidad fueron K212, K214-2, T2 y K14, que no mostraron diferencia con relación al testigo.



**Figura 5.** Incidencia (A) y severidad (B) de la infección de los aislamientos de *F. verticillioides* inoculados mediante cinco técnicas distintas en mazorcas en desarrollo del maíz P-3057. Laboratorio de Fitopatología, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

**Figure 5.** Incidence (A) and severity (B) of infection of the *F. verticillioides* isolates inoculated with five different inoculation techniques in growth corn cob of the P-3057 hybrid. Phytopathology Laboratory, Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlan de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.

Means with different letters are statistically different ( $p \leq 0.05$ ).

### Severidad de la infección por aislamiento y técnica de inoculación

La interacción aislamiento x técnica de inoculación fue altamente significativa ( $p < 0,01$ ) para la variable SDI, lo que indica que al menos un aislamiento se comportó diferente entre las técnicas probadas. Los valores variaron entre 4,2 y 31,87 %, con los menores porcentajes en esta variable para la técnica A y los mayores para la técnica IPD. Un porcentaje elevado de los aislamientos (45 %) incrementaron la SDI con la técnica DA en relación con la técnica A (Cuadro 2). La mayoría de los aislamientos mostraron una SDI igual ( $p \leq 0,05$ ) que el testigo, con excepción de K220, K23, K214-3, K163-2 y K213 que exhibieron mayor ( $p \leq 0,05$ ) SDI. La mayoría de los aislamientos con SDI mayor que el testigo, mostraron este resultado con la técnica de inoculación IPD, excepto K213 que desarrolló este resultado también con la técnica ILM.

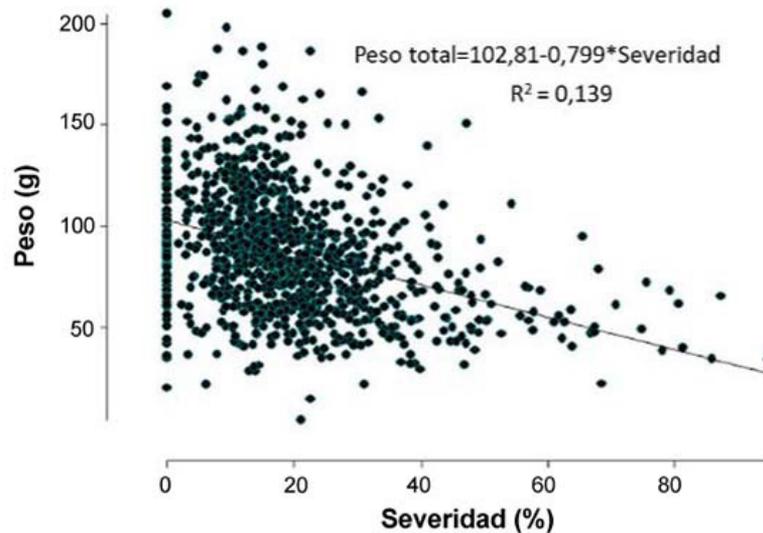
**Cuadro 2.** Medias de severidad de infección (%) mostradas por cada uno de los aislamientos de *F. verticillioides* con cada técnica de inoculación en mazorcas de maíz híbrido P-3057 cultivado bajo condiciones de temporal durante el ciclo primavera/verano 2019. Laboratorio de Fitopatología, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

**Table 2.** Infection severity (%) means showed by each of the isolations of *F. verticillioides* with each inoculation technique in corn cobs of the P-3057 hybrid growth under rainfed conditions during the Spring/Summer 2019. Phytopathology Laboratory, Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.

Aislamiento	Severidad de la infección (%) en las diferentes técnicas de inoculación					Media de severidad por técnica
	A	DA	IPM	ILM	IPD	
FV	6,42 bcd	14,49 abcd	12,69 abcd	17,82 abcd	18,26 abcd	13,9
K220	5,39 bcd	8,31 abcd	7,58 bcd	8,31 abcd	22,71 abc	10,4
K23	6,40 bcd	9,29 abcd	7,30 bcd	17,77 abcd	23,68 abc	12,9
K78	9,31 abcd	14,90 abcd	11,53 abcd	12,48 abcd	12,1 abcd	12,1
K212	6,46 bcd	8,47 abcd	7,66 bcd	5,92 bcd	8,71 abcd	7,4
K5	7,41 bcd	11,22 abcd	18,77 abcd	16,44 abcd	9,64 abcd	12,7
K49	12,44 abcd	18,09 abcd	7,78 abcd	13,64 abcd	14,35 abcd	13,3
K214-3	4,60 bcd	6,28 bcd	8,02 abcd	13,50 abcd	22,91 abc	11,1
K214-2	13,06 abcd	14,10 abcd	9,08 abcd	5,40 bcd	10,54 abcd	10,4
K214-1	8,73 abcd	12,00 abcd	6,59 bcd	10,88 abcd	21,41 abcd	11,9
K92	7,15 bcd	14,79 abcd	13,09 abcd	11,59 abcd	13,68 abcd	12,1
K163-2	7,09 bcd	12,04 abcd	7,10 bcd	12,69 abcd	24,09 ab	12,6
T1	11,60 abcd	5,55 bcd	7,75 bcd	6,06 bcd	17,63 abcd	9,7
K1	9,30 abcd	14,79 abcd	8,06 abcd	8,89 abcd	9,25 abcd	10,1
K221	5,13 bcd	8,38 abcd	10,07 abcd	8,28 abcd	20,36 abcd	10,4
K14	10,88 abcd	6,59 bcd	7,11 bcd	8,06 abcd	13,58 abcd	9,2
K163-3	8,30 abcd	9,37 abcd	9,82 abcd	7,60 bcd	12,24 abcd	9,5
T2	10,28 abcd	10,99 abcd	6,76 bcd	11,28 abcd	13,38 abcd	10,5
K73	7,78 bcd	14,24 abcd	9,40 abcd	12,16 abcd	17,55 abcd	12,2
K213	4,16 bcd	8,53 abcd	13,37 abcd	23,89 ab	31,87 a	16,4
Testigo	3,80 d	10,35 abcd	5,18 bcd	4,83 bcd	3,20 d	5,5
Media de severidad por aislamiento	7,9	10,9	9,3	11,3	16,2	

Medias con letra diferente por columna, difieren significativamente ( $p \leq 0,001$ ). / Means with different letter per column differ significantly ( $p \leq 0,001$ ).

La SDI y el peso de las mazorcas a la cosecha, no estuvieron asociadas, se observó una  $R^2 = -0,139$  (Figura 6). En la distribución de los datos se apreció una relación inversa entre ambas variables, que no fue significativa.



**Figura 6.** Análisis de regresión entre las variables peso total de la mazorca de maíz y severidad de infección con aislamientos de *F. verticillioides*, con un porcentaje de confiabilidad del 95 %. Laboratorio de Fitopatología, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 2019.

**Figure 6.** Regression analysis between the variables total ear weight and severity of infection with *F. verticillioides* isolates, with a reliability percentage of 95 %. Phytopathology Laboratory, Centro Altos de Jalisco Experimental Field (CECEAJAL), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Tepatitlan de Morelos, Jalisco. Mexico. 2019.

## Discusión

Los aislamientos de *F. verticillioides* difirieron en las características del desarrollo de su micelio y color del mismo. Las variantes de pigmentación del micelio después de 8-10 días de crecimiento en caja Petri coinciden con lo informado por otros autores (de la Torre-Hernández et al. 2014). Las cepas de *F. verticillioides* que producen tonalidades violetas en su micelio presentan una elevada virulencia en plántulas de maíz, al reducir de manera notable el desarrollo de la raíz (Solano-Báez et al., 2011). Sin embargo, la relación entre el color violeta del micelio y la patogenicidad de los aislamientos probados no se cumplió en el presente trabajo, ya que las cepas con esta pigmentación no exhibieron la mayor SDI. El aislamiento más virulento fue K213, con micelio de tonalidades beige-salmón-grisáceo. Estudios moleculares realizados con diferentes cepas de *F. verticillioides*, han permitido identificar un conjunto de genes que codifican para la síntesis del complejo enzimático denominado PKS que genera policétidos, la cual se haya ligada la producción de pigmento morado en los cuerpos sexuales del hongo, además de la fumonisina C y el ácido fusárico (Blacutt et al., 2018; Brown et al., 2012).

La diversidad patogénica apreciada en los veinte aislamientos de maíz puede estar dada por su capacidad para producir enzimas que degradan la pared celular para ingresar a su huésped y causar la infección, las cuales podrían ser específicas del hospedero (Shabeer et al., 2021), aunque en este trabajo se observó diversidad de la infección en un solo hospedero (maíz P-3057), lo que podría atribuirse a las características particulares de cada cepa.

La incidencia de la enfermedad no mostró diferencia significativa en dieciocho de los veinte aislamientos y el testigo (Figura 5A), lo que se atribuye a que el hongo es cosmopolita y se presenta en todos los sitios donde se cultiva maíz (Naz et al., 2021), por lo que de manera natural infectó la parcela testigo. Ahora bien, las diferencias significativas en la SDI observadas entre varias de las cepas y el testigo, podrían deberse a la capacidad de cada cepa para producir enzimas líticas y toxinas que facilitan el proceso infeccioso (de la Torre-Hernández et al., 2014).

De las técnicas evaluadas, la del palillo (IPD) fue la más efectiva para infectar y colonizar los granos de maíz con los aislamientos de *F. verticillioides*, lo que coincide con Tom y Patel (2021), quienes reportaron que esta técnica mostró 89,6 % de intensidad de la enfermedad al inocular tallos de maíz. Sin embargo, no existe consenso en relación a que sea la mejor técnica de inoculación en elotes de maíz, pues si bien algunos trabajos indican que la técnica de IPD resulta ventajosa para estudiar la agresividad de los aislados (Ghimire et al., 2019), otros mencionan que los resultados son iguales con las técnicas de inyección en el canal del estigma (ICE) y la técnica del palillo (IP), pero que además esta última podría facilitar la entrada del patógeno, debido a la herida causada en la mazorca inmadura por el palillo (Poulsen et al., 2013). No obstante, la identificación de genotipos tolerantes a pudrición de mazorca, sobre todo dentro de un programa de mejoramiento genético, es necesario identificar la técnica de inoculación, que además de ser sencilla de implementar, sea efectiva para la selección.

La severidad de la infección (SDI) varió en función de la cepa y la técnica de inoculación usada. Una misma cepa mostró diferencias en la SDI entre las técnicas, lo que significa que con cada técnica se ponen a prueba diferentes características de la cepa. Con la técnica A, los aislamientos susceptibles a la deshidratación, por la exposición de conidios al viento y al sol, fueron incapaces de penetrar por los estigmas del elote, que constituyen su ruta de entrada (Thompson & Raizada, 2018), y desarrollarse sobre estos, por lo que no causaron enfermedad en los granos de maíz. Pero si se realiza una herida en la mazorca, como lo que implica la técnica IPD, se concretará la infección. Lo anterior presupone la existencia de una especialización fúngica, que es un componente de la patogénesis (Duncan & Howard, 2010). Algunas cepas como K212 mostraron bajos valores de severidad, independiente de la técnica de inoculación utilizada, en tanto que otras como K213 exhibieron elevados niveles de severidad en la mayoría de las técnicas de inoculación, excepto en las que involucraron aspersión de conidios sobre los estigmas (A y DA).

Se ha reportado una relación negativa significativa entre el rendimiento o peso del grano y la pudrición de mazorca de maíz por *F. verticillioides*, tal relación se presenta cuando el grano dañado por el hongo presenta fumonisinas (Morales et al., 2019). En el presente estudio no se cuantificaron estas micotoxinas en los granos de las muestras con evidencia de la enfermedad.

## Conclusiones

La diversidad morfológica de los aislamientos de *F. verticillioides* obtenidos en la región de estudio fue en características macroscópicas de desarrollo del micelio y las tonalidades del mismo. La mayoría de los aislamientos desarrolló baja severidad de la infección, con excepción de cinco cepas que presentaron una severidad mayor que las demás y el testigo.

La técnica de inoculación del palillo de dientes fue la que desarrolló mayor incidencia y severidad de la infección con los aislamientos de *F. verticillioides* probados, en tanto que la de aspersión fue la de los valores más bajos en estas variables.

## Referencias

- Blacutt, A. A., Gold, S. E., Voss, K. A., Gao, M., & Glenn, A. E. (2018). *Fusarium verticillioides*: Advancements in understanding the toxicity, virulence, and niche adaptations of a model mycotoxigenic pathogen of maize. *Phytopathology*, *108*(3), 312–326. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-17-0203-RVW>
- Brown, W. D., Butchko, R. A. E., Busman, M., & Proctor, R. H. (2012). Identification of gene clusters associated with fusaric acid, fusarin and perithecial pigment production in *Fusarium verticillioides*. *Fungal Genetics and Biology*, *49*(7), 521–532. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2012.05.010>
- Covarelli, L., Stifano, S., Beccari, G., Raggi, L., Lattanzio, V. M. T., & Albertini, E. (2012). Characterization of *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Italy: Fumonisin production, pathogenicity and genetic variability. *Food Microbiology*, *31*(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.02.002>
- de la Torre-Hernández, M. E., Sánchez-Rangel, D., Galeana-Sánchez, E., & Plasencia-de la Parra, J. (2014). Fumonisin–Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*–maíz. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, *17*(1), 77–91. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(14\)70321-3](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(14)70321-3)
- Duncan, K. E., & Howard, R. J. (2010). Biology of maize kernel infection by *Fusarium verticillioides*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *23*(1), 6–16. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-1-0006>
- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. (2016). *Panorama agroalimentario maíz*. Recuperado en noviembre 2021 de <https://bit.ly/3gBQGUB>
- García-Lara, S., & Bergvinson, D. (2007). Programa integral para reducir pérdidas postcosecha en maíz. *Agricultura Técnica en México*, *33*(2), 181–189.
- Ghimire, K., Petrović, K., Kontz, B. J., Bradley, C. A., Chilvers, M. I., Mueller, D. S., Smith, D. L., Wise, K. A., & Mathew, F. M. (2019). Inoculation method impacts symptom development associated with *Diaporthe aspalathi*, *D. caulivora*, and *D. longicolla* on soybean (*Glycine max*). *Plant Disease*, *103*(4), 677–684. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1078-RE>
- Gitonga, Z. M., De Groote, H., Kassie, M., & Tefera, T. (2013). Impact of metal silos on households' maize storage, storage losses and food security: An application of a propensity score matching. *Food Policy*, *43*, 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2013.08.005>
- Gómez, K. A., & Gómez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research* (2<sup>nd</sup> Ed.). John Wiley & Sons, Inc.
- Gordon, M. R. (2021). *El maíz en Panamá: Características, requerimientos y recomendaciones para su producción en ambientes con alta variabilidad climática*. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá.
- Lanubile, A., Maschietto V., Borrelli V. M., Stagnati L., Logrieco A. F., & Marocco, A. (2017). Molecular basis of resistance to *Fusarium* ear rot in Maize. *Frontiers in Plant Science*, *8*, Article 1774. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01774>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing Professional. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9780470278376.fmatter>
- López-Castillo, L. M., Silva-Fernández, S. E., Winkler, R., Bergvinson, D. J., Arnason, J. T., & García-Lara, S. (2018). Postharvest insect resistance in maize. *Journal of Stored Products Research*, *77*, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.03.004>

- Mesterházy, Á., Lemmens, M., & Reid, L. M. (2012). Breeding for resistance to ear rots caused by *Fusarium* spp. in maize – A review. *Plant Breeding*, *131*(1), 1–19. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01936.x>
- Missmer, S. A., Suarez, L., Felkner, M., Wang, E., Merrill Jr., A. H., Rothman, K. J., & Hendricks, K. A. (2006). Exposure to fumonisins and the occurrence of neural tube defects along the Texas-Mexico border. *Environmental Health Perspectives*, *114*(2), 237–241. <https://doi.org/10.1289/ehp.8221>
- Morales, L., Zila, C. T., Moreta Mejía, D. E., Montoya Arbelaez, M., Balint-Kurti, P. J., Holland, J. B., & Nelson, R. J. (2019). Diverse components of resistance to *Fusarium verticillioides* infection and fumonisin contamination in four maize recombinant inbred families. *Toxins*, *11*(2), Article 86. <https://doi.org/10.3390/toxins11020086>
- Naz, R., Bano, A., Nosheen, A., Yasmin, H., Keyani, R., Shah, S. M., Anwar, Z., & Roberts, T. H. (2021). Induction of defense-related enzymes and enhanced disease resistance in maize against *Fusarium verticillioides* by seed treatment with *Jacaranda mimosifolia* formulations. *Scientific Reports*, *11*, Article 59. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79306-x>
- Poulsen, H.M., Ridao, A. del C., & Castaño, F. (2013). Comparación entre técnicas de inoculación de *Fusarium verticillioides* en espigas de maíz. RIA. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, *39*(3), 312–317.
- Rangel-Castillo, A., Valadez-Moctezuma, E., & Lozoya Saldaña H. (2017). Caracterización molecular y patogénesis de *Fusarium* asociado al amarillamiento del trigo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *40*(4), 439–450. <https://doi.org/10.35196/rfm.2017.4.439-450>
- Rauwane, M. E., Ogugua, U. V., Kalu, C. M., Ledwaba, L. K., Adugna, A. W., & Ntushelo, K. (2020). Pathogenicity and virulence factors of *Fusarium graminearum* including factors discovering using next generation sequencing technologies and proteomics. *Microorganisms*, *8*(2), Article 305. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020305>
- Secretaría de Economía. (1995). *NMX-FF-034. Productos alimenticios no industrializados. Cereales. Maíz (Zea mays L.) Especificaciones y métodos de prueba*. Gobierno de México.
- Shabeer, S., Tahira, R., & Jamal, A. (2021). *Fusarium* spp. mycotoxin production, diseases, and their management: An overview. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, *34*(2), 278–293. <https://doi.org/10.17582/journal.pjar/2021/34.2.278.293>
- Silva, J. J., Viano, H. P., Ferranti, L. S., Oliveira, A. L. M., Ferreira, J. M., Ruas, C. F., Ono, E. Y. S., & Fungaro, M. H. P. (2017). Genetic structure of *Fusarium verticillioides* and occurrence of fumonisins in maize grown in Southern Brazil. *Crop Protection*, *99*, 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.05.020>
- Sistemas de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). *Datos abiertos. Anuario estadístico de la producción agrícola. Estadística de producción agrícola de 2020*. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- Solano-Báez, A. R., De León-García De Alba, C., Valdovinos-Ponce, G., Silva-Rojas, H. V., & Soto-Rojas, L. (2011). La pigmentación de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) como factor de virulencia en plántulas de maíz. *Agronomía Mesoamericana*, *22*(2), 297–307. <https://doi.org/10.15517/AM.V22I2.11803>
- Thompson, M. E. H., & Raizada, M. N. (2018). Fungal pathogens of maize gaining free passage along the silk road. *Pathogens*, *7*(4), Article 81. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040081>
- Tom, A., & Patel, S. (2021). Dynamic association of *Fusarium verticillioides* with maize and its biological control. *The Pharma Innovation Journal*, *10*(7), 1010–1019. <https://www.thepharmajournal.com/archives/?year=2021&vol=10&issue=7&ArticleId=6999>

- Torres-Sánchez, L., & López-Carrillo, L. (2010). Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud Pública de México*, 52(5), 461–467. <https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/6999>
- Vázquez Badillo, M. E., & Moreno Martínez, E. (2016). Postcosecha de granos. Almacenamiento en México. *Claridades Agropecuarias*, 271, 3–6. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/185452/revista\\_271.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/185452/revista_271.pdf)
- Wang, W., Wang, B., Sun, X., Qi, X., Zhao, C., Chang, X., Ibrahim Khaskheli, M., & Gong, G. (2021). Symptoms and pathogens diversity of corn *Fusarium* sheath rot in Sichuan Province, China. *Scientific Report*, 11, Article 2835. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82463-2>
- Wit, M., Warzecha, R., Mirzwa-Mróz, E., Jabłońska, E., Piotr, O., Waskiewicz, A., & Wakuliński, W. (2011). Susceptibility of flint and dent maize ears to *Fusarium* species. *Phytopathologia*, 60, 35–45.