

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *Fusarium* spp. QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN EL BAJÍO, MÉXICO

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

Presenta:

LUCÍA CORTEZ TREJO

Bajo la supervisión de: DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

CO-DIRECTOR: DR. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ



APROBADA



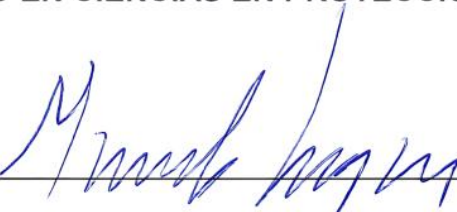
Chapingo, Estado de México, marzo del 2026

CARACTERIZACION DE ESPECIES DE *Fusarium* spp. QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN EL BAJÍO, MÉXICO

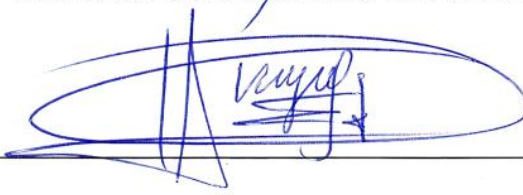
Tesis realizada por **LUCÍA CORTEZ TREJO** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

DIRECTOR:


DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

CO-DIRECTOR:


DR. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ

ASESOR:


M.C. BERTHA TLAPAL BOLAÑOS

ASESOR:


M.C. CARLOS MUÑOZ ZAVALA

DEDICATORIA

A Dios, que en esta etapa de mi vida se ha convertido en mi refugio y fortaleza. Por acompañarme en los momentos de duda y cansancio, por darme paz, claridad y la fuerza necesaria para seguir adelante. Gracias por permitirme crecer, aprender y culminar esta etapa, confiando cada día más en Su guía.

*A mis padres, **Bertha Trejo Guerrero** y **Ángel Cortez Chávez**, por su amor, por el esfuerzo de toda una vida y por los valores que me formaron. Su ejemplo ha sido el cimiento que me ha permitido sostenerme y avanzar aun en los momentos más difíciles.*

*A mis hijos, **Jhazibe** y **César**, a quienes dedico de manera especial este trabajo. Gracias por caminar conmigo durante estos años, por su paciencia, su comprensión y su apoyo incondicional. Aun en medio de dificultades, cansancio y berrinches, siempre han sido mi mayor motivación y la razón por la que no me rendí. Todo lo que soy y lo que busco ser es por y para ustedes.*

Y a una persona muy especial, cuyo apoyo, confianza y aliento constante fueron fundamentales en este proceso. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudaba, por impulsarme a reconocer mi potencial y recordarme cada día que siempre es posible crecer y mejorar.

AGRADECIMIENTOS

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)** por el financiamiento de mis estudios de Maestría en Ciencias.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, en especial al **Programa de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal**, por la formación académica recibida; y al **Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT)** por facilitar el material biológico y el acceso a las evaluaciones de micotoxinas.

A mi comité asesor: **Dr. S. Gerardo Leyva Mir, Dr. Mateo Vargas Hernández, Dra. Bertha Tlapal Bolaños y M.C. Carlos Muñoz Zavala**, por la dirección, apoyo académico, aportaciones técnicas y apoyo en las colectas de campo.

Al **Laboratorio de Investigación de Micología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola**, en especial a **Mariana Calzada**, y al **Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Fitotecnia**, particularmente al **QFB. Ricardo Gaspar Hernández**, por el apoyo técnico durante el desarrollo de la investigación. A la **Biol. Nandi Espino Espinoza**, por su apoyo en la cartografía.

A mis compañeros de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, en especial a **Rubén y Stephania** por su amistad; y a mis amigos **Rigoberto, Leo, Alondra, Dagoberto, Efrén y Karen**, por su apoyo y motivación.

Se agradece al fondo SECIHTI por el financiamiento de la presente investigación a través del proyecto PEE-2025-G-372, denominado “Importancia Regional de Especie de *Fusarium* spp. Causantes de la Pudrición de la Mazorca y del Tallo de Maíz en México”.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre:	Lucía Cortez Trejo
Fecha de nacimiento:	06 de octubre de 1983
Lugar de nacimiento:	Rancho de Guadalupe, Salvatierra, Gto. México
CURP:	COTL831006MGTRRC01
Profesión:	Ingeniero agrónomo especialista en Parasitología Agrícola
Cédula profesional:	11617502

FORMACIÓN ACADÉMICA PROFESIONAL

Es Licenciada en Administración de Empresas (2001) e Ingeniera Agrónoma con especialidad en Parasitología Agrícola por la Universidad Autónoma de Chapingo (2006), donde obtuvo una mención honorífica por su tesis de licenciatura sobre la biología de *Carcelia reclinata* (Diptera: Tachinidae). Su experiencia profesional abarca la consultoría técnica agrícola, la gestión fitosanitaria, el liderazgo administrativo y la investigación aplicada. Ha ocupado puestos técnicos y gerenciales en empresas de agroquímicos, producción de plántula y diseño de equipos, y ha participado en estudios de efectividad biológica como asistente de laboratorio entre 2021 y 2024.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
DATOS BIOGRÁFICOS	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMEN GENERAL	xiv
ABSTRAC.....	xv
CAPITULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. Justificación	3
1.2. Objetivo general.....	4
1.2.1. Objetivos específicos.....	4
1.3. Hipótesis.....	4
CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. Clasificación taxonómica de <i>Fusarium</i> spp.....	5
2.2. Morfología del género <i>Fusarium</i>	5
2.3. <i>Fusarium verticillioides</i> (Sacc.) Nirenberg (sin. <i>F. moniliforme</i> Sheld.).....	9
2.4. Sintomatología, principales rutas de infección y ciclo de vida	11
2.5. Principales rutas de entrada y colonización del patógeno	13
2.6. Ciclo de vida	15
2.7. Identificación molecular del género <i>Fusarium</i> spp. (Link Ex Grey, 1821).....	17
2.8. Micotoxinas en <i>Fusarium</i>	19
2.8.1. Principales micotoxinas de interés.....	20

Fumonisin	20
Deoxinivalenol (DON)	21
Zearalenone (ZEA)	21
2.8.2. Implications toxicological of the mycotoxins associated to <i>Fusarium</i>	23
2.8.3. Biosynthesis of fumonisin	24
2.8.4. Regulation of the biosynthesis of fumonisin	26
2.8.5. Influence of the environmental and nutritional conditions	27
2.8.6. Upper limits permissible of mycotoxins in the consumption of human and animal	29
2.9. LITERATURE CITED	32
CAPITULO III. CHARACTERIZATION MORFOLOGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE <i>FUSARIUM</i> SPP. THAT AFFECTS THE PRODUCTION OF MAIZE IN THE BAJIO MEXICO	46
RESUMEN	46
ABSTRACT	47
3.1. Introduction	48
3.2. MATERIALS AND METHODS	50
3.2.1. Study area	50
3.2.2. Determination of sample size	53
3.2.3. Isolation and purification	54
Purification by monospore cultures	55
3.2.4. Extraction of nucleic acids	55
3.2.5. Molecular identification of the isolates	56
3.2.6. Phylogenetic analysis and haplotypic diversity	58
3.2.7. Morphological and cultural characterization	59
3.2.8. Pathogenicity tests	60

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
3.3.1. Identificación molecular	62
3.3.2. Análisis filogenético y diversidad haplotípica	71
3.3.2.1. Filogenia.....	71
3.3.2.2. Análisis de haplotipos de <i>Fusarium verticillioides</i>	80
3.3.3. Caracterización morfológica y cultural.....	82
3.3.4. Pruebas de patogenicidad	93
3.4. CONCLUSIONES	95
3.5. LITERATURA CITADA.....	97
CAPITULO IV. PERFILES DE MICOTOXINAS DE <i>FUSARIUM</i> SPP. EN MAÍZ COLECTADO EN CAMPO E INOCULACIONES CONTROLADAS EN EL BAJÍO, MÉXICO	100
RESUMEN	100
ABSTRAC	101
4.1. Introducción	102
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	103
4.2.1. Origen de las muestras.....	103
4.2.2. Análisis de micotoxinas.....	104
4.2.3. Variables climáticas.....	105
4.2.4. Análisis estadístico.....	106
4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	107
4.3.1. Micotoxinas en sitios de muestreo (condiciones de campo).....	107
4.3.1.1. Zearalenonas (ZEA)	108
4.3.1.2. Deoxinivalenol (DON).....	110
4.3.1.3. Fumonisin (FUN)	112
4.3.1.4. Análisis multivariado de micotoxinas en sitios de muestreo	115
4.3.2. Micotoxinas en pruebas de patogenicidad (inoculaciones)	118

4.3.2.1. Zearalenonas (ZEA)	119
4.3.2.2. Deoxinivalenol (DON).....	122
4.3.2.3. Fumonisin (FUN)	124
4.3.2.4. Análisis multivariado de micotoxinas en pruebas de patogenicidad (inoculaciones)	127
4.3.3. Integración general de resultados.....	129
4.4. CONCLUSIONES	132
4.5. CONCLUSIONES GENERALES	134
4.6. LITERATURA CITADA.....	137

LISTA DE CUADROS

Tabla 1. Marcadores moleculares recomendados para la amplificación de fragmentos de ADN de hongos del género <i>Fusarium</i> . Tabla obtenida y modificada (Crous <i>et al.</i> , 2021; Solórzano-Solórzano <i>et al.</i> , 2024).....	18
Tabla 2 Principales micotoxinas producidas por <i>Fusarium</i> spp, control en poscosecha y efectos en la salud. Tabla tomada de (Solórzano-Solórzano <i>et al.</i> , 2024).....	22
Tabla 3. Límites superiores permisibles de micotoxinas ocasionadas por <i>Fusarium</i> en el consumo humano y animal en México (NOM), la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).....	31
Tabla 4. Identificación molecular de especies de <i>Fusarium</i> asociadas a la pudrición de mazorca en maíz en El Bajío mexicano mediante análisis BLAST de secuencias, según la matriz de origen del aislamiento.....	64
Tabla 5. Números de acceso GenBank de las secuencias consenso de los genes TEF-1 α y RPB2 de aislados de <i>Fusarium</i> obtenidos en el Bajío mexicano.....	65
Tabla 6. Incidencia de <i>Fusarium</i> spp. según la matriz de origen.....	70
Tabla 7. Soporte filogenético (aLRT, SH-like) de los clados identificados mediante el análisis de máxima verosimilitud (PhyML) a partir de secuencias concatenadas de TEF-1 α y RPB2.....	80
Tabla 8. Comparación de características morfológicas y culturales de especies de <i>Fusarium</i> asociadas a la pudrición de mazorca en maíz.....	90
Tabla 9. Valores promedio de fumonisinas, zearalenonas y deoxinivalenol en grano de maíz durante la etapa de formación y maduración del grano (R1–R6)	

en diferentes sitios de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.....107

Tabla 10. Resultados de los contrastes a priori definidos con base en variables climáticas durante las etapas fenológicas R1–R6 en sitios de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.....107

Tabla 11. Concentraciones promedio de fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON) en grano de maíz inoculado con seis especies de *Fusarium* bajo condiciones de campo experimental en Celaya, Guanajuato...118

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Características morfológicas de las esporas utilizadas para la identificación de especies de <i>Fusarium</i> .	6
Figura. 2. Clamidosporas de especies de <i>Fusarium</i> .	7
Figura 3. <i>Fusarium camptoceras</i> mesoconidios <i>in situ</i> en CLA.	7
Figura 4. Colonias típicas y macroconidios de aislados de <i>Fusarium</i> .	8
Figura 5. <i>Fusarium verticillioides</i> .	9
Figura 6. Síntomas en campo de pudrición de mazorca por <i>Fusarium</i> .	12
Figura 7 Síntomas de pudrición por <i>Giberella</i> y <i>Fusarium</i> , A. <i>Giberella</i> , B. <i>Fusarium</i> , C. <i>Fusarium</i> .	13
Figura 8. Rutas de entrada de <i>Fusarium verticillioides</i> a la planta de maíz.	15
Figura 9. Ciclo de vida e infección de <i>Fusarium</i> spp. Fuente: Xu <i>et al.</i> (2023).	17
Figura 10 Estructura química de las fumonisinas del grupo B (De la Torre <i>et al.</i> , 2013).	21
Figura 11. Biosíntesis de fumonisinas.	25
Figura 12. Regulación de la síntesis de fumonisinas.	27
Figura 13. Localización de los municipios muestreados en el estado de Guanajuato.	51
Figura 14. Localización de los municipios muestreados en el estado de Jalisco.	52
Figura 15. Localización de los municipios muestreados en el estado de Michoacán.	52
Figura 16. Aspecto macroscópico (anverso y reverso) de los 21 aislamientos seleccionados de <i>Fusarium</i> .	63
Figura 17. Distribución de frecuencias de las especies de <i>Fusarium</i> asociadas a la pudrición de mazorca en el Bajío mexicano.	66
Figura 18. Esquema conceptual de la distribución de especies de <i>Fusarium</i> asociadas a la pudrición de mazorca de maíz.	69

Figura 19. Árbol filogenético obtenido mediante el método de máxima verosimilitud (PhyML) a partir de secuencias concatenadas de los genes TEF-1 α y RPB2.	74
Figura 20. Árbol filogenético multilocus concatenado del complejo de especies <i>Fusarium graminearum</i> (FGSC).	75
Figura 21. Árbol filogenético multilocus concatenado del complejo de especies <i>Fusarium fujikuroi</i> (FFSC).	76
Figura 22. Filogenia evolutiva entre <i>Fusarium verticillioides</i> y <i>F. andiyazi</i>	77
Figura 23. Filogenia evolutiva entre <i>F. sudanense</i> , <i>F. temperatum</i> y <i>F. subglutinans</i>	78
Figura 24. Red haplotípica del gen TEF-1 α para aislados de <i>Fusarium verticillioides</i>	81
Figura 25. <i>F. andiyazi</i> . Colonia en PDA a los 8 días de incubación.	83
Figura 26. <i>F. subglutinans</i> . Colonia en PDA a los 8 días de incubación.	84
Figura 27. <i>F. sudanense</i> . Colonia en PDA a los 8 días de incubación.	85
Figura 28. <i>F. temperatum</i> . Colonia en PDA a los 8 días de incubación.	87
Figura 29. <i>F. verticillioides</i> . Colonia en PDA a los 8 días de incubación.	88
Figura 30. <i>F. boothii</i> Colonia en PDA a los 8 días de incubación.	89
Figura 31. Síntomas de pudrición de mazorca en maíz tras pruebas de patogenicidad.	94
Figura 32. Concentración promedio de zearalenonas (ZEA, ppb) detectadas en grano de maíz por sitio de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.	109
Figura 33. Concentración promedio de deoxinivalenol (DON, ppb) detectada en grano de maíz por sitio de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.	111

Figura 34. Concentración promedio de fumonisinas (FUN, ppb) detectada en grano de maíz por sitio de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.	113
Figura 35. Dendrograma de agrupamiento jerárquico de sitios de muestreo bajo condiciones de campo en la región del Bajío mexicano.....	116
Figura 36. Producción promedio de zearalenonas (ZEA, ppb) por especies de <i>Fusarium</i> bajo condiciones de inoculación controlada.	120
Figura 37. Producción promedio de deoxinivalenol (DON, ppb) por especies de <i>Fusarium</i> bajo condiciones de inoculación controlada.	123
Figura 38. Producción promedio de fumonisinas (FUN, ppb) por especies de <i>Fusarium</i> bajo condiciones de inoculación controlada.	125

CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *Fusarium* spp. QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN EL BAJÍO, MÉXICO

RESUMEN GENERAL

La producción de maíz (*Zea mays* L.) en el Bajío mexicano se ve afectada por enfermedades causadas por especies del género *Fusarium*, las cuales inducen pudriciones de mazorca, tallo, raíz y semilla, y pueden contaminar el grano con micotoxinas importantes para la inocuidad de alimentos y piensos. El objetivo de este estudio fue diagnosticar y caracterizar la diversidad de *Fusarium* spp. asociada a la producción de maíz blanco subtropical en El Bajío, México, mediante análisis morfológicos, moleculares y de patogenicidad, y detectar y cuantificar fumonisinas y otras micotoxinas relevantes en el grano de maíz. Se recolectaron muestras de semilla, tallo, grano y suelo de 25 híbridos comerciales de maíz blanco subtropical en catorce sitios de producción en Guanajuato, Jalisco y Michoacán durante los ciclos de cultivo 2023-2024. Se obtuvieron, purificaron y caracterizaron aislados de *Fusarium* mediante criterios morfológicos y marcadores moleculares multilocus. Los aislados seleccionados se evaluaron mediante pruebas de patogenicidad para confirmar su capacidad para causar pudrición de mazorca. Se analizaron muestras de grano para determinar la presencia y concentración de micotoxinas. Los resultados indican que la pudrición de la mazorca de maíz en El Bajío es causada por un complejo de especies de *Fusarium* con potencial patógeno y productor de micotoxinas, cuya incidencia y distribución varían según el híbrido y la localidad. Esta investigación proporciona información esencial para mejorar la gestión fitosanitaria y fortalecer la inocuidad alimentaria en los sistemas de producción de maíz de la región.

Palabras clave: *Fusarium* spp; pudrición de la mazorca de maíz; maíz blanco subtropical; micotoxinas; fumonisinas; El Bajío, México.

Tesis de Maestría en Ciencias, Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Lucía Cortez Trejo
Director de Tesis: Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

CHARACTERIZATION OF *Fusarium* spp. AFFECTING MAIZE PRODUCTION IN THE BAJÍO REGION, MEXICO

ABSTRAC

Maize (*Zea mays* L.) production in the Mexican Bajío is affected by diseases caused by species of the genus *Fusarium*, which induce ear, stem, root, and seed rots and may contaminate grain with mycotoxins of importance to food and feed safety. The objective of this study was to diagnose and characterize the diversity of *Fusarium* spp. associated with subtropical white maize production in El Bajío, Mexico, using morphological, molecular, and pathogenicity analyses, and to detect and quantify fumonisins and other relevant mycotoxins in maize grain. Samples of seed, stem, grain, and soil were collected from 25 commercial subtropical white maize hybrids across fourteen production sites in Guanajuato, Jalisco, and Michoacán during the 2023–2024 growing cycles. *Fusarium* isolates were obtained, purified, and characterized through morphological criteria and multilocus molecular markers, and selected isolates were evaluated in pathogenicity tests to confirm their ability to cause ear rot. Grain samples were analyzed for the presence and concentration of mycotoxins. Results indicate that maize ear rot in El Bajío is caused by a complex of *Fusarium* species with pathogenic and mycotoxin-producing potential, whose incidence and distribution vary according to hybrid and locality. This research provides essential information for improving phytosanitary management and strengthening food safety in maize production systems of the region.

Keywords: *Fusarium* spp.; maize ear rot; subtropical white maize; mycotoxins; fumonisins; El Bajío, Mexico.

Master's Thesis in Plant Protection Sciences, Department of Agricultural Parasitology,
Universidad Autónoma Chapingo
Author: Lucía Cortez Trejo
Thesis Director: S. Gerardo Leyva Mir

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo de mayor importancia, seguido del trigo y el arroz, con una producción global de 1,242 millones de toneladas (Mt), los diez principales países productores son Estados Unidos de América (31.4%), China (23.3%), Brasil (10.6%), Argentina (3.3%), India (3.1%), Ucrania (2.5%), México (2.2%), Indonesia (1.6%), Rusia (1.3%) y Sudáfrica (1.3%) (FAOSTAT, 2024). En México, el maíz ocupa un lugar estratégico para la seguridad alimentaria, además, es centro de origen y diversificación del cultivo (Barrera-Guzmán *et al.*, 2020; González Castro *et al.*, 2013). Su importancia radica como base de la alimentación humana, así como, implementación en la producción pecuaria, industrial y de bioenergía (Mendoza, 2017).

Según el anuario estadístico con datos de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SIAP), para diciembre de 2024, en el país se sembraron 6,434,120 Ha, en las cuales se produjeron 27.6 Mt de grano de maíz, de estas, el maíz amarillo representa solo el 13.5%. Los diez principales estados productores son: Sinaloa (17.4%), Jalisco (11.4%), Michoacán (9.0%), Guanajuato (8.6%), Chihuahua (7.1%), Veracruz (6.4%), Guerrero (6.0%), Puebla (5.6%), Estado de México (5.0%) y Chiapas (4.2%) (FAOSTAT, 2024).

La región de El Bajío se ha consolidado como una de las principales zonas agrícolas por su alta productividad y aportación estratégica a la seguridad alimentaria nacional con una producción de maíz en grano de 5.3 Mt, representando el 29.0%, de la producción total del país, Jalisco aporta el 11.4%, Michoacán el 9.0% y Guanajuato 8.6% (FAOSTAT, 2024; Gutiérrez Núñez, 2023). Este cereal se cultiva de forma intensiva, para consumo humano y para producción pecuaria. A pesar de su potencial agrícola, El Bajío afronta retos derivados de factores bióticos y abióticos que afectan tanto el rendimiento como la calidad del grano. Se estima que, en condiciones desfavorables (variación en las precipitaciones y alta temperatura), las pérdidas ocasionadas por plagas y enfermedades pueden oscilar entre el 30-60% (Zácamo-Velázquez *et al.*, 2022).

Entre los agentes bióticos más relevantes, se encuentran los hongos del género *Fusarium*. Este género incluye un amplio número de especies fitopatógenas capaces de causar enfermedades en diferentes órganos de la planta, como la mazorca, el tallo y la raíz, además de colonizar las semillas (Ponte *et al.*, 2022). No solo generan pérdidas en rendimiento, sino que también producen micotoxinas que contaminan el grano y representan un riesgo grave para la salud humana y animal, así como pérdidas económicas para los productores porque el grano que no cumple con las normas de calidad e inocuidad es rechazado para su comercialización (Bacon *et al.*, 2008a; Kamle *et al.*, 2019).

Diversos estudios han documentado que el complejo de *Fusarium fujikuroi* es el grupo de especies más frecuente en maíz. Dentro de este complejo destacan *F. verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. proliferatum*, asociados con alta incidencia de pudrición en mazorca y tallo (Leyva-Madrigal *et al.*, 2015; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024). *F. verticillioides*, está presente a nivel global, es la especie más reportada como patógena de maíz (Zhao *et al.*, 2017), siendo capaz de colonizar la planta por distintas vías: desde la infección radicular hasta la invasión de tallos y granos. Su importancia no solo se centra en su amplia distribución, sino también en su capacidad micotoxigénica como productora de fumonisinas, micotoxinas altamente prevalentes en granos contaminados (De la Torre *et al.*, 2013). Las fumonisinas (FUM) producidas principalmente por el género *F. verticillioides*. son responsables de enfermedades graves en animales, como la leucoencefalomalacia equina y la edema pulmonar en cerdos (Bacon *et al.*, 2008a; De la Torre *et al.*, 2013). En humanos, su consumo se ha asociado a la esofagitis crónica y un mayor riesgo de cáncer de esófago en poblaciones dependientes del maíz como alimento básico (IARC, 2002). En este sentido, la evaluación exhaustiva de fumonisinas en diferentes híbridos de maíz cultivados en regiones de alta producción, como El Bajío, constituye un paso esencial para dimensionar el riesgo alimentario y sanitario.

F. graminearum, aunque menos frecuente en maíz, es considerado el principal productor de micotoxinas en granos pequeños (trigo, cebada, centeno y avena) (Malbrán, 2013). Esta especie se asocia principalmente a la producción de

deoxinivalenol (DON) y zearalenona (ZEN), compuestos que afectan la salud animal al causar reducción de peso, disminución en la fertilidad y problemas reproductivos, además de representar un riesgo toxicológico para el consumo humano (Kamle *et al.*, 2019; Oldenburg *et al.*, 2017).

La coexistencia de múltiples especies de *Fusarium* en una misma región agrícola plantea un reto para el diagnóstico y manejo. La sintomatología en campo, caracterizada por micelio blanco a rosado en las mazorcas y tallos, suele ser similar entre especies, lo que imposibilita la diferenciación basada únicamente en observación visual (Leslie y Summerell, 2006). Esta dificultad resalta la necesidad de estudios de caracterización morfológica y molecular que permitan determinar con precisión la diversidad de especies presentes en cada agroecosistema. El empleo de técnicas de cultivo en medios específicos como PDA, CLA y SNA ha sido fundamental en la identificación morfológica, mientras que la caracterización molecular mediante regiones ITS, EF-1 α y RPB2a ofrece una confirmación taxonómica más precisa.

Considerando lo anterior, el estudio de la diversidad de especies de *Fusarium* spp. y su capacidad toxigénica en la región de El Bajío, México, es de gran importancia.

1.1. Justificación

La necesidad de identificar y caracterizar morfológica y molecularmente las especies de *Fusarium* spp. asociadas al cultivo de maíz en El Bajío, así como de realizar un análisis exhaustivo de fumonisinas en maíz blanco subtropical cultivado en Guanajuato, Jalisco y Michoacán. Tendrá un impacto directo en la seguridad alimentaria e inocuidad, al proporcionar bases científicas para reducir pérdidas económicas, mitigar riesgos a la salud pública y orientar a productores, empresas semilleras nacionales y organismos reguladores de políticas públicas en la toma de decisiones para un manejo sustentable y eficiente del cultivo de maíz en México.

1.2. Objetivo general

Diagnosticar y caracterizar la diversidad de especies de *Fusarium* spp. asociadas al cultivo de maíz blanco subtropical en El Bajío, México, mediante análisis morfológico, molecular y de patogenicidad, así como detectar y cuantificar fumonisinas en grano de diferentes híbridos y localidades, con el fin de generar información que contribuya al manejo fitosanitario y a la seguridad alimentaria.

1.2.1. Objetivos específicos

1. Aislar, purificar y conservar cultivos puros de *Fusarium* spp. obtenidos de semilla, tallo y grano de 25 híbridos de maíz blanco subtropical en el Bajío.
2. Aislar, purificar y conservar cultivos puros de *Fusarium* spp. a partir de muestras de suelo recolectadas a la siembra y la cosecha en catorce sitios de producción ubicados en Guanajuato, Jalisco y Michoacán.
3. Caracterizar morfológica y molecularmente las especies de *Fusarium* spp. aisladas en este estudio para determinar su diversidad y distribución en los diferentes órganos del cultivo y sitios de muestreo.
4. Detectar y cuantificar las fumonisinas presentes en grano de 25 híbridos de maíz blanco subtropical en los catorce sitios de siembra del El Bajío, México, y evaluar su variación entre híbridos y localidades.
5. Corroborar la capacidad de los aislamientos de *Fusarium* de inducir la enfermedad de la pudrición de mazorca a través de pruebas de patogenicidad en plantas de maíz.

1.3. Hipótesis

La pudrición de mazorca en maíz en la región de El Bajío, México, es causada por un complejo de especies de *Fusarium* con capacidad patogénica y productora de micotoxinas, cuya incidencia y distribución varían según el híbrido y el sitio de siembra.

CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Clasificación taxonómica de *Fusarium* spp.

Dominio: Eukaryota

Reino: Fungi

Subreino: Eumycota

Super división: Dikarya

Phylum: Ascomycota

Subphylum: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium* spp. (Link Ex Grey, 1821)
(Crous *et al.*, 2021).

2.2. Morfología del género *Fusarium*

Fusarium spp. presenta características microscópicas propias del género. La fiálide es generalmente fina, en forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados. Los microconidios, son ausentes en algunas especies, poseen diferentes formas (fusiformes, ovales, clavadas, entre otras), agrupaciones (estructuras llamadas “falsas cabezas”) en cadenas largas o cortas. Del mismo modo, pueden observarse las clamidosporas características con doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo (Figura 1 y 2) (Tapia C, 2014) (DGSV-CNRF, 2020).

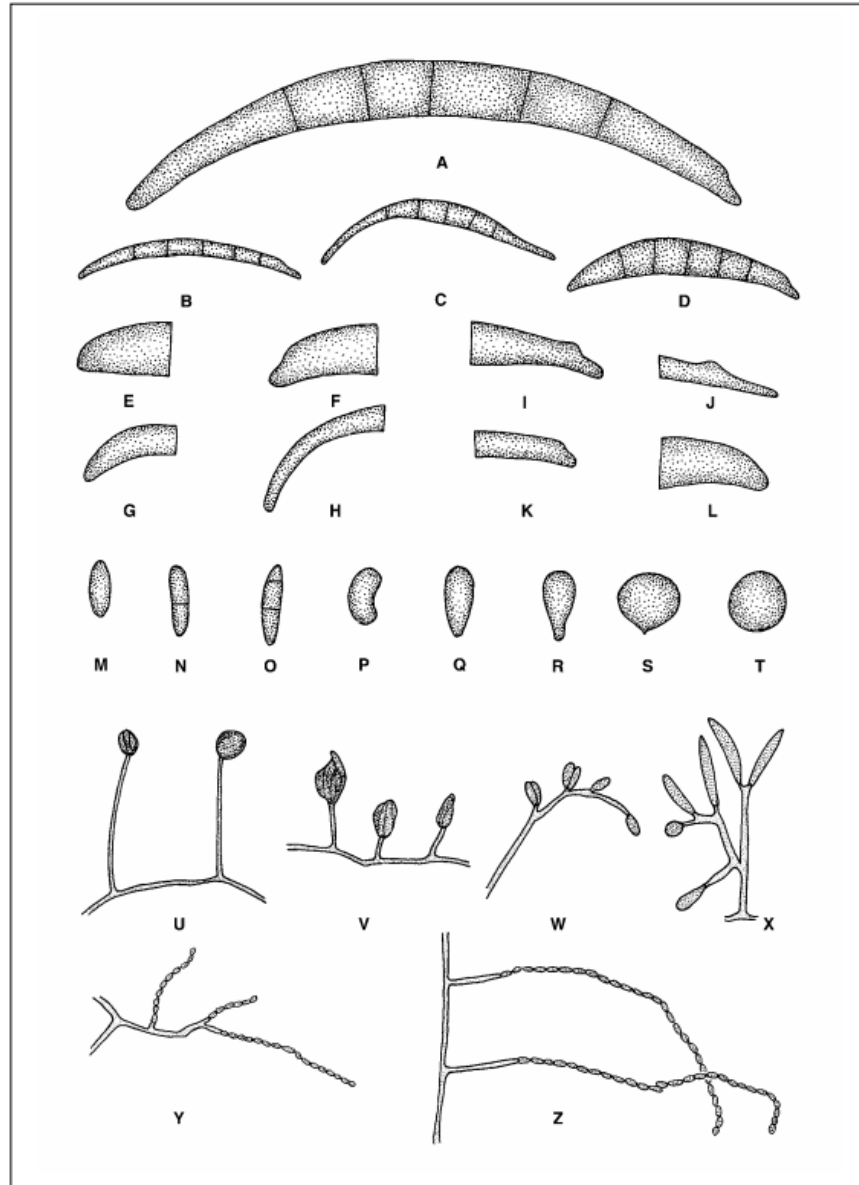


Figura 1. Características morfológicas de las esporas utilizadas para la identificación de especies de *Fusarium*.

A-D Formas de macroconidios. **A.** Macroconidio típico de *Fusarium*, célula apical a la izquierda y célula basal a la derecha. **B.** Macroconidio recto delgado, casi en forma de aguja, p.e. *F. avenaceum*. **C.** Macroconidio con curvatura dorsoventral, p.e. *F. equiseti*. **D.** Macroconidio con lado dorsal más curvado que el ventral, p.e. *F. crookellence*. **E-F:** Formas de las células apicales macroconidiales. **E.** Redondeada, p.e. *F. culmorum*. **F.** Papilado, p.e. *F. sambucinum*. **G.** Forma de gancho, p.e. *F. lateritium*. **H.** Afilado, p.e. *F. equiseti*. **I-L** Formas de las células basales de macroconidios. **I.** Forma de pie, p.e. *F. crookwellence*. **J.** Forma de pie alargado, p.e. *F. longipes*. **K.** Muestras bien definidas, p.e. *F. avenaceum*. **L.** Muestras levemente visibles, p.e. *F. solani*. **M-T** Formas de microconidios. **M.** Ovalado. **N.** Ovalado con dos septos. **O.** Ovalado con tres septos. **P.** Reniforme. **Q.** Ovoide truncado en la base. **R.** Piriforme. **S.** Napiforme. **T.** Globoso. **U-X** Morfología de fíalides. **U.** Monofialides, p.e. *F. solani*. **V.** Monofialides, p.e. *F. oxysporum*. **X.** Polifialides, p.e. *F. semitectum*. **Y-Z** Cadenas de microconidios. **Y.** Cadenas cortas, p.e. *F. nygamai*. **Z.** Cadenas largas, p.e. *F. verticillioides*. (Leslie y Summerell, 2006).

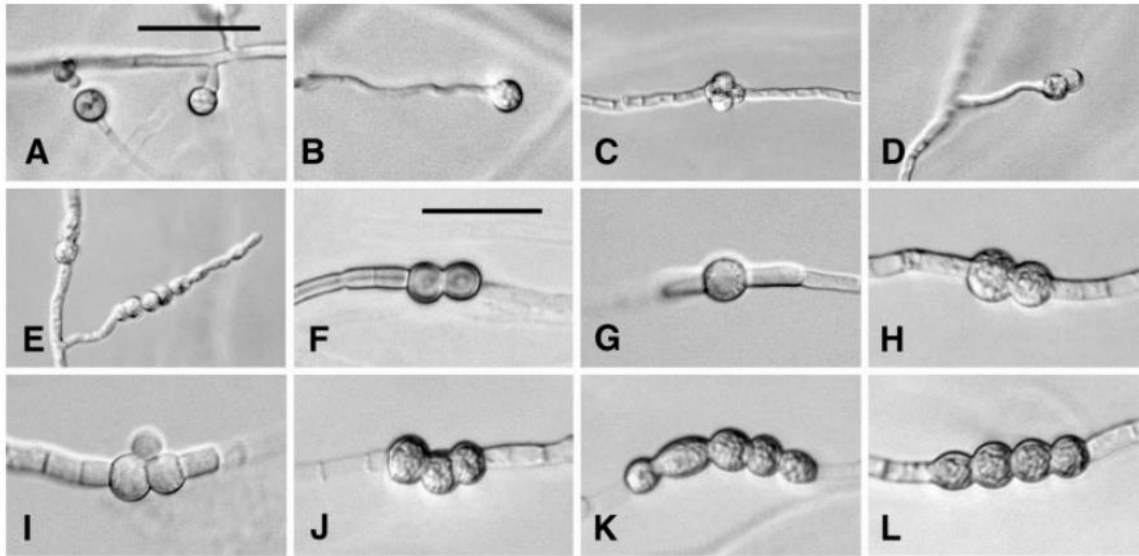


Figura. 2. Clamidosporas de especies de *Fusarium*.

A-B. Clamidosporas verrucosa únicas de *F. solani*. **C-D.** Clamidosporas agrupadas de *F. compactum*. **E.** Cadena de clamidosporas verrugosas de *F. compactum*. **F.** En pared, con paredes lisas de *F. solani*. **G.** Clamidospora única y verrugosa de *F. scirpi*. **H.** Clamidosporas verrugosas en pares de *F. compactum*. **I.** Clamidosporas agrupadas de pareces lisas de *F. scirpi*. **J y L.** Cadenas de clamidosporas verrugosas de *F. compactum*. **K.** Cadena de clamidosporas verrugosas de distinto tamaño de *F. scirpi*. **A-E.** Barra de escala= 50µm; **F-L.** Barra de escala=25µm (Leslie y Summerell, 2006).

Otros caracteres importantes son los mesoconidios, este término fue propuesto por Pascoe (1953) para describir conidios fusoides, que son producidos por algunas especies de *Fusarium* de polifialides en medios de cultivo CLA (Agar con hojas de clavel) o SNA (Agar sintético deficiente de nutrientes). Los mesoconidios no se producen en esporoquios, son significativamente más grandes que los microconidios con 3 a 4 septos, carecen de célula basal con forma de pie o muescas. Estos conidios generalmente crecen en micelio aéreo y a menudo vistas al microscopio tienen forma de “orejas de conejo” (Figura 3).



Figura 3. *Fusarium campyoceras* mesoconidios *in situ* en CLA.

A y B mesoconidios individuales. **C** polifialides con “orejas de conejo”.

Las características microscópicas de *Fusarium* spp. cambian dependiendo del medio de cultivo en el que se desarrolle. Se han utilizado cuatro medios de cultivo para la identificación de especies de *Fusarium*; éstos son el agar de hoja de clavel (CLA) (Fisher NL B. L., 1982), el agar de dextrosa de papa (PDA) (Nelson, 1983), el medio SNA (Hildegard Nirenberg, 1981) y el agar de suelo (Klotz LV, 1988). El medio PDA permite observar la morfología de colonia y pigmento (café, rojo, violeta, naranja, gris, blanco) difusible al medio (Figura 4) (Tapia C, 2014).

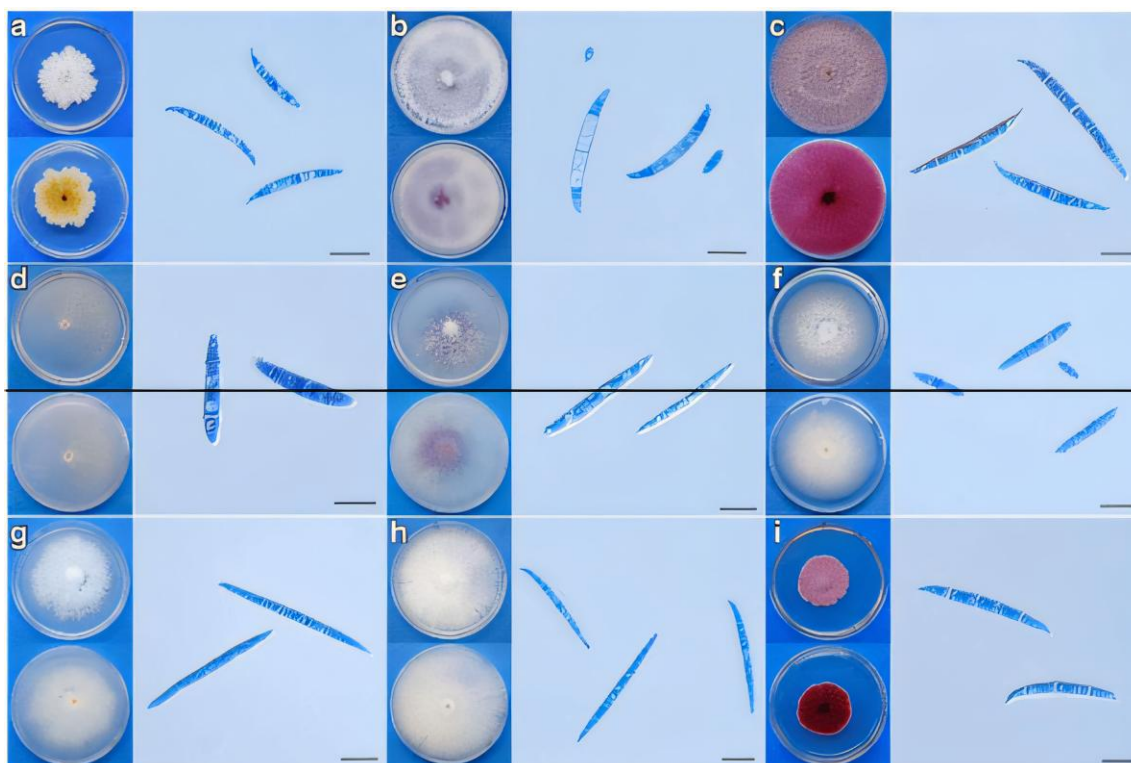


Figura 4. Colonias típicas y macroconidios de aislados de *Fusarium*.

Medio agar papa-dextrosa y macroconidios en medio de CLA después de 5 días de crecimiento. a) *F. equiseti*; b) *F. oxysporum*; c) *F. graminearum*; d) *F. solani*; e) *F. commune*; f) *F. verticillioides*; g) *F. proliferatum*; h) *F. fujikuroi*; i) *F. avenaceum*. Barra de escala = 20 µm. Créditos: (Mokobi, 2020).

El medio CLA se utiliza para promover la formación de macroconidios y microconidios en esporosquios (Castro López^{1*} *et al.*, 2018; Sierra-Moya *et al.*, 2022). El Medio SNA es utilizado para promover la formación de microconidios (Leslie y Summerell, 2006; Uribe-Cortés *et al.*, 2020). Los teleomorfos o etapas sexuales de *Fusarium* pueden ser carácter definitivo de especies. Normalmente esta etapas sexuales se observan en condiciones controladas de laboratorio, sin

embargo, la morfología de los teleomorfos no es suficientemente diferente entre especies como para ser de utilidad con fines de identificación morfológica (Leslie y Summerell, 2006).

2.3. *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (sin. *F. moniliforme* Sheld.)

Este patógeno se encuentra alrededor del mundo, en todas las partes geográficas donde se cultive maíz (Vigier *et al.*, 1997). En medio CLA forma los macroconidios típicos de las especies del complejo *G. fujikuroi* formados en esporoquios de color naranja pálido, éstos pueden ser hialinos o ligeramente oscuros, llegando a ser raras en algunas cepas; éstos relativamente largos y delgados, falcados o rectos; células apicales curvadas; célula basal con muesca o forma de pie; y presentan de 3-5 septos. Forma numerosas cadenas largas de microconidios ovalados en forma de mazo y unicelulares generalmente a partir de monofiálides, en ocasiones pueden presentarse en pares en forma de “V” para dar la apariencia de orejas de conejo. No forma clamidosporas, pero sí pueden aparecer células hinchadas en las hifas que llegan a confundirse con clamidosporas o pseudoclamidosporas (Figura 5) (Leslie y Summerell, 2006).

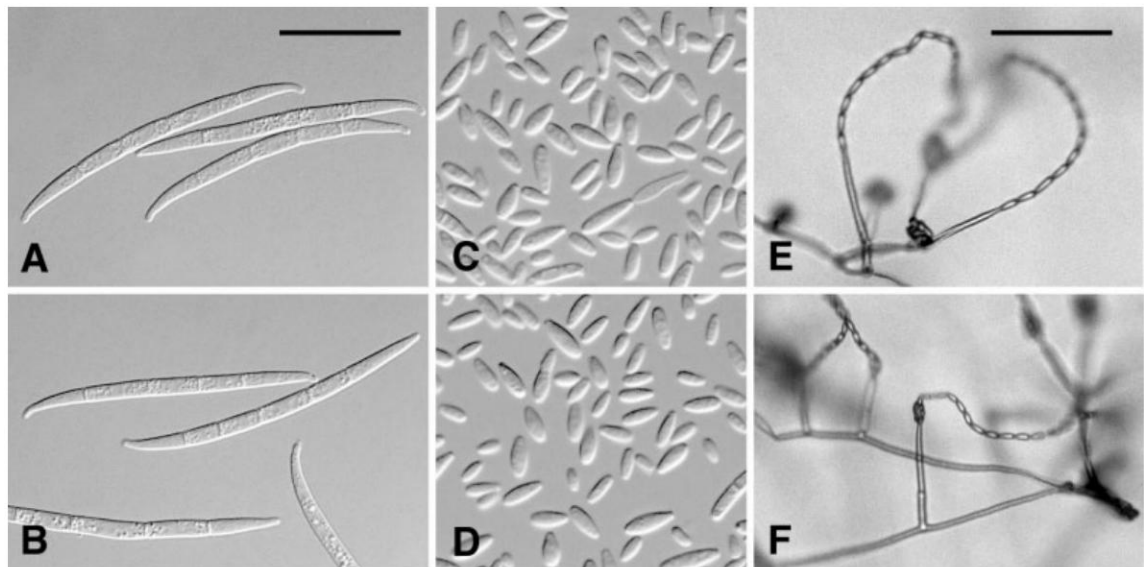


Figura 5. *Fusarium verticillioides*

A-B. Macroconidios; **C-D.** Microconidios *in situ* en CLA, escala =25µm; **E-F.** Cadenas largas de microconidios, escala = 50µm

En medio PDA inicialmente se presenta micelio blanco, y puede desarrollar pigmentos violetas al madurar; la pigmentación del medio varía en coloraciones, desde sin pigmentación a grisáceo naranja, gris violeta, violeta oscuro o magenta oscuro, casi negro en algunos casos (Leslie y Summerell, 2006).

Ha habido una gran controversia sobre el nombre de este taxón; algunos investigadores lo llaman *F. moniliforme* y otros *F. verticillioides*, éste último tiene prioridad y actualmente es aceptado que se utilice para nombrar la especie, siempre y cuando la fase sexual sea *Giberella fujikuroi*. *F. verticillioides* es morfológicamente idéntico a cepas de *F. thapsinum*, pero no produce la pigmentación amarilla típica para su clasificación; también es similar *F. proliferatum*, pero éste último se distingue por su capacidad de formar cadenas de microconidios a partir de polifialides y suelen ser más cortas. Además, presenta similitud con *F. andiyazi*, pero no forma pseudoclamidosporas (Leslie y Summerell, 2006).

Desde el siglo pasado, este patógeno se ha reportado como causante de pudrición de tallo y mazorca en maíz (Nelson *et al.*, 1983). Esta ampliamente distribuido en el mundo y asociado estrechamente con el cultivo (Leslie y Summerell, 2006; Stewart *et al.*, 2002). Tiene la capacidad de colonizar todas las partes de la planta, incluyendo raíz, tallo mazorca y semillas; con frecuencia, el patógeno pasa desapercibido ya que no causa síntomas visibles (Leyva-Madrigal *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2017; Yilmaz *et al.*, 2021; Zácamo-Velázquez *et al.*, 2022). La gravedad de la enfermedad se ve afectada por la ruta de infección, la infección del grano ocurre más eficientemente a partir de la colonización de estambres en época de floración, donde altera la integridad del pericarpio en la semilla, ocasionando la típica pudrición de mazorca (Stewart *et al.*, 2002; Ward *et al.*, 2002). En este tipo de infecciones, las hifas colonizan espacios intercelulares, a diferencia de las infecciones sintomáticas, las que invaden tanto espacios inter como intracelulares. Generalmente el grano o semilla infectada, presenta estrías blanquecinas debajo del pericarpio, las cuales son canales de aire dejados por el micelio (Oren *et al.*, 2003; Peiretti-Uzal *et al.*, 2007).

El estrés por sequía incrementa la presencia de la enfermedad; basándose en microscopia electrónica, el hongo se localiza en los granos de la punta de la mazorca y éstos pueden ser sintomáticos y asintomáticos (Bacon, 1992). La infección de la mazorca es la de mayor importancia, debido al potencial toxico de los metabolitos secundarios producidos por el hongo (De la Torre-Hernández *et al.*, 2014; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024) entre los que se encuentran las fumonisinas, sustancias carcinogénicas como el ácido fusárico, fusarinas, giberelinas, moniliforminas, zearalenona y tricotecenos (Bacon *et al.*, 2008b; De la Torre-Hernández *et al.*, 2014; Kamle *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2017).

2.4. Sintomatología, principales rutas de infección y ciclo de vida

Las infecciones de *Fusarium* pueden ocurrir durante todo el desarrollo del ciclo de cultivo, ocasionando diferentes síntomas en los órganos vegetativos y generativos de la planta (Oldenburg *et al.*, 2017). El poco crecimiento del sistema radical con hifas adheridas es una característica típica de infección de raíz (Zhang *et al.*, 2023). Después, se presentan lesiones necróticas, de color marrón que varían de tamaño desde pequeñas y alargadas a grandes y fusionadas, llegando a afectar toda la raíz provocando una disminución del crecimiento de las plántulas del maíz (Okello *et al.*, 2019; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

Cuando la infección ocurre en el tallo, se presenta una lesión interna, en los haces del xilema, de color marrón oscuro a rosado, esto ocurre de 10 a 14 días después de la inoculación (DDI) (Shan *et al.*, 2017), a los 30 DDI los tallos se vuelven huecos y quebradizos (Shan *et al.*, 2017; Xia *et al.*, 2019). Otro síntoma característico es el secado de las hojas inferiores, que dan lugar a una marchitez, los entrenudos basales se vuelven color marrón tornando a los tallos suaves y débiles, lo que provoca el acame de la planta en casos severos (Dharanendra Swamy *et al.*, 2020; Xia *et al.*, 2019).

Quizás, el síntoma más evidente, es el marchitamiento de las hojas cerca de las mazorcas infectadas (Figura 6A), se presenta una coloración amarillenta y en ocasiones necrosis en los bordes, en la mazorca se observa la presencia de moho color rosado a rojizo que generalmente inicia en la punta (Figura 6B, C).

las mazorcas, al ser infectadas prematuramente por *Fusarium*, éstas se pudren por completo formando peritecios sobre las vainas y pedúnculo de la mazorca. Los grupos de granos infectados distribuidos al azar en la mazorca son cubiertos por micelio blanco a rosado y rojizo, sobre todo en la punta de la mazorca (Agrios, 2005; Cao, *et al.*, 2021; Gaige *et al.*, 2020; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024; Tahat *et al.*, 2023).



Figura 6. Síntomas en campo de pudrición de mazorca por *Fusarium*.

A. Marchitez y decoloración de la hoja adyacente a la mazorca. **B.** Granos infectados con micelio rosado. **C.** Pudrición de granos en mazorca inoculada artificialmente (Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

En mazorcas inoculadas artificialmente, los síntomas pueden observarse 7 DDI (Zainudin *et al.*, 2017), los síntomas incluyen decoloración en grano, moho blanco, rosado a salmón cubriendo el grano (Duan *et al.*, 2020; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024), finalmente, 20 DDI se observa la pudrición de la mazorca por *Fusarium* presentando el micelio blanco a rosado característico (Shan *et al.*, 2017; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

La pudrición por *Fusarium verticillioides* es quizás la más común de la mazorca de maíz al rededor del mundo. A diferencia de *G. zae*, el daño de *F. moniliforme* se manifiesta principalmente en granos individuales o en ciertas áreas de la mazorca (Figura 7 B y C). Los granos infectados generan un moho algodonoso o rayas blancas en el pericarpio y germinan estando aún en el olote. Habitualmente,

las mazorcas atacadas por barrenadores del tallo son infectadas por *F. verticillioides*. (CIMMYT, 2004).

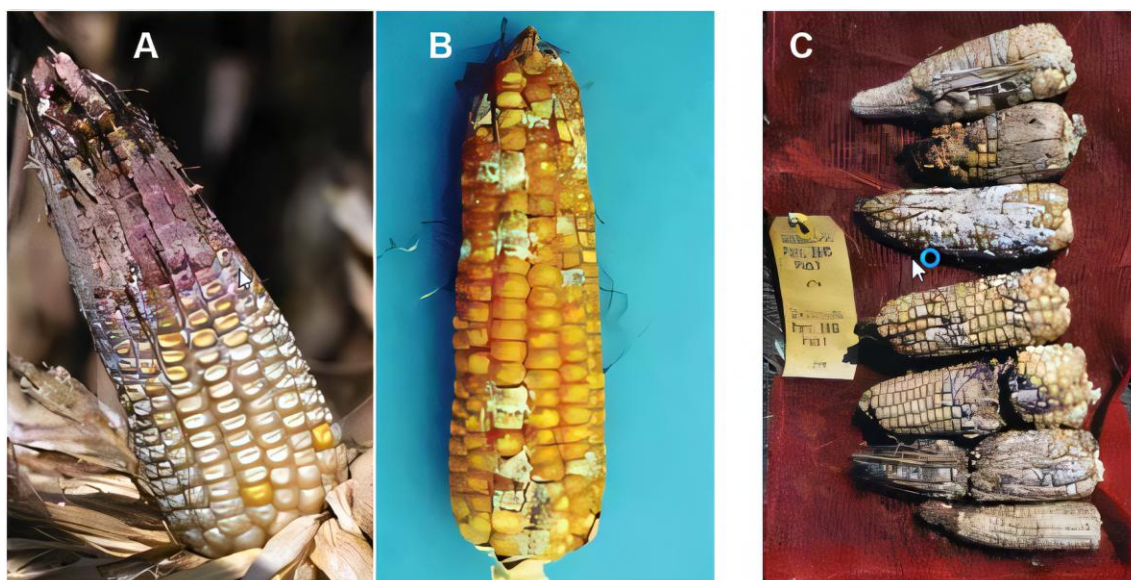


Figura 7 Síntomas de pudrición por *Giberella* y *Fusarium*, **A.** *Giberella*, **B.** *Fusarium*, **C.** *Fusarium*.

2.5. Principales rutas de entrada y colonización del patógeno

Uno de los factores que favorecen la infección y alta incidencia de *F. verticillioides* en el maíz es que el hongo utiliza múltiples rutas de entrada a la planta, causando diferentes enfermedades a lo largo del ciclo del cultivo (Figura 8) (De la Torre *et al.*, 2013). En primer lugar, está la infección sistémica de las plántulas, ocurre durante y desde la germinación de la semilla, y a lo largo del establecimiento de la plántula, al encontrarse el patógeno en la semilla o en el suelo, *F. verticillioides* penetra de forma directa el pericarpio, las hifas colonizan las células del parénquima del escutelo y llegan hasta el cortex. Entre 25 a 30 días después, las raíces y mesocotilo ya se hallan colonizados y pueden mostrar síntomas de pudrición, dependiendo de la cantidad de inóculo y los factores ambientales (De la Torre *et al.*, 2013; Okello *et al.*, 2019; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024; Zainudin *et al.*, 2017).

La segunda ruta, es la infección de la mazorca por medio del estigma, esto sucede cuando el inóculo aéreo es transportado por el agua de lluvia y se deposita en los estigmas, facilitando de esta forma el acceso a las células del

pericarpio donde la hifa infectiva se propaga extracelularmente en la superficie de la cutícula y, accede al grano a través de la parte inferior del canal estilar cuando está abierto, incluso en ausencia de lesiones mecánicas (De la Torre *et al.*, 2013; Duncan y Howard, 2010; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

Finalmente, la tercera ruta es la infección de tallo y mazorca por daño mecánico ocasionado por la alimentación de insectos plaga del cultivo, al horadar las mazorcas y tallos, el daño funciona como ruta de entrada para los conidios de *F. verticillioides*. Además, existen insectos que actúan como vectores del patógeno dispersándolo por toda la superficie de la planta, incluyendo la mazorca como *Ostrinia* spp., el gusano barrenador; o, bien, trasladándolo por grandes distancias como el gusano de la raíz (*Diabrotica* spp.). Otros vectores reportados son el gusano elotero en sus fases larvarias y adultos, trips y gorgojos (De la Torre *et al.*, 2013; Munkvold *et al.*, 1997; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

Otras evidencias que apoyan el papel de los insectos en la incidencia y severidad de la infección por *F. verticillioides* son: 1) control de trips con insecticida, que reduce la población de insectos y la enfermedad; 2) maíz genéticamente modificado, que produce la proteína CryIa(b) la cual confiere resistencia al gusano barrenador europeo, teniendo menor incidencia y severidad de pudrición de la mazorca provocado por *F. verticillioides* (Munkvold, 1997).

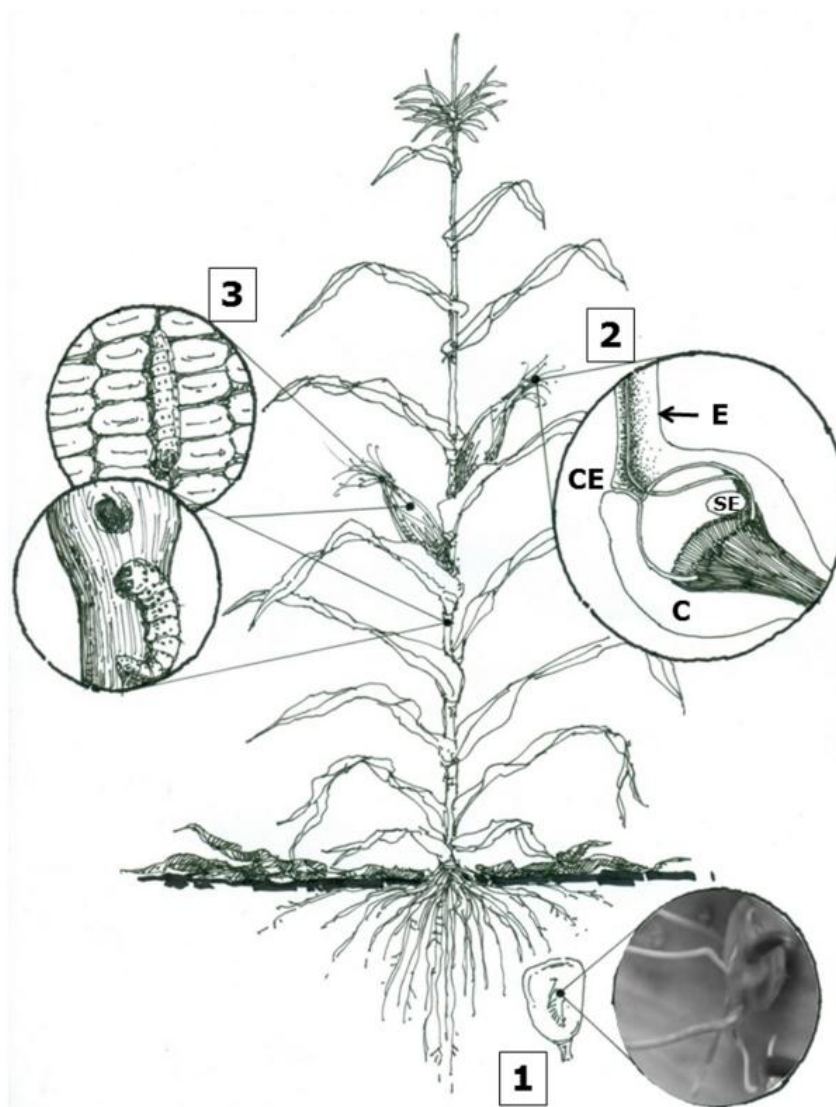


Figura 8. Rutas de entrada de *Fusarium verticillioides* a la planta de maíz.

1. Infección sistémica de plántulas. El hongo sobrevive en la semilla o en suelo de donde accede a la plántula e infecta las raíces. **2.** Infección a través del estigma. Los conidios del hongo son depositados en el estigma (E) y penetran a través de la parte inferior del canal estilar (CE). C: carpelo, SE: saco embrionario. **3.** Infección a través de heridas. El hongo accede al tallo y/o a la mazorca a través de lesiones mecánicas causadas por insectos al alimentarse (De la Torre *et al.*, 2013).

2.6. Ciclo de vida

Se ha documentado que las esporas del patógeno pueden sobrevivir en residuos del cultivo hasta por 630 días, en la superficie del suelo, o en tallos y raíces enterradas a una profundidad de 30 cm (Munkvold *et al.*, 1997). Al establecer cultivos en suelos contaminados por *Fusarium*, invariablemente se ven afectados en la tasa de germinación, velocidad de emergencia de plántulas, además de la

altura y peso las plantas que lograron emerger (Gaige *et al.*, 2020; Stagnati *et al.*, 2020), se ha observado que en algunos casos las plantas no desarrollan síntomas visibles de la infección, por lo que se consideran plantas sanas, sin embargo, existe la posibilidad de que la infección este presente de forma endofítica asintomática (Stagnati *et al.*, 2020). La formación de esporas sexuales promueve la infección secundaria en campo, influenciada por condiciones ambientales favorables con temperaturas optimas que van de entre 20 a 30 °C y una humedad relativa (RH) mayor al 90% (Brauer *et al.*, 2020; Doohan *et al.*, 2003; Lanubile *et al.*, 2017).

Fusarium spp. están presentes en el suelo en forma de micelio o esporas (clamidoporas), el hongo ingresa a la planta a través de las raíces, a menudo por heridas causadas por insectos o prácticas de cultivo. Una vez dentro de las raíces, el patógeno coloniza los vasos del xilema y se transporta a través del sistema vascular de la planta, transportándose sistémicamente dentro de la misma, colonizando el tallo y otros tejidos vasculares. El patógeno llega a la mazorca a través de los vasos conductores que conectan el tallo con la mazorca, también se puede infectar directamente la mazorca a través de la seda (estigmas) o heridas en la mazorca, los signos incluyen decoloración y pudrición de granos, con desarrollo de micelio y esporulación en la mazorca de color rosado a rojizo. El patógeno produce micotoxinas como fumonisinas, zearalenona y deoxinivanol contaminando los granos representando un riesgo significativo para la salud humana y animal, afectando la seguridad alimentaria. Las esporas del patógeno pueden sobrevivir en los restos de la cosecha sirviendo como fuente de inóculo infectando nuevamente las plantas jóvenes, reiniciando el ciclo de infección (Figura 9) (Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

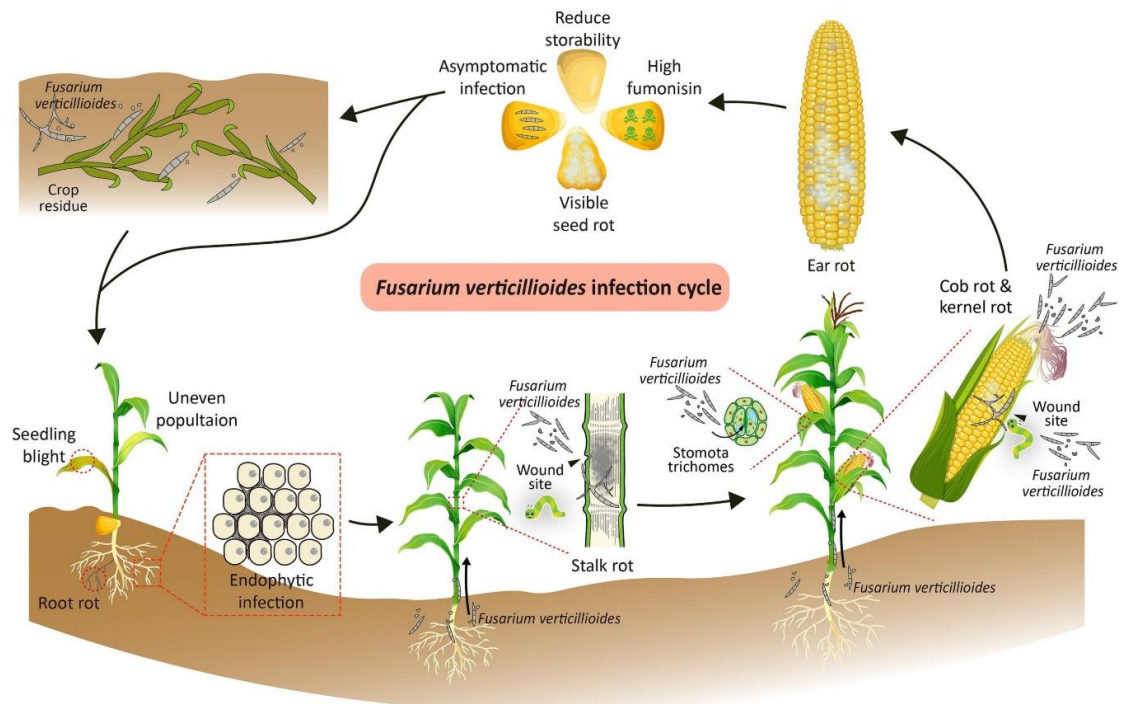


Figura 9. Ciclo de vida e infección de *Fusarium* spp. Fuente: Xu *et al.* (2023).

2.7. Identificación molecular del género *Fusarium* spp. (Link Ex Grey, 1821)

Las especies de *Fusarium* son una preocupación global para la agricultura, medicina y seguridad alimentaria/forrajera y han sido ampliamente caracterizadas (Torres-Cruz *et al.*, 2022). La información molecular, basada en el análisis de ADN y ARN, constituye una importante herramienta de investigación especialmente en la micología (Nilsson *et al.*, 2012), por esta razón se debe realizar un buen diagnóstico para la correcta clasificación y documentación de los patógenos causantes de enfermedades en un cultivo. Para lograr una correcta identificación se requieren de una combinación de técnicas morfológicas y moleculares que permita identificarlos de forma precisa (Summerell, 2019). De este modo, a lo largo del tiempo se han explorado muchos genes codificadores de proteínas con fines taxonómicos y de identificación de especies del género *Fusarium* (Crous *et al.*, 2021; Harish *et al.*, 2023; Hsuan *et al.*, 2011).

Para la identificación molecular de especies de *Fusarium*, se pueden utilizar varios marcadores moleculares (Tabla 1) (Crous *et al.*, 2021), los más utilizados

son Translation elongation factor 1-alpha (tef1) (Fallahi, *et al.*, 2021; Torres-Cruz *et al.*, 2022; Varela *et al.*, 2013) y RNA polymerase second largest subunit (rpb2) (Cao, *et al.*, 2021; Shan *et al.*, 2017; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024) ambos ofrecen un alto poder discriminatorio y están bien representados en las bases de datos públicas, Tef1 es el marcador de identificación de primera elección, debido a la amplia resolución que posee para la identificación de especies, en cuanto a rpb2 permite una mayor discriminación entre especies que están estrechamente relacionadas (Crous *et al.*, 2021; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

Tabla 1. Marcadores moleculares recomendados para la amplificación de fragmentos de ADN de hongos del género *Fusarium*. Tabla obtenida y modificada (Crous *et al.*, 2021; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

Gen/Región	Primer	Dirección	Secuencia (5'→3')	Referencia
Beta-tubulina (tub2)	T1	Forward	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	O'Donnell <i>et al.</i> , 1998
	TUB-2Fd ²	Forward	GTBCACCTYCARACCCGYGARTG	Woudenberg <i>et al.</i> , 2009
	TUB4RD	Reverse	CCRA GYTGRC RRARAAAGTGTTC	Woudenberg <i>et al.</i> , 2009
Calmodulina (CaM)	CAL-228f	Forward	GAGTTC AAGGAGG CCTCTTCC	Carbone & Kohn, 1999
	CAL-CL1 ²	Forward	GARTWCAAGGAGGCCTTCCTC	O'Donnell <i>et al.</i> , 2000a
	CAL-CL2A ²	Reverse	TTTTTGGCATCATGAGTTTGCAG	O'Donnell <i>et al.</i> , 2000b
	CAL-2Rd	Reverse	T GRTNGCCTTCRCGGATCATCTC	Quaedvlieg <i>et al.</i> , 2011
RNA polimerasa subunidad grande (rpb1)	Fa	Forward	CAYAARGARTCYTAYTGGGWC	O'Donnell <i>et al.</i> , 2010
	F7	Forward	CRACACGAAGAGGYTRGAAGG	O'Donnell <i>et al.</i> , 2010
	F61	Forward	TTT TCCAGGTCG TCGCTGTC	O'Donnell <i>et al.</i> , 2010
	F61	Forward	CTGCTGAGTGTATCATTTAACG	O'Donnell <i>et al.</i> , 2010
	R8	Reverse	CAATGACGTTGTACCATTTTCG	O'Donnell <i>et al.</i> , 2010
	R9	Reverse	TCARGGTCGATGAGGATGTTTGC	O'Donnell <i>et al.</i> , 2010
	G2R ¹	Reverse	GTCATGYGGGACTCGGTGTGDCDD	O'Donnell <i>et al.</i> , 2010
RNA polimerasa subunidad 2 (rpb2)	RPB2-5f2	Forward	GGGGWGAAACAAGAA GAGGC	Sung <i>et al.</i> , 2007
	fRPB2-7cf	Forward	ATGGGYAGACCAGCATGGGC	Liu <i>et al.</i> , 1999
	fRPB2-7cr	Reverse	CCATGTGTT TGAAGACC	Liu <i>et al.</i> , 1999
	RPB2-11ar	Reverse	GCRTGYC TTTGBGRTCRTSAC	Liu <i>et al.</i> , 1999
Factor de elongación EF-1α (tef1)	EF-1	Forward	ATGGTAAGGARGACAAGAC	O'Donnell <i>et al.</i> , 1998
	EF-2	Reverse	GGARGTACCAGTSATCAGTT	O'Donnell <i>et al.</i> , 1998
	EF1-F2	Forward	GGTATCCTCAAGGCTCAGAGA	Boutigny <i>et al.</i> , 2019
	EF1-R3	Reverse	TACACGCTCGGTTCGATCACC	Boutigny <i>et al.</i> , 2019

En la actualidad se utilizan de dos a tres marcadores (Duan *et al.*, 2020; Torres-Cruz *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023), en el caso de los marcadores Beta-tubulin (tub2), Calmodulin (CaM) y RNA polymerase largest subunit (rpb1) estos tienen aplicabilidad variable dependiendo del género o complejo de especies en donde se vayan a emplear (Al-Hatmi *et al.*, 2019; O'Donnell *et al.*, 2000; Solórzano-

Solórzano *et al.*, 2024). Comúnmente el algoritmo más utilizado para la identificación preliminar de hongos mediante marcadores de ADN es el Basic Local Alignment Search Tool BLAST (herramienta de búsqueda de alineación local básica), disponible en el sitio web GenBank del The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Du *et al.*, 2020; Duan *et al.*, 2020; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024; Varela *et al.*, 2013; W. Wang *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2023), llegando a ser considerado un método rápido y de gran utilidad en el que se puede analizar una gran cantidad de información, pero sus resultados deben analizarse con cuidado dada la presencia de una alta proporción de cepas mal identificadas y secuencias de baja calidad que deben ser filtradas (Crous *et al.*, 2021; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

Recientemente, en 2020, Torres-Cruz y otros colaboradores, publicaron una base de datos actualizada, FUSARIUM-ID v.3.0, el cual, es un recurso actualizado y descargable para la identificación de especie de *Fusarium* spp., esta base utiliza el gen del factor de elongación de la traducción 1-alfa (TEF1) (Torres-Cruz *et al.*, 2022).

2.8. Micotoxinas en *Fusarium*

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidas por hongos de diferentes especies (Coppock y M. Dziwenka, 2014; De la Torre *et al.*, 2013; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024), que pueden contaminar los productos agrícolas en el campo y/o durante su almacenamiento (Bacon *et al.*, 2008b; Gallardo-Reyes *et al.*, 2006; Malbrán, 2013), si bien estas pueden entrar en el suministro de alimentos directamente (contaminación de granos y productos almacenados) o indirectamente (uso de ingredientes contaminados en productos alimenticios tanto para humanos como animales) (Bianchini y Bullerman, 2014), y en consecuencia de ello afectar a los órganos del cuerpo e incluso causando cáncer en humanos y animales (Coppock M. Dziwenka, 2014; Xu *et al.*, 2003).

Las micotoxinas de *Fusarium* representan un problema creciente en seguridad alimentaria a nivel mundial debido al aumento en su incidencia asociado al cambio climático, comercio internacional y prácticas agrícolas intensivas. Las

cadenas agroalimentarias se encuentran particularmente amenazadas en regiones productoras de maíz, donde el calentamiento global y el estrés abiótico favorecen la infección por *Fusarium* y la acumulación de toxinas como fumonisinas, deoxinivalenol y zearalenona, representando riesgos directos para salud humana, animal y pérdidas económicas significativas (Muñoz-Zavala *et al.*, 2025).

2.8.1. Principales micotoxinas de interés

Entre las micotoxinas más relevantes producidas por especies de *Fusarium* asociadas al maíz destacan las fumonisinas (FUN), el deoxinivalenol (DON) y la zearalenona (ZEA). Cada una presenta efectos biológicos diferenciados y mecanismos tóxicos específicos (Bacon, 1992; Bacon *et al.*, 2008b; Desjardins *et al.*, 2000; Rabie *et al.*, 1982).

Fumonisin

Las fumonisinas, principalmente FUM B₁, son sintetizadas por *F. verticillioides* y *F. proliferatum* y están asociadas a cáncer esofágico, disfunción hepática y enfermedades neurológicas en humanos y animales (Qu *et al.*, 2018). A nivel celular, inducen estrés oxidativo, apoptosis y disrupción en la síntesis de esfingolípidos, afectando la integridad de membranas y tejidos (Sheik, A. y Marnewick, 2023).

Las fumonisinas (FB) más abundantes de incidencia natural son las del grupo B, derivadas de la mayoría de las cepas de *F. verticillioides*. Las fumonisinas B contienen un esqueleto lineal de 20 carbonos, con un amino en el C-2 y residuos de ácido tricarboxílico esterificados en C-14 y C-15 (Figura 10). Estos compuestos difieren por la presencia o la ausencia de un grupo hidroxilo en los C-5 y C-10. Dentro de esta familia predominan las fumonisinas B₁, B₂ y B₃, pero la B₁ (FB₁) conforma más del 75% del total de las fumonisinas; asimismo, es la más estudiada (Marin *et al.*, 1995; Proctor *et al.*, 2006). Los niveles de producción de la toxina FB₁ son muy variables entre las cepas de *F. verticillioides*, ya que algunas de ellas no la sintetizan, o bien, lo hacen a niveles muy bajos; en cambio, otras generan grandes cantidades de la toxina.

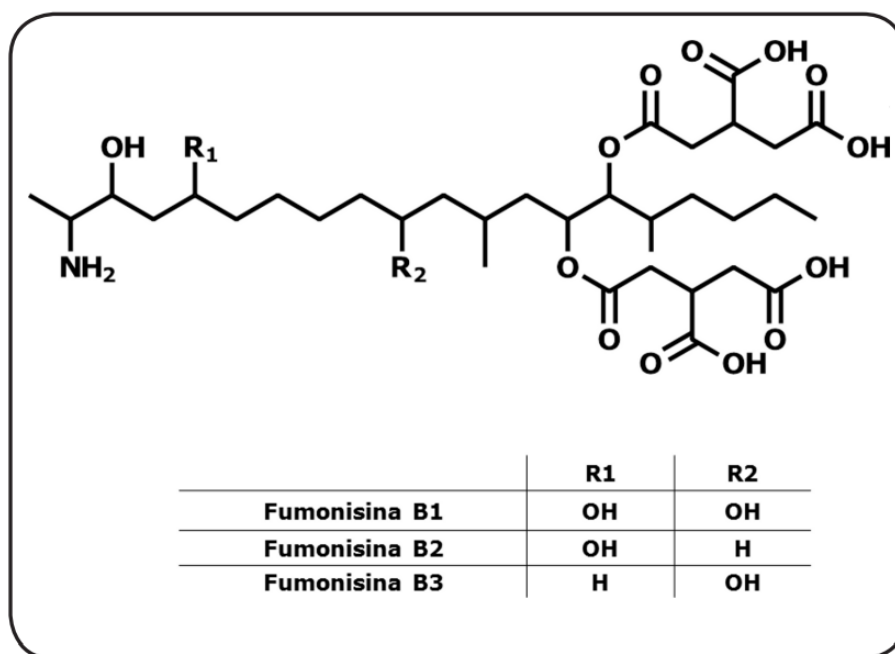


Figura 10 Estructura química de las fumonisinas del grupo B (De la Torre *et al.*, 2013).

Deoxinivalenol (DON)

El DON, producido por especies del complejo *F. graminearum*, está asociado a vómitos, diarrea, pérdida de peso, inmunosupresión y daño intestinal, pudiendo alterar la microbiota y la barrera epitelial intestinal (Jia *et al.*, 2023).

Zearalenona (ZEA)

La ZEA es conocida por su actividad estrogénica y su impacto en la reproducción, causando desequilibrio hormonal y alteraciones ováricas (Molina-Molina *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2021).

Estudios recientes demuestran que estas micotoxinas inducen daño mediante estrés oxidativo, alteración de la barrera intestinal, apoptosis celular y disbiosis microbiana. En animales y humanos se ha confirmado la afectación del sistema inmune, hepático y gastrointestinal, siendo su efecto sinérgico un riesgo emergente en salud pública (Muñoz-Zavala *et al.*, 2025).

Los granos de maíz contaminados con micotoxinas (Tabla 2) poseen un menor valor nutricional y económico (Sun *et al.*, 2023), al ser micotoxinas producidas principalmente por *Fusarium* spp. son altamente tóxicas y de amplia diseminación (Abdel-Wahhab y El-Nekeety, 2021; Liu *et al.*, 2021).

Tabla 2 Principales micotoxinas producidas por *Fusarium* spp, control en poscosecha y efectos en la salud. Tabla tomada de (Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

Micotoxina reportada	Estructura química	Actividad y efecto	Referencia
Deoxinivalenol (DON)	$C_{15}H_{20}O_6$	Inhibidores de crecimientos (La bacilomicina D)**	Sun <i>et al.</i> , 2023
		Uso de sorbentes (arcilla beidellita)**	Oladele <i>et al.</i> , 2024
		Fungicidas (Metconazol)**	Barro <i>et al.</i> , 2023
		Vómitos*	Yu <i>et al.</i> , 2023
		Lesiones hepáticas*	Jiang <i>et al.</i> , 2024
		Lesiones gastrointestinales*	Yu <i>et al.</i> , 2023
Zearalenona (ZEA)	$C_{18}H_{22}O_5$	Estrategias físicas y biológicas**	André <i>et al.</i> , 2024
		Efectos disruptores endocrinos*	Pierzgalski <i>et al.</i> , 2021
		Desequilibrio hormonal*	Molina-Molina <i>et al.</i> , 2014
		Procesamiento hidrotérmico**	Massarolo <i>et al.</i> , 2020
Fumonisin (FB)	$C_{34}H_{59}NO_{15}$	Clasificación Simple**	Matumba <i>et al.</i> , 2015
		Irradiación gamma**	Aziz <i>et al.</i> , 2007
		Cáncer de esófago*	Yu <i>et al.</i> , 2021
		Cáncer primario de hígado*	Khan <i>et al.</i> , 2018

* Efectos en la salud humana

** Alternativas de mitigación / control y efectos reportados

La mitigación de micotoxinas ha avanzado hacia estrategias integrales que incluyen bioadsorbentes naturales, microorganismos detoxificadores, tratamientos enzimáticos, compuestos antioxidantes, selección genética de cultivos resistentes, y tecnologías postcosecha como separación óptica e imágenes hiperespectrales (HSI). Estas tecnologías buscan no solo reducir la concentración de toxinas, sino también proteger la integridad nutricional del grano y minimizar residuos químicos (Muñoz-Zavala *et al.*, 2025).

Evidencia reciente indica que las principales micotoxinas asociadas a *Fusarium* actúan a través de mecanismos moleculares complejos, destacando la generación de estrés oxidativo, la disrupción de la barrera intestinal, la inducción de apoptosis celular, la disbiosis microbiana y la alteración de rutas inmunológicas clave (Muñoz-Zavala *et al.*, 2025). Este enfoque mecanístico refuerza la relevancia de implementar estrategias preventivas y de diagnóstico oportuno en los sistemas productivos, especialmente en cultivos básicos como el maíz.

En el contexto regulatorio mexicano, las aflatoxinas cuentan con un límite máximo permitido de $20 \mu\text{gkg}^{-1}$ en maíz para consumo humano establecido en la NOM-188-SSA1-2002, mientras que las fumonisinas no cuentan aún con un límite específico nacional; en la práctica, se utiliza como referencia el valor guía de la FDA de $4,000 \mu\text{g kg}^{-1}$. Esta ausencia de regulación vinculante para fumonisinas representa una brecha significativa para la inocuidad alimentaria y la protección de la salud pública (COFEPRIS, 2022).

Ante este panorama, las estrategias actuales de mitigación se orientan hacia enfoques integrales que combinan prácticas agronómicas, mejoramiento genético y tecnologías emergentes. Entre ellas destacan el uso de germoplasma nativo resiliente, la implementación de rotación de cultivos y manejo nutricional balanceado, el control biológico, con *Aspergillus flavus* atoxigénico como modelo de referencia, y el empleo de adsorbentes naturales, enzimas detoxificantes y compuestos antioxidantes. Asimismo, prácticas postcosecha como el secado adecuado y el almacenamiento hermético han mostrado alta efectividad para limitar la proliferación de hongos y la acumulación de toxinas. De manera complementaria, tecnologías avanzadas de clasificación óptica e imagen hiperespectral se están posicionando como herramientas prometedoras para la detección rápida y la segregación de granos contaminados (Muñoz-Zavala *et al.*, 2025).

2.8.2. Implicaciones toxicológicas de las micotoxinas asociadas a *Fusarium*

Las micotoxinas evaluadas en este estudio pertenecen a familias químicas distintas, con rutas biosintéticas y condiciones de producción que dependen fuertemente del ambiente. Las fumonisinas (FB) son metabolitos derivados de policétidos y se describen como aminopolioles de cadena larga; su síntesis se asocia principalmente a *Fusarium verticillioides* y especies cercanas, y suele incrementarse cuando el hospedero presenta estrés, daño por insectos o condiciones que favorecen la colonización del grano (Desjardins, 2006).

El deoxinivalenol (DON) pertenece al grupo de los tricotecenos, metabolitos de naturaleza terpénica (sesquiterpenos), frecuentemente vinculados a especies del complejo *Fusarium sambucinum*; su presencia suele relacionarse con ambientes que favorecen el desarrollo del hongo en el grano, particularmente humedad y temperatura adecuadas, y puede presentarse aun cuando los síntomas externos no sean evidentes (Desjardins, 2006).

La zearalenona (ZEA) es una lactona del tipo resorcyclic acid lactone, producida por diversas especies de *Fusarium*; se asocia a la contaminación de cereales bajo condiciones predisponentes similares, y su relevancia sanitaria radica en su actividad estrogénica. (Zinedine *et al.*, 2007; EFSA, 2016).

En conjunto, la formación y acumulación de micotoxinas en maíz responde a una interacción compleja entre el genotipo del hongo, el microambiente del grano durante las etapas de llenado y maduración, las prácticas de manejo agronómico y las condiciones poscosecha, lo que explica la distribución heterogénea y la presencia de valores extremos observados en estudios de campo. (Daou *et al.*, 2021; Blandino *et al.*, 2008; Bryła *et al.*, 2022).

2.8.3. Biosíntesis de fumonisinas

La capacidad de sintetizar fumonisinas depende de la presencia de una serie de genes, agrupados en una región de 46 kpb en el cromosoma 1 de *F. verticillioides* y que forman el locus FUM (Proctor *et al.*, 2006; Seo *et al.*, 2001). Los genes codifican las enzimas involucradas en la síntesis de las micotoxinas y de otras proteínas que median la secreción y la resistencia a las mismas.

El análisis de la secuencia de los productos de los genes del locus FUM permitió predecir las funciones de estos últimos. También facilitó el diseño de experimentos para comprobar dichas funciones mediante el análisis funcional y la generación de cepas con mutación en alguno de los genes (Du *et al.*, 2008). Estas últimas se sintetizan a partir de unidades de acetato para formar un policétido lineal dimetilado, que se condensa con el aminoácido L-alanina, seguido de hasta cinco reacciones de oxigenación y dos esterificaciones. El

primer paso es catalizado por una policétido sintasa (PKS), codificada por el gen FUM1 (Figura 11).

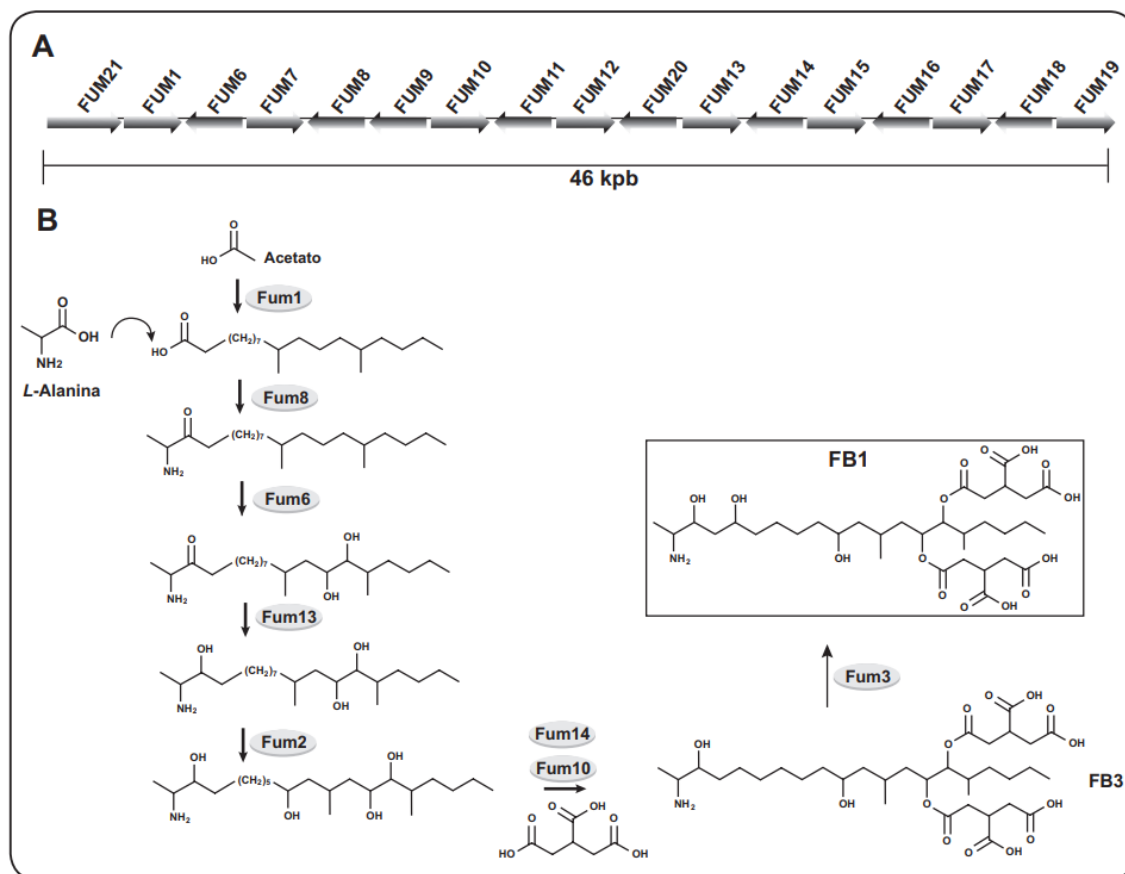


Figura 11. Biosíntesis de fumonisinas.

A. Estructura genómica del locus FUM en el cromosoma 1 de *F. verticillioides*. **B.** Ruta biosintética de las fumonisinas. Se indican los pasos en los que participan los productos de los genes del locus FUM. Tomado de (De la Torre *et al.*, 2013).

Se trata de una enzima modular que tiene varios dominios catalíticos: β -cetoacil sintasa, aciltransferasa y proteína acarreadora de acilos, responsables de la extensión de la cadena del policétido (Huffman *et al.*, 2010). Hacia abajo del gen FUM1 se ubican otros genes que codifican enzimas participantes en la síntesis de fumonisinas. El producto del gen FUM8 es una aminotransferasa que acarrea el grupo amino de la alanina al policétido de 18 carbonos, por medio de la condensación descarboxilativa. Después ocurren oxidaciones en las posiciones C-14 y C-15, posiblemente por la acción del producto del gen FUM6 (Uhlig *et al.*, 2012). El intermediario 3-ceto se reduce a un grupo hidroxilo por una reductasa codificada por el gen FUM1 (Butchko *et al.*, 2003; J. Wang *et al.*, 2010).

Los productos de los genes FUM7, FUM10, FUM11 y FUM14 participan en la esterificación de los ácidos tricarboxílicos. Es probable que estos últimos provengan de derivados del ácido cítrico, como el ácido aconítico, pero aún no se demuestra de manera concluyente (Blackwell *et al.*, 1996; Huffman *et al.*, 2010). El gen FUM11 determina un transportador de tricarboxilatos, mismo que podría estar involucrado en la transferencia de sustratos a través de los diferentes compartimentos celulares (Bojja *et al.*, 2004). Además de los genes estructurales, en el locus FUM se hallan los genes FUM19 y FUM21. El primero codifica un transportador del tipo ABC, que podría actuar en la excreción de la toxina para evitar su acumulación en la célula del hongo (Stergiopoulos *et al.*, 2002). El producto de FUM21 es un factor de transcripción del tipo Zn (II)-2Cys₆, regulador de la expresión de los genes estructurales del locus. En la naturaleza sobreviven cepas de *F. verticillioides* incapaces de sintetizar fumonisinas porque tienen una mutación en el gen FUM1 o, bien, carecen del locus FUM (Glenn *et al.*, 2008). También ocurren mutaciones en otros genes del locus, como aquellos que codifican las oxigenasas responsables de la hidroxilación en C-10 y C-5 del esqueleto; lo anterior provoca que no produzcan FB1 y, entonces, acumulan FB2 y FB3 (Proctor *et al.*, 2006).

2.8.4. Regulación de la biosíntesis de fumonisinas

La producción de fumonisinas por distintas cepas de *F. verticillioides* es muy variable y los rangos pueden abarcar hasta tres órdenes de magnitud, aun cuando las cepas crezcan bajo las mismas condiciones en un sustrato natural, como maíz, o en un medio de cultivo de composición definida. Factores ambientales, por ejemplo, pH, disponibilidad de agua y nutrientes, también regulan la síntesis de fumonisinas. Asimismo, hay genes fuera del locus FUM que participan, a distintos niveles, en las vías de señalización que conducen a la expresión de los genes del locus FUM y a la generación de fumonisinas (Figura 12) (Picot *et al.*, 2010; Sagaram *et al.*, 2006).

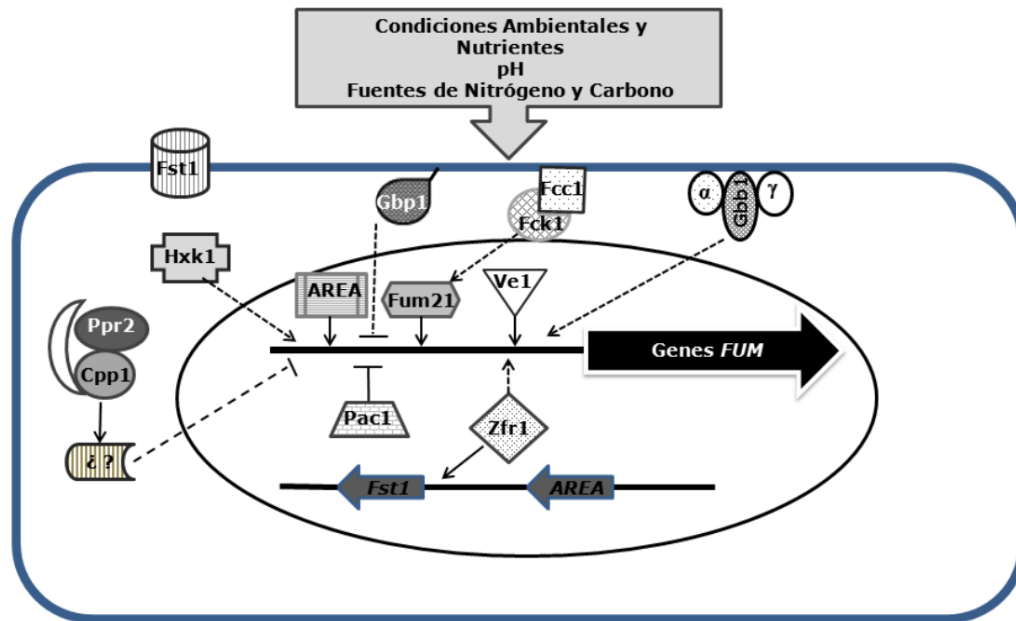


Figura 12. Regulación de la síntesis de fumonisinas.

La figura resume los reguladores positivos y negativos de la expresión de los genes FUM y la síntesis de fumonisinas e indica su posible localización en la célula. Las flechas continuas indican un efecto positivo mientras que las líneas troncadas un efecto negativo. Las líneas y flechas discontinuas indican una vía que no se ha caracterizado completamente. Tomado de (De la Torre *et al.*, 2013).

2.8.5. Influencia de las condiciones ambientales y nutricionales

El pH influye en la síntesis de fumonisinas; hay una marcada producción de la toxina en pH ácido (4.5), en contraste con el pH alcalino, mayor a 8. La proteína Pac1 de *F. verticillioides* tiene una alta identidad global con otros homólogos de hongos que poseen funciones de activación transcripcional en respuesta al pH ambiental. El gen PAC1 actúa como represor de la síntesis de fumonisina, pues la mutante en éste produce más toxina que la cepa silvestre, tanto en granos de maíz como en un medio sintético amortiguado a pH ácido (4.5). El gen FUM1 es un blanco potencial de este regulador porque en la cepa mutante hay niveles mayores de él (Flaherty *et al.*, 2003).

La fuente de nitrógeno constituye un factor nutricional que influye en la síntesis de fumonisinas, ya que el amonio reprime la producción de la toxina. La relación C:N también afecta la síntesis: si ésta es baja ocurre la supresión. Cuando *F. verticillioides* crece en granos de maíz en estadíos tempranos de desarrollo, con bajo contenido de almidón, se da una pobre generación de fumonisina (Bluhm y

Woloshuk, 2005). El gen AREA de *F. verticillioides* codifica la proteína que contiene una región altamente conservada entre los reguladores del metabolismo de nitrógeno y que incluye un dominio de unión a la caja GATA en los promotores. Las cepas de *F. verticillioides* con mutación en el gen AREA producen menores cantidades de la toxina, por lo que este gen es un regulador positivo de la síntesis de fumonisina (Kim y Woloshuk, 2008). También el tipo de carbohidratos presentes en los granos de maíz influye en la producción de fumonisina. Por ejemplo, la cantidad de esta toxina es muy baja en un medio de cultivo cuya única fuente de carbono es la amilosa. Sin embargo, aumenta de manera significativa cuando el hongo crece en amilopectina o dextrina; esta última es producto de la hidrólisis de la amilopectina. Del mismo modo, la transcripción de los genes FUM8 y FUM12 aumenta durante el desarrollo del grano, conforme se acumula amilopectina y alcanza un máximo en el estado dentado (Bluhm y Woloshuk, 2005).

HXK1 es otro gen que participa en la percepción de azúcares y contribuye en la regulación de la síntesis de fumonisinas. Codifica una hexocinasa, enzima del metabolismo primario que participa en el crecimiento, el desarrollo y la patogénesis. La mutación de HXK1 afecta el crecimiento del hongo en presencia de varias fuentes de carbono como fructosa, glucosa, sacarosa o maltotriosa y también ocurre la reducción del 80% en la síntesis de la fumonisina B1 (Kim *et al.*, 2011).

El análisis de mutantes en el gen FST1, que codifica un transportador de carbohidratos, también apoya el papel de los azúcares en la síntesis de FB1. Las cepas con mutación en FST1 no se ven afectadas en el crecimiento ni en la colonización del grano, pero sí en la producción de FB1 (Bluhm *et al.*, 2008). Es posible que la percepción o toma de carbohidratos sea un factor que contribuya en la biosíntesis de la micotoxina. La expresión del gen FST1 se halla controlada por el factor transcripcional Zfr1, que es un regulador positivo de la síntesis de fumonisinas y entre sus blancos podrían estar incluidos los genes del locus FUM. Las cepas mutantes del gen ZFR1 muestran crecimiento y desarrollo normal en granos de maíz, pero menor nivel de fumonisina: apenas un 10% con respecto a

la cepa silvestre (Flaherty y Woloshuk, 2004). Asimismo, el factor transcripcional Sda1, requerido para el catabolismo del sorbitol, participa negativamente en la regulación de la síntesis de fumonisina. La cepa mutante en este gen produce mayor cantidad de FB1 que la cepa silvestre y es incapaz de crecer en sorbitol como única fuente de carbono (Malapi-Wight *et al.*, 2013).

Otro factor transcripcional que regula positivamente la síntesis de fumonisinas es el producto del gen FUM21. Las cepas de *F. verticillioides* con mutación en FUM21 producen muy poca fumonisina y alcanzan niveles bajos del transcrito de los genes FUM1 y FUM8, los que son esenciales para la síntesis de la micotoxina ((Brown *et al.*, 2007). Fum21 podría unirse al promotor del gen FUM1 que tiene sobrerrepresentada la secuencia CGGATA, donde la triada CGG es reconocida por los factores transcripcionales del tipo Zn (II)-2Cys6. Asimismo, la mutación de esta secuencia cis en el promotor de FUM1 causa menor transcripción del gen cuando el hongo crece in planta o in vitro (Montis *et al.*, 2013).

2.8.6. Límites superiores permisibles de micotoxinas en el consumo humano y animal

Las micotoxinas producidas por hongos del género *Fusarium* constituyen contaminantes naturales de alta relevancia en la inocuidad de los alimentos y los piensos, particularmente en cereales y productos derivados. Entre las más estudiadas y reguladas se encuentran el deoxinivalenol (DON), la zearalenona (ZEA) y las fumonisinas (FUM B₁ y B₂), cuya elevada frecuencia de ocurrencia, estabilidad durante el almacenamiento y el procesamiento, así como sus efectos adversos sobre la salud humana y animal, ha sido ampliamente documentada en la literatura científica (Placinta *et al.*, 1999; Bennett y Klich, 2003; Bryden, 2012). Ante la dificultad de eliminar estas toxinas una vez formadas, el establecimiento de límites superiores permisibles se reconoce como la principal medida de control sanitario (FAO/WHO, 2011; Eskola *et al.*, 2020).

La definición de límites máximos para micotoxinas se basa en evaluaciones de riesgo que consideran la toxicidad específica de cada compuesto, los niveles de exposición dietaria y los patrones de consumo de alimentos básicos en diferentes

poblaciones (FAO/WHO, 2014; EFSA, 2017). En este contexto, organismos internacionales como la Comisión del Codex Alimentarius de la FAO/OMS y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) han desarrollado regulaciones y recomendaciones que establecen valores máximos permisibles para DON, ZEA y FUM en alimentos destinados al consumo humano y en piensos, diferenciando entre matrices alimentarias y especies animales, con el objetivo de minimizar el riesgo toxicológico asociado a su ingestión crónica (EFSA, 2018; FAO/WHO, 2019).

El deoxinivalenol ha recibido especial atención en la literatura normativa debido a su alta prevalencia en trigo, maíz, cebada y avena, así como a su notable resistencia a los tratamientos térmicos empleados durante el procesamiento de alimentos (Pestka, 2010; Sobrova *et al.*, 2010). De manera similar, la zearalenona ha sido objeto de regulación por sus efectos estrogénicos y su impacto documentado sobre el sistema reproductor de animales de producción, particularmente en el cerdo, considerado una de las especies más sensibles a la micotoxina (Zinedine *et al.*, 2007; EFSA, 2016). En el caso de las fumonisinas, la literatura destaca que su importancia regulatoria radica no sólo en su toxicidad, sino en las elevadas concentraciones que pueden alcanzarse en el maíz y en el consumo significativo de este cereal a nivel mundial, lo que justifica la definición de límites máximos específicos para este grupo de micotoxinas (Marasas, 2001; Rheeder *et al.*, 2002; EFSA, 2018).

La revisión de documentos normativos evidencia diferencias relevantes entre regiones en cuanto al alcance y especificidad de la regulación de micotoxinas. En particular, la Unión Europea y el Codex Alimentarius han establecido límites máximos claramente definidos para DON, ZEA y FUN en una amplia variedad de alimentos y piensos (Comisión Europea, 2006; Reglamento (UE) 2023/915; FAO/WHO, 2019). En contraste, la normatividad vigente en México se encuentra limitada a ciertos productos y micotoxinas específicas, mientras que para otras combinaciones micotoxina-matriz no se dispone de límites máximos explícitos en la legislación nacional, situación que se resume en la Tabla 3 (COFEPRIS, 2002; 2008; 2010).

La ausencia de límites máximos explícitos para determinadas combinaciones micotoxina-matriz en México representa un reto significativo para la gestión del riesgo sanitario, particularmente en cereales básicos como el maíz, cuyo consumo es elevado, continuo y culturalmente central en la dieta de la población. Esta heterogeneidad regulatoria ha sido señalada en la literatura como un aspecto crítico que puede dificultar la evaluación integral de la exposición y la implementación de estrategias de control efectivas en sistemas agroalimentarios donde la contaminación por micotoxinas es recurrente (FAO/WHO, 2014; Eskola *et al.*, 2020).

Tabla 3. Límites superiores permisibles de micotoxinas ocasionadas por *Fusarium* en el consumo humano y animal en México (NOM), la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Producto	Límite superior µg/kg						
	FUM B1 + B2			ZEA		DON	
	NOM	EFSA	FDA	EFSA	FDA	EFSA	FDA
Todos los productos destinados al consumo humano	4000 ⁴	1000 ⁶	2000-4000 ⁷	100 ⁶	50-100 ⁷	1000 ⁶	1000 ⁷
Harina de maíz nixtamalizado y masa para tortillas	2000 ⁴	1000 ⁶	2000-4000 ⁷	75 ⁶	50-100 ⁷	750 ⁶	1000 ⁷
Todos los productos destinados a la avicultura	N/A ⁵	20000 ⁶	N/A ⁵	250 ⁶	N/A ⁵	5000 ⁶	N/A ⁵
Cerdo	N/A ⁵	5000 ⁶	N/A ⁵	100 ⁶	N/A ⁵	900 ⁶	N/A ⁵
Ganado	N/A ⁵	30000 ⁶	N/A ⁵	500 ⁶	N/A ⁵	5000 ⁶	N/A ⁵

1 NOM-188-SSA1-2002. 2 NOM-247-SSA1-2008; NMX-FF-034/1-SCFI-2002. 3 NOM-243-SSA1-2010. 4 Guía de la FDA para la industria. 5 No se dispuso de información específica. 6 Reglamento (UE) 2023/915 y 2024/1022 para alimentos y Recomendación 2006/576/CE para piensos. 7 FAO Codex alimentarius

2.9. LITERATURA CITADA

- Abdel-Wahhab, M. A., & El-Nekeety, A. A. (2021). Chapter 44 - Mycotoxin deoxynivalenol and oxidative stress: Role of silymarin and inulin protection. En V. B. Patel & V. R. Preedy (Eds.), *Toxicology* (pp. 457-467). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819092-0.00045-5>
- Agrios, G. N. (2005). *Fitopatología*. Editorial Limusa S.A. De C.V.
- Al-Hatmi, A. M. S., Sandoval-Denis, M., Nabet, C., Ahmed, S. A., Demar, M., Normand, A.-C., & de Hoog, G. S. (2019). *Fusarium* volatile, a new potential pathogen from a human respiratory sample. *Fungal Systematics and Evolution*, 4, 171-181. <https://doi.org/10.3114/fuse.2019.04.09>
- Aoki, T., O'Donnell, K., & Geiser, D. M. (2014). Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: Current status and future challenge. *J Gen Plant Pathol.*, 80(3), 189-201. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0509-3>
- Backhouse y Burgues. (2002). Climatic analysis of the distribution of *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum* and *F. culmorum* on cereals in Australia. *Australasian Plant Pathology*. <https://link.springer.com/article/10.1071/AP02026>
- Bacon, C. W. (1992). Scanning Electron Microscopy of *Fusarium moniliforme* Within Asymptomatic Corn Kernels and Kernels Associated with Equine Leukoencephalomalacia. *Plant Disease*, 76(2), 144. <https://doi.org/10.1094/PD-76-0144>
- Bacon, C. W., Glenn, A. E., & Yates, I. E. (2008a). *Fusarium Verticillioides*: Managing the Endophytic Association with Maize for Reduced Fumonisin Accumulation. *Toxin Reviews*, 27(3-4), 411-446. <https://doi.org/10.1080/15569540802497889>
- Bacon, C. W., Glenn, A. E., & Yates, I. E. (2008b). *Fusarium verticillioides*: managing the endophytic association with maize for reduced fumonisin accumulation. *Toxin Reviews*, 27(3-4), 411-446. <https://doi.org/10.1080/15569540802497889>
- Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497–516. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.497-516.2003>
- Barrera-Guzmán, L. A., Legaria-Solano, J. P., & Ortega-Paczka, R. (2020). Diversidad genética en poblaciones de razas mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(1), 121-121. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.121>
- Blandino, M., Reyneri, A., & Vanara, F. (2008). Effect of plant density on toxigenic fungal infection and mycotoxin contamination of maize kernels. *Field Crops Research*. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.12.004>

- Bianchini, A., & Bullerman, L. B. (2014). Mycotoxins. Classification. En C. A. Batt & M. L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition) (pp. 854-861). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00230-5>
- Blackwell, B. A., Edwards, O. E., Fruchier, A., ApSimon, J. W., & Miller, J. D. (1996). NMR Structural Studies of Fumonisin B1 and Related Compounds from *Fusarium moniliforme*. En L. S. Jackson, J. W. DeVries, & L. B. Bullerman (Eds.), *Fumonisin in Food* (Vol. 392, pp. 75-91). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1379-1_7
- 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>
- Bluhm, B. H., Kim, H., Butchko, R. a. E., & Woloshuk, C. P. (2008). Involvement of ZFR1 of *Fusarium verticillioides* in kernel colonization and the regulation of FST1, a putative sugar transporter gene required for fumonisin biosynthesis on maize kernels. *Molecular Plant Pathology*, 9(2), 203-211. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00458.x>
- Bluhm, B. H., & Woloshuk, C. P. (2005). Amylopectin Induces Fumonisin B1 Production by *Fusarium verticillioides* During Colonization of Maize Kernels. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 18(12), 1333-1339. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-1333>
- Bojja, R. S., Cerny, R. L., Proctor, R. H., & Du, L. (2004). Determining the biosynthetic sequence in the early steps of the fumonisin pathway by use of three gene-disruption mutants of *Fusarium verticillioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10), 2855-2860. <https://doi.org/10.1021/jf035429z>
- Brauer, E. K., Subramaniam, R., & Harris, L. J. (2020). Regulation and Dynamics of Gene Expression During the Life Cycle of *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*®, 110(8), 1368-1374. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-20-0080-IA>
- Brown, D. W., Butchko, R. A. E., Busman, M., & Proctor, R. H. (2007). The *Fusarium verticillioides* FUM Gene Cluster Encodes a Zn (II)2Cys6 Protein That Affects FUM Gene Expression and Fumonisin Production. *Eukaryotic Cell*, 6(7), 1210-1218. <https://doi.org/10.1128/ec.00400-06>
- Bryła, M., et al. (2022). Recent Research on Fusarium Mycotoxins in Maize—A Review. *Foods*, 11(21), 3465. <https://doi.org/10.3390/foods11213465>
- Bryden, W. L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology*, 173(1–2), 134–158. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.014>

- Butchko, R. A., Proctor, R. H., & Plattner, R. D. (2003). FUM13 Encodes a Short Chain Dehydrogenase/Reductase Required for C-3 Carbonyl Reduction during Fumonisin Biosynthesis in *Gibberella moniliformis* | Journal of Agricultural and Food Chemistry. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0262007>
- Cao, et al. (2021). First Report of Maize Stalk Rot Caused by *Fusarium kyushuense* in China | Plant Disease. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-11-20-2342-PDN>
- Castro López1*, W., Carrera Sanchez1, K., Herrera Isla2, F. L., Cupull Santana2, R., Castro López1*, W., Carrera Sanchez1, K., Herrera Isla2, F. L., & Cupull Santana2, R. (2018). Identificación de aislados de *Fusarium* spp. Asociados a *Solanum quitoense* Lam en Pastaza, Ecuador. Centro Agrícola, 45(4), 5-11.
- Chandra, N. S., Wulff, E. G., Udayashankar, A. C., Nandini, B. P., Niranjana, S. R., Mortensen, C. N., & Prakash, H. S. (2011). Prospects of molecular markers in *Fusarium* species diversity. Applied Microbiology and Biotechnology, 90(5), 1625-1639. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3209-3>
- Chen, J., Zhang, X., He, Z., Xiong, D., & Long, M. (2024). Damage on intestinal barrier function and microbial detoxification of deoxynivalenol: A review. Journal of Integrative Agriculture, 23(8), 2507-2524. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2023.11.038>
- CIMMYT, Programa de Maíz. (2004). Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. (Cuarta ed.). México, D.F.: CIMMYT.
- COFEPRIS. (2022). Lineamientos para el control de plaguicidas y sustancias tóxicas en México. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. <https://www.gob.mx/cofepris> (Consultado el 15 de octubre de 2025)
- Comisión Europea. (2006). Recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, relativa a la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Coppock, R. W., & M. Dziwenka, M. (2014). Mycotoxins. En Biomarkers in Toxicology (pp. 549-562). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404630-6.00032-4>
- Crous, P. W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K. A., Schroers, H.-J., Chaverri, P., Gené, J., Guarro, J., Hirooka, Y., Bensch, K., Kema, G. H. J., Lamprecht, S. C., Cai, L., Rossman, A. Y., Stadler, M., Summerbell, R. C., Taylor, J. W., Ploch, S., Visagie, C. M., ... Thines, M. (2021). *Fusarium*: More than a node or a foot-shaped basal cell. Studies in Mycology, 98, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116>

- Daou, R., Joubrane, K., Maroun, R. G., & Khabbaz, L. R. (2021). Mycotoxins: Factors influencing production and control strategies. *AIMS Agriculture and Food*. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2021025>
- De la Torre, M., Sánchez Rangel, D., Galeana-Sánchez, E., & Plasencia, J. (2013). Fumonisin -Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 17, 77-91. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(14\)70321-3](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(14)70321-3)
- Desjardins, A. E., Manandhar, H. K., Plattner, R. D., Manandhar, G. G., Poling, S. M., & Maragos, C. M. (2000). *Fusarium* Species from Nepalese Rice and Production of Mycotoxins and Gibberellic Acid by Selected Species. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3), 1020-1025. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.3.1020-1025.2000>
- Dharanendra Swamy, S., Mahadevakumar, S., Hemareddy, H. B., Amruthesh, K. N., Mamatha, S., Kunjeti, S. G., Swapnil, R., Vasantha Kumar, T., & Lakshmidevi, N. (2020). First report of *Fusarium equiseti*—the incitant of post flowering stalkrot of maize (*Zea mays* L.) in India. *Crop Protection*, 129, 105035. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.105035>
- DGSV, Dirección General de Sanidad Vegetal - Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. (2020). [Título específico de la publicación/informe]. [Ubicación, País, ej. Ciudad de México, México]: Autor. [URL si está disponible].
- Doohan, F. M., Brennan, J., & Cooke, B. M. (2003). Influence of Climatic Factors on *Fusarium* Species Pathogenic to Cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109(7), 755-768. <https://doi.org/10.1023/A:1026090626994>
- Du, L., Zhu, X., Gerber, R., Huffman, J., Lou, L., Jorgenson, J., Yu, F., Zaleta-Rivera, K., & Wang, Q. (2008). Biosynthesis of sphinganine-analog mycotoxins. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(6), 455-464. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0316-y>
- Du, Q., Duan, C. X., Li, S. C., Tang, Z. L., & Luo, J. Y. (2020). First Report of Maize Ear Rot Caused by *Fusarium concentricum* in China. *Plant Disease*, 104(5), 1539. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1515-PDN>
- Duan, C. X., Wang, B. B., Sun, F. F., Yang, Z. H., Zhu, Z. D., & Wang, X. M. (2020). Occurrence of Maize Ear Rot Caused by *Fusarium fujikuroi* in China. *Plant Disease*, 104(2), 587-587. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0154-PDN>
- 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>
- EFSA CONTAM Panel. (2016). Appropriateness to set a group health-based guidance value for zearalenone and its modified forms. *EFSA Journal*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4425>

- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2016). Appropriateness to set a group health-based guidance value for zearalenone and its modified forms. *EFSA Journal*, 14(4), e04425. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4425>
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2017). Risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol in food and feed. *EFSA Journal*, 15(9), e04789. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4789>
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2018). Risks to human and animal health related to the presence of fumonisins in food and feed. *EFSA Journal*, 16(5), e05190. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5190>
- Eskola, M., Kos, G., Elliott, C. T., Hajšlová, J., Mayar, S., & Krska, R. (2020). Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited “25%” figure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(16), 2773–2789. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1658570>
- Fallahi, et al. (2021). Genetic structure of *Fusarium verticillioides* populations from maize in Iran. *Fungal Genetics and Biology*, 156, 103613. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2021.103613>
- FAO/WHO. (2011). Evaluation of certain contaminants in food: Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). FAO.
- FAO/WHO. (2014). Risk assessment of mycotoxins in food. FAO Food and Nutrition Paper No. 103.
- FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. (2019). General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (CXS 193-1995). FAO/WHO.
- FAOSTAT. Disponible en línea: <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (consultado el 07 de septiembre de 2025).
- Fisher, J. D., Nadler, A. y Whitcher-Alagna, S. (1982). Reacciones de los receptores a la ayuda. *Psychological Bulletin*, 91 (1), 27–54. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.91.1.27>
- Flaherty, J. E., Pirttilä, A. M., Bluhm, B. H., & Woloshuk, C. P. (2003). PAC1, a pH-regulatory gene from *Fusarium verticillioides*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9), 5222-5227. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5222-5227.2003>
- Flaherty, J. E., & Woloshuk, C. P. (2004). Regulation of Fumonisin Biosynthesis in *Fusarium verticillioides* by a Zinc Binuclear Cluster-Type Gene, ZFR1. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 2653-2659. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.2653-2659.2004>

- Gaige, A. R., Todd, T., & Stack, J. P. (2020). Interspecific Competition for Colonization of Maize Plants Between *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides*. *Plant Disease*, 104(8), 2102-2110. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1964-RE>
- Gallardo-Reyes, E. D., Ibarra-Moreno, G. M., Isabel, R., Postal, A., Cp, M., Cuamea-Cruz, G., & de, D. (2006). Micobiota de Maíz (*Zea mays* L.) Recién Cosechado y Producción de Fumonisina B1 por Cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. 24(1), 27-34.
- Geiser, D. M., del Mar Jiménez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T. J., Zhang, N., Kulda, G. A., & O'donnell, K. (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA Sequence Database for Identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5), 473-479. <https://doi.org/10.1023/B:EJPP.0000032386.75915.a0>
- Gelderblom, W. C., Abel, S., Smuts, C. M., Marnewick, J., Marasas, W. F., Lemmer, E. R., & Ramljak, D. (2001). Fumonisin-induced hepatocarcinogenesis: Mechanisms related to cancer initiation and promotion. *Environmental Health Perspectives*, 109(suppl 2), 291-300. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s2291>
- Glenn, A. E., Zitomer, N. C., Zimeri, A. M., Williams, L. D., Riley, R. T., & Proctor, R. H. (2008). Transformation-mediated complementation of a FUM gene cluster deletion in *Fusarium verticillioides* restores both fumonisin production and pathogenicity on maize seedlings. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 21(1), 87-97. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-1-0087>
- González Castro, M. E., Palacios Rojas, N., Espinoza Banda, A., & Bedoya Salazar, C. A. (2013). Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Revista fitotecnia mexicana*, 36, 239-338.
- Gutiérrez Núñez, N. L. (2023). La agricultura del maíz y el sorgo en el Bajío mexicano: Revolución verde, sequías y expansión forrajera, 1940-2021. *Historia agraria: Revista de agricultura e historia rural*, 91, 255-286.
- Harish, J., Jambhulkar, P. P., Bajpai, R., Arya, M., Babele, P. K., Chaturvedi, S. K., Kumar, A., & Lakshman, D. K. (2023). Morphological characterization, pathogenicity screening, and molecular identification of *Fusarium* spp. Isolates causing post-flowering stalk rot in maize. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1121781>
- Hsuan, H. M., Salleh, B., & Zakaria, L. (2011). Molecular Identification of *Fusarium* Species in *Gibberella fujikuroi* Species Complex from Rice, Sugarcane and Maize from Peninsular Malaysia. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/ijms12106722>
- Huffman, J., Gerber, R., & Du, L. (2010). Recent advancements in the biosynthetic mechanisms for polyketide-derived mycotoxins. *Biopolymers*, 93(9), 764-776. <https://doi.org/10.1002/bip.21483>

- IARC. (2002). IARC – Internacional agency for Research on Cancer. <https://www.iarc.who.int/>
- Jia, B., Lin, H., Yu, S., Liu, N., Yu, D., & Wu, A. (2023). Mycotoxin deoxynivalenol-induced intestinal flora disorders, dysfunction and organ damage in broilers and pigs. *Journal of Hazardous Materials*, 451, 131172. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131172>
- Kamle, M., Mahato, D. K., Devi, S., Lee, K. E., Kang, S. G., & Kumar, P. (2019). Fumonisin: Impact on Agriculture, Food, and Human Health and their Management Strategies. *Toxins*, 11(6), 328. <https://doi.org/10.3390/toxins11060328>
- Kim, H., Smith, J. E., Ridenour, J. B., Woloshuk, C. P., & Bluhm, B. H. (2011). HXK1 regulates carbon catabolism, sporulation, fumonisin B1 production and pathogenesis in *Fusarium verticillioides*. *Microbiology*, 157(9), 2658-2669. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052506-0>
- Kim, H., & Woloshuk, C. P. (2008). Role of AREA, a regulator of nitrogen metabolism, during colonization of maize kernels and fumonisin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Fungal Genetics and Biology*, 45(6), 947-953. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2008.03.007>
- Klotz, LV, Nelson, PE y Toussoun, TA (1988). Un medio para potenciar la formación de clamidosporas en especies de *Fusarium*. *Mycologia*, 80 (1), 108-109. <https://doi.org/10.1080/00275514.1988.12025505>
- 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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01774>
- Leslie, J. F., Anderson, L. L., Bowden, R. L., & Lee, Y.-W. (2007). Inter- and intra-specific genetic variation in *Fusarium*. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1), 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.059>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (with Bullock, S.). (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*.
- Leyva-Madrigal, K. Y., Larralde-Corona, C. P., Apodaca-Sánchez, M. A., Quiroz-Figueroa, F. R., Mexia-Bolaños, P. A., Portillo-Valenzuela, S., Ordaz-Ochoa, J., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2015). *Fusarium* Species from the *Fusarium fujikuroi* Species Complex Involved in Mixed Infections of Maize in Northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology*, 163(6), 486-497. <https://doi.org/10.1111/jph.12346>
- Liu, Y., Hu, G., Zhang, A., Loladze, A., Hu, Y., Wang, H., Qu, J., Zhang, X., Olsen, M., San Vicente, F., Crossa, J., Lin, F., & Prasanna, B. M. (2021). Genome-wide association study and genomic prediction of *Fusarium* ear rot resistance in tropical maize germplasm. *The Crop Journal*, 9(2), 325-341. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.08.008>

- Malapi-Wight, M., Smith, J., Campbell, J., Bluhm, B. H., & Shim, W.-B. (2013). Sda1, a Cys2-His2 Zinc Finger Transcription Factor, Is Involved in Polyol Metabolism and Fumonisin B1 Production in *Fusarium verticillioides*. PLOS ONE, 8(7), e67656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067656>
- Malbrán, I. (2013). Agresividad, producción de micotoxinas y diversidad en las poblaciones de *Fusarium graminearum* de la región triguera argentina [Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Escuela para Graduados]. <http://ri.agro.uba.ar/greenstone3/library/collection/tesis/document/2013malbranismael>
- Marasas, W. F. O. (2001). Discovery and occurrence of the fumonisins: A historical perspective. Environmental Health Perspectives, 109(Suppl 2), 239–243. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s2239>
- Mendoza, P. J. G. (2017). El cultivo del maíz en el mundo y en Perú. Revista de Investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu, 4(2), 73-79. doi.org/10.36955/RIULCB.2017v4n2.005
- Molina-Molina JM, Real M, Jimenez-Diaz I, Belhassen H, Hedhili A, Torné P, Fernández MF, Olea N. Assessment of estrogenic and anti-androgenic activities of the mycotoxin zearalenone and its metabolites using in vitro receptor-specific bioassays. Food Chem Toxicol. 2014 Dec; 74:233-9. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.10.008>. PMID: 25455890
- Montis, V., Pasquali, M., Visentin, I., Karlovsky, P., & Cardinale, F. (2013). Identification of a cis-acting factor modulating the transcription of FUM1, a key fumonisin-biosynthetic gene in the fungal maize pathogen *Fusarium verticillioides*. Fungal Genetics and Biology, 51, 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2012.11.009>
- Munkvold, G. P., Hellmich, R. L., & Showers, W. B. (1997). Reduced Fusarium Ear Rot and Symptomless Infection in Kernels of Maize Genetically Engineered for European Corn Borer Resistance. Phytopathology®, 87(10), 1071-1077. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.10.1071>
- Muñoz-Zavala, C., Solís-Martínez, O., Valencia-Luna, J. B., Sonder, K., Hernández-Anguiano, A. M., & Palacios-Rojas, N. (2025). Aflatoxins in Mexican Maize Systems: From Genetic Resources to Agroecological Resilience and Co-Occurrence with Fumonisins. Toxins, 17(11), 531. <https://doi.org/10.3390/toxins17110531>
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State University Press.
- Nilsson, R. H., Tedersoo, L., Abarenkov, K., Ryberg, M., Kristiansson, E., Hartmann, M., Schoch, C. L., Nylander, J. A. A., Bergsten, J., Porter, T. M., Jumpponen, A., Vaishampayan, P., Ovaskainen, O., Hallenberg, N., Bengtsson-Palme, J., Eriksson, K. M., Larsson, K.-H., Larsson, E., & Kõljalg, U. (2012). Five simple guidelines for establishing basic authenticity and

- reliability of newly generated fungal ITS sequences. *MycKeys*, 4, 37-63. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.4.3606>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Tacke, B. K., & Casper, H. H. (2000). Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(14), 7905-7910. <https://doi.org/10.1073/pnas.130193297>
- O'Donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M. G., Sarver, B. A. J., Balajee, S. A., Schroers, H.-J., Summerbell, R. C., Robert, V. A. R. G., Crous, P. W., Zhang, N., Aoki, T., Jung, K., Park, J., Lee, Y.-H., Kang, S., Park, B., & Geiser, D. M. (2010). Internet-Accessible DNA Sequence Database for Identifying Fusaria from Human and Animal Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(10), 3708-3718. <https://doi.org/10.1128/jcm.00989-10>
- O'Donnell, K., Whitaker, B. K., Laraba, I., Proctor, R. H., Brown, D. W., Broders, K., Kim, H.-S., McCormick, S. P., Busman, M., Aoki, T., Torres-Cruz, T. J., & Geiser, D. M. (2022). DNA Sequence-Based Identification of *Fusarium*: A Work in Progress. *Plant Disease*, 106(6), 1597-1609. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-2035-SR>
- Okello, P. N., Petrović, K., Kontz, B., & Mathew, F. M. (2019). Eight Species of *Fusarium* Cause Root Rot of Corn (*Zea mays*) in South Dakota. *Plant Health Progress*, 20(1), 38-43. <https://doi.org/10.1094/PHP-11-18-0075-RS>
- Oldenburg, E., Höppner, F., Ellner, F., & Weinert, J. (2017). *Fusarium* diseases of maize associated with mycotoxin contamination of agricultural products intended to be used for food and feed. *Mycotoxin Research*, 33(3), 167-182. <https://doi.org/10.1007/s12550-017-0277-y>
- Oren, L., Ezrati, S., Cohen, D., & Sharon, A. (2003). Early Events in the *Fusarium verticillioides*-Maize Interaction Characterized by Using a Green Fluorescent Protein-Expressing Transgenic Isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(3), 1695-1701. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.3.1695-1701.2003>
- Peiretti-Uzal, D. A., Nazar-Lovera, M. C., Biasutti-Valenzano, C. A., & Giordal-Lerda, L. M. (2007). Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg en la población de maíz MPB-FCA 8561. *Agronomía Mesoamericana*, 171-176. <https://doi.org/10.15517/am.v18i2.5047>
- Pestka, J. J. (2010). Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Archives of Toxicology*, 84(9), 663–679. <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0579-8>
- Picot, A., Barreau, C., Pinson-Gadais, L., Caron, D., Lanou, C., & Richard Forget, F. (2010). Factors of the *Fusarium verticillioides*-maize environment modulating fumonisin production: Critical Reviews in Microbiology: Vol 36, No 3—Get Access. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10408411003720209>

- Placinta, C. M., D'Mello, J. P. F., & Macdonald, A. M. C. (1999). A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 78(1–2), 21–37. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00278-8](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00278-8)
- Ponte, E. M. D., Moreira, G. M., Ward, T. J., O'Donnell, K., Nicolli, C. P., Machado, F. J., Duffeck, M. R., Alves, K. S., Tessmann, D. J., Waalwijk, C., Lee, T. van der, Zhang, H., Chulze, S. N., Stenglein, S. A., Pan, D., Vero, S., Vaillancourt, L. J., Schmale, D. G., Esker, P. D., ... Lee, T. (2022). *Fusarium graminearum* Species Complex: A Bibliographic Analysis and Web-Accessible Database for Global Mapping of Species and Trichothecene Toxin Chemotypes. *Phytopathology*, 112(4), 741-751. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-21-0277-RVW>
- Proctor, R. H., Plattner, R. D., Desjardins, A. E., Busman, M., & Butchko, R. A. E. (2006). Fumonisin Production in the Maize Pathogen *Fusarium verticillioides*: Genetic Basis of Naturally Occurring Chemical Variation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2424-2430. <https://doi.org/10.1021/jf0527706>
- Qu, L., Wang, L., Ji, H., Fang, Y., Lei, P., Zhang, X., Jin, L., Sun, D., & Dong, H. (2022). Toxic Mechanism and Biological Detoxification of Fumonisin. *Toxins*, 14(3), 182. <https://doi.org/10.3390/toxins14030182>
- Rabie, C. J., Marasas, W. F., Thiel, P. G., Lübben, A., & Vleggaar, R. (1982). Moniliformin production and toxicity of different *Fusarium* species from Southern Africa. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(3), 517-521. <https://doi.org/10.1128/aem.43.3.517-521.1982>
- Rheeder, J. P., Marasas, W. F. O., & Vismer, H. F. (2002). Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5), 2101–2105. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2101-2105.2002>
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., & Kizek, R. (2010). Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology*, 3(3), 94–99. <https://doi.org/10.2478/v10102-010-0019-x>
- Sagaram, Butchko, R. A. E., & Shim, W. B. (2006). The putative monomeric G-protein GBP1 is negatively associated with fumonisin B1 production in *Fusarium verticillioides*. *Molecular Plant Pathology—Wiley Online Library*. <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1364-3703.2006.00347.x>
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Intención de Siembra y de Cosecha en México, Ciclo 2025. Disponible en línea: <https://nube.agricultura.gob.mx/agroprograma/> (consultado el 12 de septiembre de 2025).
- Secretaría de Salud. (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales. Diario Oficial de la Federación.

- Secretaría de Salud. (2008). Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Cereales y sus productos. Diario Oficial de la Federación.
- Secretaría de Salud. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Diario Oficial de la Federación.
- Seo, J. A., Proctor, R. H., & Plattner, R. D. (2001). Characterization of Four Clustered and Coregulated Genes Associated with Fumonisin Biosynthesis in *Fusarium verticillioides*—ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S108718450191299X?via%3Dihub>
- Shan, L. Y., Cui, W. Y., Zhang, D. D., Zhang, J., Ma, N. N., Bao, Y. M., Dai, X. F., & Guo, W. (2017). First Report of *Fusarium brachygibbosum* Causing Maize Stalk Rot in China. Plant Disease, 101(5), 837. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1465-PDN>
- Sheik Abdul, N., & Marnewick, J.L. (2020). Fumonisin B1-induced mitochondrial toxicity and hepatoprotective potential of rooibos: An update. Journal of Applied Toxicology, 40, 1602 - 1613.
- Silva, J. J., Viaro, 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* populations and occurrence of fumonisins in maize grown in Southern Brazil. Crop Protection, 99, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.05.020>
- Solórzano-Solórzano, J. A., Zambrano, S. M. V., Olmedo, J. B. V., Solórzano-Solórzano, J. A., Zambrano, S. M. V., & Olmedo, J. B. V. (2024). *Fusarium* spp. en el cultivo de maíz: Identificación, distribución geográfica, sintomatología, micotoxinas, ciclo de la enfermedad, control, y desafíos actuales y futuros. Scientia Agropecuaria, 15(4), 537-556. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2024.040>
- Stagnati, L., Rahjoo, V., Samayoa, L. F., Holland, J. B., Borrelli, V. M. G., Busconi, M., Lanubile, A., & Marocco, A. (2020). A Genome-Wide Association Study To Understand the Effect of *Fusarium verticillioides* Infection on Seedlings of a Maize Diversity Panel. G3 Genes | Genomes | Genetics, 10(5), 1685-1696. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400987>
- Stergiopoulos, I., Zwiers, L.-H., & De Waard, M. A. (2002). Secretion of Natural and Synthetic Toxic Compounds from Filamentous Fungi by Membrane Transporters of the ATP-binding Cassette and Major Facilitator Superfamily. European Journal of Plant Pathology, 108(7), 719-734. <https://doi.org/10.1023/A:1020604716500>
- Stewart, D. W., Reid, L. M., Nicol, R. W., & Schaafsma, A. W. (2002). A Mathematical Simulation of Growth of *Fusarium* in Maize Ears After Artificial Inoculation. Phytopathology®, 92(5), 534-541. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2002.92.5.534>

- Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: Current Status of the Genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57(Volume 57, 2019), 323-339. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>
- Sun, J., Zhou, Y., Lu, Z., & Lu, Y. (2023). Bacillomycin D with calcium propionate effectively inhibited microbial growth and reduced deoxynivalenol on maize kernels during storage. *Journal of Stored Products Research*, 101, 102070. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2022.102070>
- Tahat, M. M., Aldakil, H. A., Alananbeh, K. M., & Salem, N. M. (2023). First Report of *Fusarium verticillioides* Causing Fusarium Ear Rot of Corn in Jordan. *Plant Disease*, 107(5), 1632. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1807-PDN>
- Tapia, C., & Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. *Revista chilena de infectología*, 31(1), 85-86. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000100012>
- Torres-Cruz, T. J., Whitaker, B. K., Proctor, R. H., Broders, K., Laraba, I., Kim, H.-S., Brown, D. W., O'Donnell, K., Estrada-Rodríguez, T. L., Lee, Y.-H., Cheong, K., Wallace, E. C., McGee, C. T., Kang, S., & Geiser, D. M. (2022). FUSARIUM-ID v.3.0: An Updated, Downloadable Resource for *Fusarium* Species Identification. *Plant Disease*, 106(6), 1610-1616. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-2105-SR>
- Uhlig, S., Busman, M., Shane, D. S., Rønning, H., Rise, F., & Proctor, R. (2012). Identification of Early Fumonisin Biosynthetic Intermediates by Inactivation of the FUM6 Gene in *Fusarium verticillioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(41), 10293-10301. <https://doi.org/10.1021/jf302967b>
- Uribe-Cortés, T. B., Silva-Rojas, H. V., Mendoza-Onofre, L. E., Velázquez-Cruz, C., & Rebollar-Alviter, Á. (2020). Identificación de especies de *Fusarium* aisladas de semillas sintomáticas y asintomáticas de maíz con base en gen Tef-1α. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(1), 79-79. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.79>
- Varela, C. P., Casal, O. A., Padin, M. C., Martínez, V. F., Oses, M. J. S., Scauflaire, J., Munaut, F., Castro, M. J. B., & Vázquez, J. P. M. (2013). First Report of *Fusarium temperatum* Causing Seedling Blight and Stalk Rot on Maize in Spain. *Plant Disease*, 97(9), 1252-1252. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-13-0167-PDN>
- Vigier, B., Reid, L. M., Seifert, K. A., Stewart, D. W., & Hamilton, R. I. (1997). Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19(1), 60-65. <https://doi.org/10.1080/07060669709500574>
- Wang, J., Wang, X., Zhou, Y., Du, L., & Wang, Q. (2010). Fumonisin detection and analysis of potential fumonisin-producing *Fusarium* spp. In asparagus (*Asparagus officinalis* L.) in Zhejiang Province of China—Wang—2010—*Journal of the Science of Food and Agriculture—Wiley Online Library*. <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.3893>

- Wang, W., Wang, B., Sun, X., Qi, X., Zhao, C., Chang, X., Khaskheli, M. I., & Gong, G. (2021). Symptoms and pathogens diversity of Corn Fusarium sheath rot in Sichuan Province, China. *Scientific Reports*, 11(1), 2835. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82463-2>
- Ward, T. J., Bielawski, J. P., Kistler, H. C., Sullivan, E., & O'Donnell, K. (2002). Ancestral polymorphism and adaptive evolution in the trichothecene mycotoxin gene cluster of phytopathogenic *Fusarium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(14), 9278-9283. <https://doi.org/10.1073/pnas.142307199>
- Xia, J. W., Sandoval-Denis, M., Crous, P. W., Zhang, X. G., & Lombard, L. (2019). Numbers to names—Restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 43(1), 186-221. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.05>
- Xu, X., Bailey, J. A., & Cooke, B. M. (Eds.). (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. En *Epidemiology of Mycotoxin Producing Fungi: Under the aegis of COST Action 835 'Agriculturally Important Toxigenic Fungi 1998–2003'*, EU project (QLK 1-CT-1998–01380) (pp. 645-667). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-1452-5_1
- Yilmaz, N., Sandoval-Denis, M., Lombard, L., Visagie, C. M., Wingfield, B. D., & Crous, P. W. (2021). Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 46(1), 129-162. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2021.46.05>
- Zácamo-Velázquez, N. Y., Ireta-Moreno, J., Salinas-Moreno, Y., Gómez-Rodríguez, V. M., Ramírez-Vega, H., & Martínez-Loperena, R. (2022). Variabilidad morfológica/patogénica de *Fusarium verticillioides* en la Ciénega/Chapala, México y evaluación de técnicas de inoculación. *Agronomía Mesoamericana*. <https://doi.org/10.15517/am.v34i1.49679>
- Zainudin, N., HAMZAH, F., KUSAI, N., ZAMBRI, N., & SALLEH, S. (2017). Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides*, causal agents of Fusarium ear rot of corn. *Turkish Journal of Biology*, 41(1), 220-230. <https://doi.org/10.3906/biy-1606-25>
- Zhang, Y.-Z., Li, Z., Man, J., Xu, D., Wen, L., Yang, C., Xu, Q., Jiang, Q.-T., Chen, G.-Y., Deng, M., Peng, Y.-L., Zhong, K., Qi, P.-F., & Wei, Y.-M. (2023). Genetic diversity of field *Fusarium asiaticum* and *Fusarium graminearum* isolates increases the risk of fungicide resistance. *Phytopathology Research*, 5(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s42483-023-00206-9>
- Zhao, L., Feng, C., Wu, K., Chen, W., Chen, Y., Hao, X., & Wu, Y. (2017). Advances and prospects in biogenic substances against plant virus: A review. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 135, 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.07.003>

- Zhou, J., Zhao, L., Huang, S., Liu, Q., Ao, X., Lei, Y., Ji, C., & Ma, Q. (2022). Zearalenone toxicosis on reproduction as estrogen receptor selective modulator and alleviation of zearalenone biodegradative agent in pregnant sows. *Journal of animal science and biotechnology*, 13(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00686-3>
- Zinedine, A., Soriano, J. M., Moltó, J. C., & Mañes, J. (2007). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone. *Food and Chemical Toxicology*, 45(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.030>

CAPITULO III. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE *Fusarium* spp. QUE AFECTA LA PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN EL BAJIO MÉXICO

RESUMEN

La producción de maíz en el Bajío mexicano se ve afectada por pudriciones de mazorca, tallo, raíz y semilla causadas por especies del género *Fusarium*, un grupo taxonómicamente complejo que requiere una identificación precisa para un manejo eficaz de la enfermedad. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar morfológica y molecularmente las especies de *Fusarium* asociadas con sistemas de producción de maíz en el Bajío mexicano. Se recolectaron muestras de semilla, grano, tallo y suelo de 25 híbridos comerciales de maíz en 14 municipios de Guanajuato, Jalisco y Michoacán durante los ciclos 2023–2024. Se obtuvieron 90 aislamientos con morfología compatible con *Fusarium* y se analizaron 20 aislamientos representativos mediante caracterización morfológica en PDA, CLA, SNA y agar agua, e identificación molecular basada en la secuenciación de los genes TEF-1 α y RPB2. El análisis filogenético multilocus con secuencias concatenadas permitió resolver seis especies pertenecientes a los complejos *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC) y *Fusarium graminearum* species complex (FGSC). *Fusarium verticillioides* fue la especie predominante y mostró baja variabilidad genética intraespecífica en el análisis haplotípico del gen TEF-1 α . El enfoque combinado morfológico y multilocus permitió una identificación confiable de las especies, y proporciona una base sólida para estudios posteriores de epidemiología, patogenicidad, potencial toxigénico y manejo fitosanitario en la región.

Palabras clave: *Fusarium* spp., maíz, Bajío mexicano, caracterización morfológica, identificación molecular, TEF-1 α , RPB2, análisis filogenético, pudrición de mazorca.

Tesis de Maestría en Ciencias, Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Lucía Cortez Trejo
Director de Tesis: Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

CHAPTER III. MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Fusarium* spp. SPECIES AFFECTING MAIZE PRODUCTION IN THE BAJIO MEXICO

ABSTRAC

Maize production in the Mexican Bajío region is affected by ear, stalk, root, and seed rots caused by species of the genus *Fusarium*, a taxonomically complex group that requires precise identification for effective disease management. The objective of this study was to morphologically and molecularly characterize *Fusarium* species associated with maize production systems in the Mexican Bajío. Samples of seed, grain, stalk, and soil were collected from twenty-five commercial maize hybrids across fourteen municipalities in Guanajuato, Jalisco, and Michoacán during the 2023–2024 growing seasons. A total of 90 isolates with morphology consistent with *Fusarium* were obtained, and twenty representative isolates were selected for detailed analysis. Morphological characterization was performed on PDA, CLA, SNA, and water agar, while molecular identification was based on partial sequencing of the TEF-1 α and RPB2 genes. Multilocus phylogenetic analysis using concatenated sequences resolved six species belonging to the *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC) and the *Fusarium graminearum* species complex (FGSC). *Fusarium verticillioides* was the predominant species and exhibited low levels of intraspecific genetic variation based on haplotype analysis of the TEF-1 α gene. The combined morphological and multilocus approach enabled reliable species identification and provides a solid foundation for future studies on epidemiology, pathogenicity, toxigenic potential, and disease management in the region.

Key words: *Fusarium* spp., maize, Mexican Bajío, morphological characterization, molecular identification, TEF-1 α , RPB2, phylogenetic analysis, ear rot

Master's Thesis in Plant Protection Sciences, Department of Agricultural Parasitology,
Universidad
Autónoma Chapingo
Author: Lucía Cortez Trejo
Thesis Director: S. Gerardo Leyva Mir

3.1. Introducción

La identificación de especies de *Fusarium* es uno de los mayores retos en micología agrícola debido a la elevada variabilidad morfológica, fisiológica y cultural del género, así como a su capacidad para colonizar múltiples nichos y hospederos (Chandra *et al.*, 2011; Summerell, 2019). En el cultivo de maíz, diversas especies causan pudriciones de semilla, raíz, tallo y mazorca, afectando el establecimiento y rendimiento del cultivo (Briones-Reyes *et al.*, 2015; Ejaz *et al.*, 2023). A lo largo del tiempo, esta variabilidad ha generado una historia taxonómica compleja y dinámica, reflejada en la proliferación de nombres y en dificultades para establecer límites precisos entre especies (Leslie y Summerell, 2006; Nelson *et al.*, 1983; Torres-Cruz *et al.*, 2022).

Durante gran parte del siglo XX, la clasificación del género se basó en caracteres morfológicos observados en cultivo. Trabajos como los de Wollenweber y Reinking (1935), Gerlach y Nirenberg (1982) y Nelson *et al.* (1983) aportaron las primeras claves de identificación. Sin embargo, el uso exclusivo de morfología no resolvió adecuadamente la delimitación de especies debido al solapamiento de caracteres y a la alta plasticidad fenotípica del género (Leslie y Summerell, 2006). La incorporación de los conceptos de especie biológica y, más recientemente, de especie filogenética permitió refinar los límites taxonómicos e integrar criterios morfológicos, reproductivos y moleculares para definir especies (Leslie *et al.*, 2007; Torres-Cruz *et al.*, 2022).

Con el desarrollo de la biología molecular y el principio de “un hongo, un nombre”, se consolidaron los complejos de especies basados en filogenias multilocus. Entre estos, los de mayor relevancia agrícola son el complejo *Fusarium fujikuroi* (FFSC), *F. graminearum* (FGSC) y *F. oxysporum* (FOSC), además de los complejos FSSC, FTSC y FIESC (Aoki *et al.*, 2014; O'Donnell *et al.*, 2010, 2022). En el maíz del Bajío, especies como *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans* y *F. temperatum*, pertenecientes al FFSC, se han reportado de forma recurrente en granos, tallos y semillas (Gallardo-Reyes *et al.*, 2006; Leyva-Madrigal *et al.*, 2015; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

A pesar de los avances moleculares, la caracterización morfológica continúa siendo un pilar del diagnóstico inicial de *Fusarium*. En laboratorio, el medio PDA permite evaluar características culturales como color, pigmentación y velocidad de crecimiento (Nelson *et al.*, 1983; Tapia y Amaro, 2014). El medio CLA favorece la formación de macroconidios y microconidios, esenciales para evaluar fiálides, septos y morfología conidial (Castro López^{1*} *et al.*, 2018; Leslie y Summerell, 2006). El medio SNA promueve la observación de microconidios, cadenas y falsas cabezas, además de estructuras como mesoconidios y clamidosporas (Leslie y Summerell, 2006; Uribe-Cortés *et al.*, 2020; DGSV-CNRF, 2020).

Sin embargo, el solapamiento morfológico entre especies estrechamente relacionadas y la alta variabilidad intraespecífica limitan la resolución de la identificación basada únicamente en morfología (Aoki *et al.*, 2014). Por ello, la caracterización molecular se ha convertido en una herramienta esencial para confirmar identidades taxonómicas y resolver relaciones filogenéticas. Entre los marcadores más utilizados destacan TEF1 y RPB2, los cuales presentan alto poder discriminatorio y están ampliamente representados en bases de datos (Crous *et al.*, 2021; Fallahi, *et al.*, 2021; Shan *et al.*, 2017; Torres-Cruz *et al.*, 2022). TEF1 es especialmente útil en el complejo FFSC, mientras que RPB2 mejora la separación entre especies estrechamente relacionadas (Cao, *et al.*, 2021; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024). La identificación preliminar mediante BLAST debe interpretarse con cautela debido a secuencias mal anotadas, por lo que se recomienda el uso de bases de datos especializadas como FUSARIUM-ID v3.0 (Torres-Cruz *et al.*, 2022).

A nivel mundial, *Fusarium* está distribuido en regiones templadas y tropicales, afectando maíz en todas las etapas del cultivo (Backhouse y Burgues, 2002; Ejaz *et al.*, 2023). En México, diversas especies han sido documentadas en maíz, destacando *F. verticillioides* como una de las más frecuentes y ampliamente distribuidas, con capacidad para colonizar semillas, raíces, tallos y mazorcas, incluso de forma asintomática (Briones-Reyes *et al.*, 2015; Leyva-Madrigal *et al.*, 2015; Uribe-Cortés *et al.*, 2020; Zácamo-Velázquez *et al.*, 2022).

En este contexto, la integración de la caracterización morfológica mediante PDA, CLA y SNA, junto con la identificación molecular basada en TEF1 y RPB2, constituye el enfoque más robusto para determinar la identidad de *Fusarium* spp. asociados al maíz del Bajío.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Zona de estudio

El estudio se realizó en la región del Bajío mexicano, específicamente en 14 municipios, zonas productoras de maíz blanco subtropical. Se trabajó con 25 híbridos comerciales provenientes de diversas instituciones y casas semilleras, durante los ciclos agrícolas 2023–2024. La región fue agrupada de la siguiente forma:

- i. Guanajuato presenta un clima cálido a templado subhúmedo con lluvias en verano. De acuerdo con registros climatológicos recientes, la temperatura media anual se sitúa entre 18 y 20 °C, la precipitación media anual es de aproximadamente 600-700 mm y la humedad relativa media anual oscila entre 50 y 60 %, con valores que pueden superar el 70-80 % durante la temporada de lluvias (INEGI, 2022; CONAGUA, 2023) (Figura 13).
- ii. Jalisco presenta un clima templado a semicálido subhúmedo con lluvias en verano. En esta zona, la temperatura media anual se sitúa alrededor de 18-20 °C y la precipitación media anual varía aproximadamente entre 800 y 1000 mm, con máximos de lluvia durante los meses de julio y agosto. La humedad relativa media anual se mantiene entre 55 y 65 %, con incrementos que pueden superar 75-85 % durante la temporada de lluvias (INEGI, 2022; Gobierno de Jalisco, 2023) (Figura 14).
- iii. Michoacán, la región sur del Bajío presenta un clima templado a subtropical subhúmedo, con lluvias concentradas principalmente en verano. La temperatura media anual se sitúa entre 16 y 20 °C, y la

precipitación media anual varía aproximadamente entre 1000 y 1 250 mm, alcanzando sus máximos en los meses de julio y agosto. La humedad relativa media anual oscila entre 60 y 70 %, con incrementos que pueden superar 80-90 % durante la temporada de lluvias (INEGI, 2022; CONAGUA, 2023) (Figura 15).

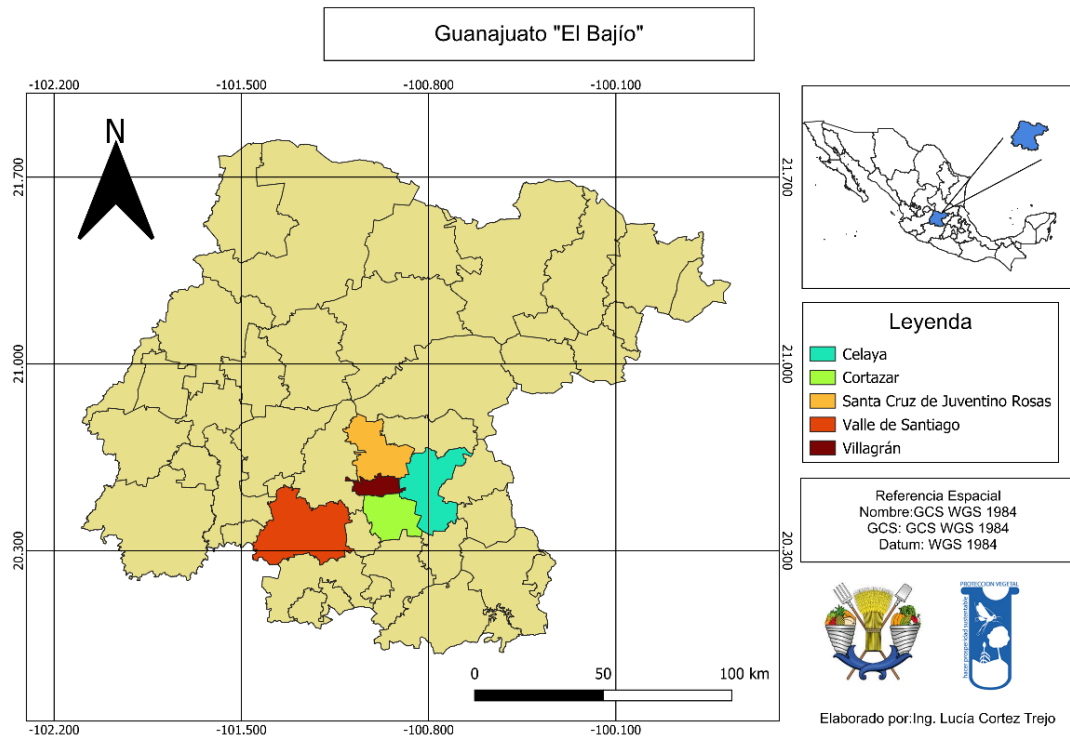


Figura 13. Localización de los municipios muestreados en el estado de Guanajuato.

Región de El Bajío. Se muestran las cinco localidades incluidas en el estudio (Celaya, Cortazar, Santa Cruz de Juventino Rosas, Valle de Santiago y Villagrán), así como su posición geográfica dentro del estado y del país.

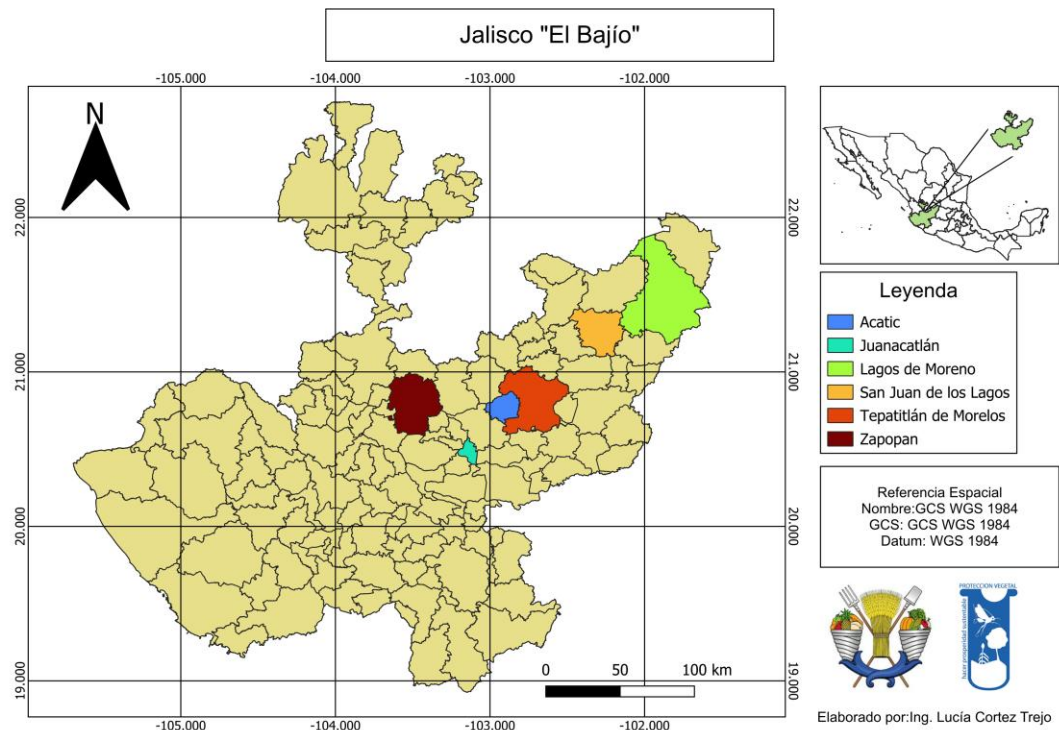


Figura 14. Localización de los municipios muestreados en el estado de Jalisco.

Región del Bajío. Se muestran las localidades incluidas en el estudio (Acatic, Juanacatlán, Lagos de Moreno, San Juan de los Lagos, Tepatitlán de Morelos y Zapopan), así como su posición geográfica dentro del estado y del territorio nacional.

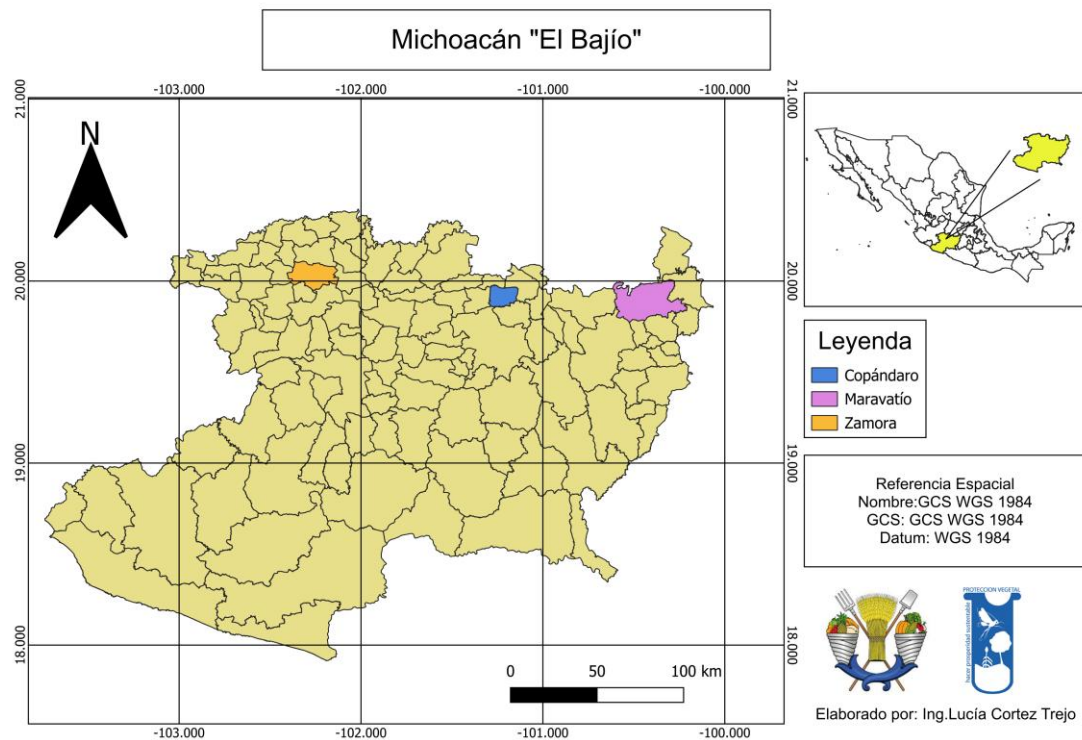


Figura 15. Localización de los municipios muestreados en el estado de Michoacán.

Región del Bajío. Se muestran las localidades incluidas en el estudio (Copándaro, Maravatío y Zamora), así como su posición geográfica dentro del estado y del territorio nacional.

La primera fase consistió en establecer los híbridos en campo, mientras que las semillas del mismo origen fueron trasladadas al laboratorio para realizar una identificación preliminar de los patógenos presentes. La segunda fase se desarrolló durante la cosecha y consistió en la colectaron granos, tallo y suelo de cada localidad.

3.2.2. Determinación del tamaño de muestra

El tamaño de muestra se definió aplicando la ecuación para poblaciones finitas con un nivel de confianza del 95 % ($Z=1.96$), una proporción esperada $p=0.5$ y un error máximo permisible del 13 %. Esta metodología permite estimar el número mínimo necesario de unidades experimentales para obtener resultados estadísticamente representativa (Sharma *et al.*, 2020).

$$n = \frac{NZ^2pq}{Ne^2 + Z^2pq}$$

donde N es el tamaño de la población, e el error de estimación, y Z el valor crítico de la distribución normal para el nivel de confianza seleccionado.

Con base en esta estimación, y para estandarizar el trabajo entre localidades, se fijó operativamente un tamaño de muestra de 48 unidades por matriz (semilla y grano), distribuidas en dos repeticiones de 24 unidades cada una.

Para tallos, el muestreo fue dirigido (purposive sampling), recorriendo los surcos e identificando plantas con signos y síntomas compatibles con *Fusarium*, tales como decoloración vascular, lesiones en nudos e internudos, acame, presencia de micelio blanquecino-rosado y necrosis cortical (Pérez-Vicente *et al.*, 2010). El tamaño de muestra se definió con base en la estimación de una proporción (incidencia de tallos sintomáticos), utilizando la expresión:

$$n_0 = \frac{Z^2p(1-p)}{E^2}$$

donde Z es el valor crítico de la distribución normal para el nivel de confianza seleccionado, p la proporción esperada y E el error máximo permitido. Se empleó un nivel de confianza del 95 % ($Z = 1.96$), una proporción esperada $p = 0.5$ y un error máximo $E = 0.20$. Bajo estos supuestos, el tamaño mínimo requerido fue de 24 tallos; por tanto, para estandarizar el trabajo entre híbridos y localidades, se decidió muestrear 25 tallos por híbrido.

Para las muestras de suelo, en cada sitio de siembra se colectó a 0-10 cm de profundidad una muestra compuesta de aproximadamente 2 kg, integrada por 25 submuestras tomadas en 5 puntos “cinco deoros”, con el fin de preservar la heterogeneidad microbiana (Silvestro *et al.*, 2013). Las muestras se almacenaron en bolsas Ziploc selladas y etiquetadas para su envío al CIMMYT en Texcoco, Estado de México, y posteriormente se secaron a temperatura ambiente. Los terrones se desintegraron con un martillo de goma y el material se tamizó a través de una malla de 0.2 cm². Finalmente, las muestras se conservaron a 4 °C para análisis posteriores.

3.2.3. Aislamiento y purificación

Para aislar y determinar la incidencia de *Fusarium* en semilla y grano se empleó una modificación del método de cámara húmeda y congelación descrito por Neergaard (1977) y estandarizado por el CIMMYT. Se evaluaron dos tratamientos con dos repeticiones cada uno, utilizando 48 semillas por tratamiento. En el primer tratamiento, las semillas no se desinfestaron y solo se hidrataron en agua destilada estéril durante 10 minutos. En el segundo tratamiento, las semillas se desinfestaron en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % y etanol al 10 % durante 10 minutos, con tres enjuagues posteriores en agua destilada estéril. Las semillas se colocaron en placas de 48 pozos o cámaras húmedas con papel filtro estéril humedecido con 1 mL de agua destilada y se mantuvieron a temperatura ambiente por 3 días. Posteriormente, se sometieron a congelación a -10 °C por 24 horas y fueron reincubadas a temperatura ambiente durante 15 días. Las colonias desarrolladas se examinaron microscópicamente y se seleccionaron aquellas con características compatibles con *Fusarium*.

Para el aislamiento a partir de tallos, se realizaron cortes longitudinales, extrayéndose pequeñas porciones de tejido dañado y se colocaron en placas con medio Papa Dextrosa Agar (PDA, 40 gL⁻¹), incubándolas a temperatura ambiente por 3 días. Las colonias con morfología compatible con *Fusarium* se seleccionaron y se transfirieron a nuevo medio de cultivo para su purificación.

En el caso de suelo, se tomó una submuestra de 10 g, la cual se mezcló con 50 mL de agua destilada estéril y se agitó durante 20 minutos. Del sobrenadante se inocularon tres placas de Petri con medio KERR (NaNO₃ 200 mg; KCl 0.5 g; FeSO₄ 0.01 g; extracto de levadura 0.5 g; KH₂PO₄ 1.0 g; MgSO₄·7H₂O 0.5 g; sacarosa 30.0 g; agar 15.0 g; agua 1000 ml; Rosa de Bengala 60 mg; quintozeno (PCNB) 100 mg; estreptomicina 50 mg), utilizando volúmenes de 100 µL, 300 µL y 500 µL. Las placas se incubaron a 28 °C ± 1, en oscuridad, durante 3 días; posteriormente se seleccionaron colonias individuales y se transfirieron a medio agar 5/2, incubándolas por 7 días a 28 °C ± 1 con un fotoperiodo de 12 horas luz.

Purificación mediante cultivos monospóricos

Las cepas preliminarmente seleccionadas se purificaron mediante la técnica de cultivos monospóricos. Para ello, se colocó micelio de cada aislamiento en tubos tipo Eppendorf de 2 mL, se añadió agua destilada estéril y se agitó con un Mini Vortex (VWR, EE. UU.). El contenido se distribuyó sobre placas con agua-agar (18 gL⁻¹), permitiendo su reposo durante 10 segundos antes de retirar el exceso. Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente (22-24 °C) durante 24 horas. Los conidios germinados individualmente se transfirieron a nuevas placas con PDA (40 gL⁻¹) y se incubaron durante 7 días bajo luz blanca constante, obteniéndose cultivos monospóricos puros.

3.2.4. Extracción de ácido nucleicos

Para la caracterización molecular se realizó la extracción de DNA utilizando el método CTAB al 2 % propuesto por Doyle y Doyle (1990). El procedimiento empleó nitrógeno líquido, amortiguador de extracción con CTAB, cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), isopropanol frío, ARNasa (10 mg·mL⁻¹), etanol al 70 % y solución TE (pH 8.0). El amortiguador de extracción se preparó adicionando 2-

mercaptoetanol hasta alcanzar una concentración final de 0.2 %. Se distribuyeron 600 µL del amortiguador en tubos de 1.5 mL y se incubaron a 65 °C. El micelio y los conidios de las cepas cultivadas en medio PDA durante 7 días (aproximadamente 10 g) se molieron en un mortero con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino, el cual se transfirió a los microtubos con amortiguador precalentado. La mezcla se incubó nuevamente a 65 °C durante 20 minutos y posteriormente se centrifugó a 21,000 × g durante 10 minutos. El sobrenadante se transfirió a un nuevo microtubo, se adicionaron 4 µL de ARNasa y se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente o a 37 °C. Luego se agregaron 600 µL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se agitó por 2 minutos y se centrifugó a 15,000 × g durante 5 minutos para separar la fase acuosa. Esta fase se transfirió a otro microtubo y se adicionaron 500–600 µL de isopropanol frío, mezclando por inversión para favorecer la precipitación del DNA, manteniéndose posteriormente a -20 °C durante 20-30 minutos. Después, se centrifugó a 15,000 × g por 5 minutos, se decantó el sobrenadante y la pastilla obtenida se escurrió sobre una toalla sanitaria. El pellet se secó en un termobloque a 40 °C durante aproximadamente 15 minutos y, finalmente, se resuspendió en 30–50 µL de solución TE, almacenándose a 4 °C hasta su uso.

La concentración de ADN se cuantificó mediante espectrofotometría usando un NanoDrop Lite UV-Vis (Thermo Scientific®, EUA), por otra lado, la calidad se comprobó al verificar que los valores de las relaciones 260/280 y 230/260 fueran cercanos a 2. El ADN genómico se almacenó a -20°C para su uso posterior.

3.2.5. Identificación molecular de los aislados

Para la identificación molecular, los iniciadores utilizados para la amplificación de la región ITS del ADN ribosómico fueron: ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS-5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (White *et al.*, 1990). Para la amplificación del gen del factor de elongación 1- α (EF-1 α) fueron: TEF EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') y TEF 986R (5'-TACTTGAAGGAACCCTTACC3') (Carbone y Kohn, 1999). Asimismo, para la amplificación del gen que codifica la subunidad mayor de la ARN polimerasa II

(RBP2a) se utilizaron los iniciadores RPB2 5f2 (5'-GGGGWGAYCAGAAGAAGGC-3') y RPB2 7cr (5'-CCCATRGCTTGYTTRCCCAT-3') (Liu *et al.*, 1999).

La mezcla de reacción para PCR se preparó de acuerdo con las recomendaciones del manual de la enzima Platinum® Taq polimerasa en un volumen final de 25 µl conteniendo, 17.65 µl de agua, 0.75 µL de Cloruro de magnesio (0,2 mM), 2.5 µl de buffer, 0.5 µl de DNTPs, 0.5 µl de cada iniciador (20 pmol), 2.5 µl de DNA y 0.1 µL de la enzima Taq (1 x) DNA polimerasa.

Las amplificaciones con los iniciadores ITS-4 e ITS-5 se realizaron bajo un ciclo inicial de desnaturalización a 95°C por 5 min, seguido de 29 ciclos de desnaturalización a 95°C por 1 min, alineamiento a 55°C por 1 min y extensión final a 72°C por 1 min, con una extensión final a 72°C por 12 min. Para los indicadores TEF EF1-728F y TEF 986R las condiciones incluyeron una desnaturalización a 95°C por 3 min, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 s, alineamiento a 54°C por 30 s y extensión a 72°C por 1 min, con una extensión final a 72°C por 10 min. En el caso de los iniciadores RPB2 5f2 y RPB2 7cr se empleó una desnaturalización a 95°C por 3 min, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 s, alineamiento a 57°C por 30 s y extensión final a 72°C por 1 min, con una extensión final a 72°C por 10 min.

Todas las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador QIAamplifier 96 (QUIAGEN). La amplificación de los fragmentos se verificó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1.8% preparado con búfer 1x TAE (Tris Acetate-EDTA) y corrido a 87 V durante 1 h, utilizando un marcador de peso molecular de 1Kb (Thermo Scientific®). Se confirmó la amplificación de fragmentos de ≈ 600 pb para el caso de ITS; ≈ 300-360 pb para EF1-α y de ≈ 800 pb para RBP2. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio (3 mg L⁻¹), y se visualizaron bajo luz ultravioleta en un transiluminador M-26X mediante un sistema de documentación GelDoc-It™ 300 (UVP, EE. UU.). Posteriormente, los productos amplificados fueron purificados al vacío con placas de filtración MultiScreen-PCR₉₆ (Millipore).

Los productos de la PCR purificados se enviaron a MacroGen Inc. (Corea) para su secuenciación mediante el método Sanger, en ambas direcciones. Las secuencias de nucleótidos obtenidas se ensamblaron y editaron utilizando el programa BioEdit versión 7.0.5, con el fin de generar las secuencias consenso. Dichas secuencias fueron comparadas con aquellas depositadas en las bases de datos especializadas *Fusarium* MLTS (O'Donnell et al 2010) y *Fusarium* ID v.3.0 (Torres-Cruz et al., 2022), desarrolladas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y la Universidad de Pensilvania, respectivamente. Finalmente, las secuencias consenso generadas en este estudio se depositaron en la base de datos GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y los números de acceso correspondientes se indican en los resultados.

3.2.6. Análisis filogenético y diversidad haplotípica

Para analizar la diversidad filogenética de las especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca, se secuenciaron las regiones correspondientes al factor de elongación 1-alfa (TEF-1 α) y a la segunda subunidad mayor de la ARN polimerasa II (RPB2), las cuales han demostrado un alto poder discriminatorio a nivel intra e interespecífico dentro del género *Fusarium* (O'Donnell et al., 2013).

Las secuencias obtenidas fueron editadas manualmente en el programa BioEdit, donde se realizó el recorte de las regiones terminales de baja calidad, con el fin de eliminar posiciones ambiguas y mejorar la confiabilidad del alineamiento. Posteriormente, las secuencias depuradas de cada marcador fueron alineadas de manera independiente utilizando el algoritmo MUSCLE, implementado en el programa MEGA (Edgar, 2004; Kumar et al., 2018).

Una vez verificada la congruencia entre los alineamientos individuales, las secuencias de TEF-1 α y RPB2 fueron concatenadas para el análisis filogenético conjunto, conservando la estructura codificante y los huecos (gaps) generados por inserciones y deleciones, los cuales fueron tratados como datos faltantes.

Las relaciones filogenéticas fueron inferidas mediante el método de máxima verosimilitud (ML) utilizando el programa PhyML, implementado en la plataforma NGPhylogeny.fr (Guindon et al., 2010; Lemoine et al., 2019). Se empleó el

modelo general de tiempo reversible (GTR) para la sustitución de nucleótidos, incorporando la heterogeneidad de tasas entre sitios mediante una distribución gamma discreta con cuatro categorías, cuyos parámetros fueron estimados a partir de los datos. La búsqueda de la topología del árbol se realizó mediante el algoritmo de poda y regrafía de subárboles (SPR), optimizando simultáneamente la topología del árbol, las longitudes de rama y los parámetros del modelo. El soporte estadístico de los nodos fue estimado mediante el método bayesiano aproximado (aBayes), el cual ha sido propuesto como una alternativa eficiente y confiable para la evaluación del soporte nodal en análisis filogenéticos de gran tamaño (Lemoine *et al.*, 2018).

Con el fin de evaluar la diversidad genética intraespecífica de *Fusarium verticillioides*, se realizó un análisis de haplotipos utilizando el programa PopART (Population Analysis with Reticulate Trees) (Leigh y Bryant, 2015). Para este análisis se empleó el alineamiento del marcador TEF-1 α , correspondiente únicamente a los aislados identificados con *F. verticillioides*. La red haplotípica fue construida mediante el algoritmo de median-joining, el cual es ampliamente utilizado para inferir relaciones genealógicas entre haplotipos en estudios de diversidad genética poblacional (Bandelt *et al.*, 1999). Este enfoque permite identificar haplotipos compartidos y haplotipos únicos, así como visualizar las relaciones mutacionales entre ellos. El tamaño de los nodos en la red fue proporcional al número de aislados por haplotipo, y las conexiones entre nodos representaron pasos mutacionales.

3.2.7. Caracterización morfológica y cultural

Para la caracterización morfológica y cultural, se utilizaron como referencias principales el Manual de Leslie y Summerell (2006) y el Manual de Laboratorio de Ensayos para Semillas de Maíz y Trigo del CIMMYT.

Los cultivos puros de *Fusarium* se inocularon en medio PDA artesanal preparado con 250 g de papa, 20 g de dextrosa y 20 g de agar por litro, incubándolos a 20 °C bajo luz blanca continua durante 10 días para evaluar posteriormente el color del micelio en ambas caras. Para la obtención de macro y microconidios, cada

aislamiento se cultivó en medio CLA (agar con hoja de clavel), elaborado con 18 g de agar por litro e incorporando diez fragmentos de hoja antes de la solidificación; las placas se mantuvieron a 22-24 °C bajo luz blanca durante 25 días y posteriormente se realizaron montajes permanentes. Para favorecer la formación de microconidios en cadenas, los aislados se cultivaron en medio SNA, preparado con KH_2PO_4 (1 g), KNO_3 (1 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5 g), KCl (0.5 g), glucosa (0.2 g), sacarosa (0.2 g), agar (20 g) y agua destilada (1000 mL); sobre el agar solidificado se colocaron uno o dos fragmentos estériles de papel filtro de aproximadamente 1 cm², manteniéndose las placas selladas a 22-24 °C bajo luz negra durante 10 días para posteriormente examinar microscópicamente el micelio aéreo y las estructuras diagnósticas. Finalmente, para promover la formación de clamidosporas, cada aislamiento se inoculó en medio Agua-Agar (18 gL⁻¹) y se incubó a 22-24 °C con luz blanca por 14 días, tras lo cual se realizaron montajes permanentes y se registraron imágenes digitales mediante el sistema Motic Image Plus 3.0.

3.2.8. Pruebas de patogenicidad

Para corroborar la patogenicidad de los aislados del complejo de especies de *Fusarium* asociados a la pudrición de mazorca en El Bajío mexicano, se realizaron inoculaciones en campo siguiendo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones y un tamaño de muestra de 10 plantas por aislamiento, de acuerdo con metodologías ampliamente utilizadas en la evaluación de la pudrición de mazorca en maíz (Reid *et al.*, 1996; Munkvold y Desjardins, 1997). Estudios recientes continúan empleando diseños similares para validar la agresividad de *Fusarium* en mazorcas bajo condiciones de campo (Zácamo-Velázquez *et al.*, 2023; Singh y Kaur, 2025). Las suspensiones de conidios se obtuvieron a partir de cultivos monospóricos incubados en PDA durante 7 días y se ajustaron a una concentración final de 5×10^5 esporas mL⁻¹, similar a lo recomendado para pruebas de patogenicidad en *Fusarium* spp. (Afolabi *et al.*, 2007; Sampietro *et al.*, 2010) y acorde con protocolos recientes de inoculación controlada (Araújo *et al.*, 2022).

Las inoculaciones se realizaron siete días después de la floración (R1), etapa crítica para la infección natural y artificial del patógeno (Munkvold, 2003; Abbas *et al.*, 2006). Investigaciones recientes confirman que la etapa R1 es el periodo más susceptible para la infección experimental por *Fusarium* en maíz (Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024; Singh y Kaur, 2025). Se inyectaron 5 µL de la suspensión de esporas en el centro de la mazorca mediante el método de inyección modificada descrito para la evaluación de resistencia a pudrición (Reid *et al.*, 1996), técnica que continúa siendo ampliamente utilizada en estudios contemporáneos por su efectividad en producir infecciones reproducibles (Araújo *et al.*, 2022; Zácamo-Velázquez *et al.*, 2023). Tras la inoculación, las mazorcas se cubrieron con bolsas de papel para mantener humedad y favorecer el establecimiento de la infección, práctica documentada como necesaria para incrementar la incidencia bajo condiciones de campo (Afolabi *et al.*, 2007; Mesterházy *et al.*, 2012; Singh & Kaur, 2025).

Las evaluaciones se realizaron periódicamente durante las siguientes tres semanas, registrando síntomas típicos de infección por *Fusarium*, como decoloración de granos, micelio blanquecino-rosado, pudrición interna y reducción del llenado (Sampietro *et al.*, 2010; Bacon & Hinton, 1996). Investigaciones modernas destacan estos mismos signos como indicadores diagnósticos de las pudriciones de mazorca asociadas al complejo *Fusarium* spp. (Wang *et al.*, 2021; Zácamo-Velázquez *et al.*, 2023; Solórzano-Solórzano *et al.*, 2024).

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Identificación molecular

Se obtuvieron 90 aislados con morfología compatible con *Fusarium*, provenientes de semilla (33%), suelo (28%), grano (22%) y tallo (17%), a partir de las muestra colectadas en 16 localidades durante los ciclos de cultivo 2023 y 2024 en los tres estados que conforman El Bajío mexicano. Con base en su representatividad por tipo de crecimiento colonial y localidad de origen, 21 aislados fueron seleccionados para los análisis moleculares (Figura 16).

Mediante la amplificación parcial y el análisis de secuencias de los genes factor de elongación 1-alfa (*TEF-1 α*) y segunda subunidad mayor de la ARN polimerasa II (RPB2), y considerando los valores más altos de identidad y cobertura obtenidos de las bases de datos *Fusarium* MLTS (O'Donnell et al 2010) y *Fusarium* ID v.3.0 (Torres-Cruz et al., 2022), fue posible identificar los 20 aislados a nivel de especie.

De los 21 aislados analizados, 20 presentaron valores de cobertura iguales o superiores al $\geq 99\%$ e identidades $\geq 98\%$, lo que permitió su identificación confiable a nivel de especie (Tabla 4). En contraste, el aislado 20, proveniente de grano, mostro una cobertura considerablemente baja (39%) y una identidad de 86.94% por lo que no cumplió con los criterios establecidos para los análisis posteriores. La concordancia entre ambos marcadores permitió identificar con certeza los 20 aislados finales incluidos en este estudio. Las secuencias consenso correspondientes a los genes *TEF-1 α* y *RPB2* fueron depositadas en la base de datos GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), y los números de acceso se presentan en la tabla 5.

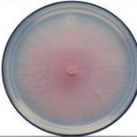
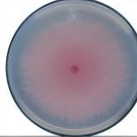
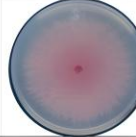
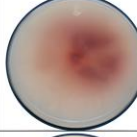
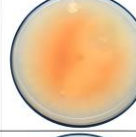
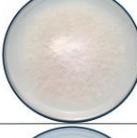
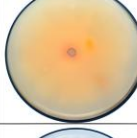
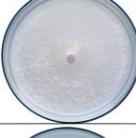
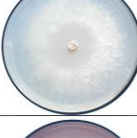
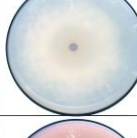
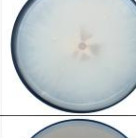
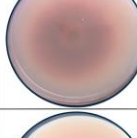
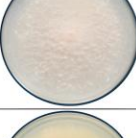
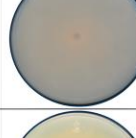
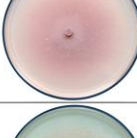
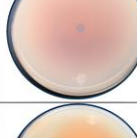
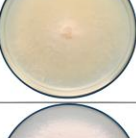
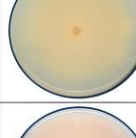
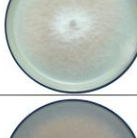
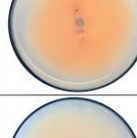
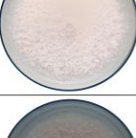
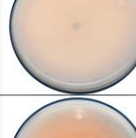
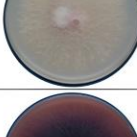
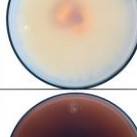
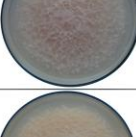
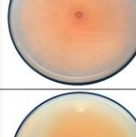
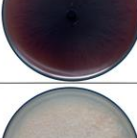
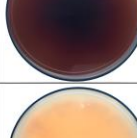
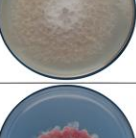
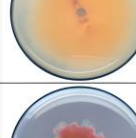
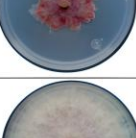
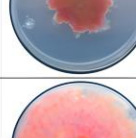
Aislamiento	Anverso	Reverso	Matriz de origen	Aislamiento	Anverso	Reverso	Matriz de origen
1			Semilla	11			Suelo
2			Semilla	12			Suelo
3			Semilla	13			Suelo
4			Semilla	14			Grano
5			Semilla	15			Tallo
6			Tallo	16			Tallo
7			Tallo	17			Grano
8			Grano	18			Grano
9			Grano	19			Suelo
10			Suelo	20			Grano
				21			Grano

Figura 16. Aspecto macroscópico (anverso y reverso) de los 21 aislamientos seleccionados de *Fusarium*.

Obtenidos a partir de diferentes matrices de origen y asociados a la pudrición de mazorca de maíz en la región del Bajío mexicano.

Tabla 4. Identificación molecular de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca en maíz en El Bajío mexicano mediante análisis BLAST de secuencias, según la matriz de origen del aislamiento.

ID interno	ID	Matriz de Origen	Cobertura (%)	Error	Identidad (%)
15	<i>Fusarium andiyazi</i>	Tallo	99	3.00E-126	100
21	<i>Fusarium boothii</i>	Grano	100	1.00E-144	100
20	<i>Fusarium boothii</i>	Grano	39	2.00E-81	86.94
16	<i>Fusarium boothii</i>	Tallo	100	9.00E-139	100
13	<i>Fusarium sudanense</i>	Suelo	100	2.00E-140	100
14	<i>Fusarium subglutinans</i>	Grano	100	3E-1266	100
2	<i>Fusarium subglutinans</i>	Semilla	100	7.00E-127	100
6	<i>Fusarium subglutinans</i>	Tallo	100	3.00E-139	100
7	<i>Fusarium subglutinans</i>	Tallo	100	2.00E-133	100
9	<i>Fusarium temperatum</i>	Grano	100	7.00E-134	100
4	<i>Fusarium temperatum</i>	Semilla	100	1.00E-124	98.14
8	<i>Fusarium verticillioides</i>	Grano	100	3.00E-138	99.65
17	<i>Fusarium verticillioides</i>	Grano	100	2.00E-134	100
18	<i>Fusarium verticillioides</i>	Grano	100	6.00E-128	100
1	<i>Fusarium verticillioides</i>	Semilla	100	7.00E-134	100
3	<i>Fusarium verticillioides</i>	Semilla	100	2.00E-134	100
5	<i>Fusarium verticillioides</i>	Semilla	100	2.00E-134	100
10	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	100	6.00E-141	100
11	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	100	2.00E-141	100
12	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	100	8.00E-133	99.63
19	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	100	6.00E-135	100

Nota: La identificación molecular se realizó mediante análisis BLAST de secuencias nucleotídicas, comparadas con registros de referencia en bases de datos públicas. Se muestra el ID interno del aislamiento, la especie asignada, la matriz de origen del aislamiento, el porcentaje de cobertura de la alineación, el valor de significancia estadística (E-value) y el porcentaje de identidad. Las asignaciones taxonómicas se consideraron confiables cuando la cobertura fue $\geq 99\%$ y la identidad $\geq 98\%$.

La exclusión del aislado 20 se justifica en la literatura como una práctica necesaria para evitar asignaciones taxonómicas erróneas, particularmente en el género *Fusarium*, donde especies filogenéticamente cercanas pueden mostrar similitudes parciales cuando las secuencias presentan baja cobertura o fragmentación. En este sentido, valores de cobertura inferiores al 90% y de identidad menores al 97% se consideran insuficientes para una identificación robusta a nivel de especie, aun cuando los valores de significancia estadística (E-value) sean bajos. Por ello, la eliminación de este aislado fortalece la

confiabilidad del análisis molecular y de las inferencias derivadas de los resultados filogenéticos (O'Donnell *et al.*, 2015; Torres-Cruz *et al.*, 2022).

Tabla 5. Números de acceso GenBank de las secuencias consenso de los genes TEF-1 α y RPB2 de aislados de *Fusarium* obtenidos en el Bajío mexicano.

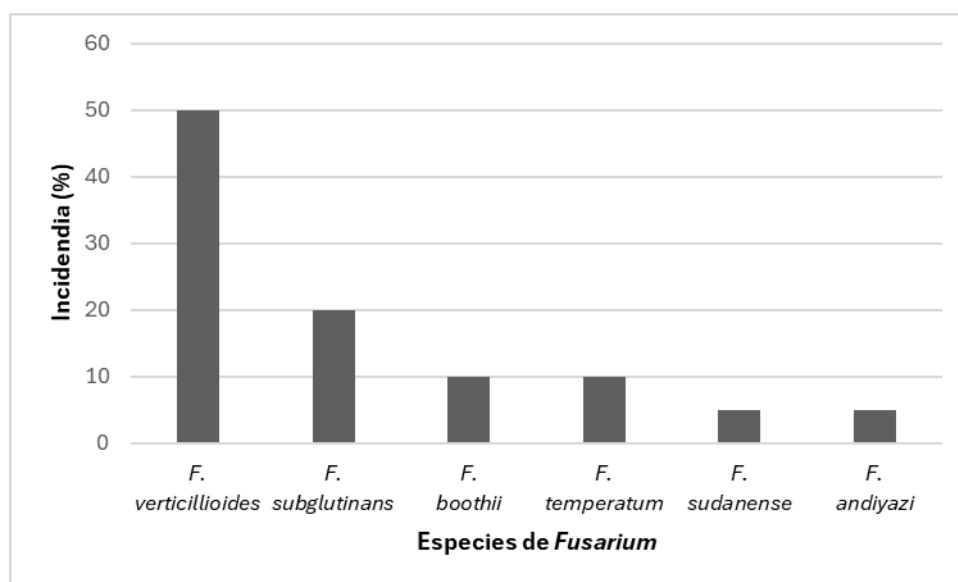
ID interno	Especie	Matriz de Origen	Número de acceso GenBank	
			TEF-1 α	RPB2
15	<i>Fusarium andiyazi</i>	Tallo	PX894862	PX894882
21	<i>Fusarium boothii</i>	Grano	PX894867	PX894887
16	<i>Fusarium boothii</i>	Tallo	PX894863	PX894883
13	<i>Fusarium sudanense</i>	Suelo	PX894860	PX894880
14	<i>Fusarium subglutinans</i>	Grano	PX894861	PX894881
2	<i>Fusarium subglutinans</i>	Semilla	PX894849	PX894869
6	<i>Fusarium subglutinans</i>	Tallo	PX894853	PX894873
7	<i>Fusarium subglutinans</i>	Tallo	PX894854	PX894874
9	<i>Fusarium temperatum</i>	Grano	PX894856	PX894876
4	<i>Fusarium temperatum</i>	Semilla	PX894851	PX894871
8	<i>Fusarium verticillioides</i>	Grano	PX894855	PX894875
17	<i>Fusarium verticillioides</i>	Grano	PX894864	PX894884
18	<i>Fusarium verticillioides</i>	Grano	PX894865	PX894885
1	<i>Fusarium verticillioides</i>	Semilla	PX894848	PX894868
3	<i>Fusarium verticillioides</i>	Semilla	PX894850	PX894870
5	<i>Fusarium verticillioides</i>	Semilla	PX894852	PX894872
10	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	PX894857	PX894877
11	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	PX894858	PX894878
12	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	PX894859	PX894879
19	<i>Fusarium verticillioides</i>	Suelo	PX894866	PX894886

Nota: Números de acceso en GenBank de las secuencias obtenidas para los genes **TEF-1 α** (factor de elongación 1-alfa) y **RPB2** (subunidad II de la ARN polimerasa), correspondientes a los aislamientos de *Fusarium* identificados en este estudio. Se indica el ID interno del aislamiento, la especie asignada y la matriz de origen. Las secuencias fueron utilizadas para la confirmación taxonómica y los análisis filogenéticos.

A nivel de la región de El Bajío mexicano se detectó la presencia de seis especies de *Fusarium*, las cuales se agruparon en dos complejos taxonómicos. El complejo *Fusarium fujikuroi* (FFSC) estuvo representado por *F. andiyazi* (n=5%), *F. sudanense* (n=5%), *F. subglutinans* (n=20%), *F. temperatum* (n=10%), y *F. verticillioides* (n=50%). Por su parte, el complejo *Fusarium graminearum* (FGSC) incluyó a *F. boothii* (n=10%). La distribución de los aislados dentro de estos complejos y especies de muestra en la figura 17 (Leslie y Summerell, 2006; O'Donnell *et al.*, 2010).

Si bien inicialmente se obtuvieron 90 aislados con morfología compatible con *Fusarium* y con trazabilidad completa de su origen y matriz, únicamente 20 aislados fueron seleccionados para su caracterización, con base en criterios de representatividad por matriz y localidad. Esta selección respondió principalmente a limitaciones de recursos para la secuenciación de la totalidad de los aislados, lo que impidió realizar un análisis molecular exhaustivo de la distribución de especies a nivel estatal y regional para la totalidad de las cepas recuperadas (O'Donnell *et al.*, 2022).

Figura 17. Distribución de frecuencias de las especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca en el Bajío mexicano.



La incidencia relativa de las especies identificadas mostró un claro predominio de *Fusarium verticillioides*, que representó aproximadamente el 50 % del total de los aislados. Este patrón concuerda con estudios realizados en el Bajío mexicano, particularmente en el estado de Guanajuato, donde *F. verticillioides* ha sido reportado de manera consistente como la especie dominante asociada a grano, tallo y pudrición de mazorca de maíz bajo condiciones de campo, formando parte central del complejo *Fusarium fujikuroi* (Gallardo-Reyes *et al.*, 2010). De manera complementaria, investigaciones más recientes en el centro-occidente de México, incluyendo Jalisco, continúan documentando a *F. verticillioides* como una de las especies más frecuentes en maíz, tanto en sistemas de producción

comercial como en muestras de grano, lo que confirma su amplia adaptación y persistencia en los agroecosistemas maiceros de la región (Zácamo-Velázquez et al., 2022).

La distribución de especies observada en este estudio concuerda con registros previos de *Fusarium* asociados al cultivo de maíz en México. Diversos trabajos han documentado la dominancia de *Fusarium verticillioides* como la especie más frecuente en grano, mazorca y tallo, tanto en regiones del centro y occidente del país como en El Bajío mexicano, donde se le reconoce como uno de los principales patógenos asociados a la pudrición de mazorca y grano (Munkvold y Desjardins, 1997; Desjardins et al., 2000; Gallardo-Reyes et al., 2006). De manera similar *F. subglutinans* y *F. temperatum*, ambas pertenecientes al complejo FFSC; han sido reportadas afectando maíz en el país con frecuencias variables, generalmente inferiores a las de *F. verticillioides*, pero con una distribución consistente en ambientes templados y subtropicales (Leslie y Summerell, 2006; Torres-Cruz et al., 2022). La detección de *F. boothii*, perteneciente al complejo FGSC, coincide con reportes que señalan su presencia en zonas productoras de maíz del centro y occidente de México, donde se ha asociado principalmente a pudrición de mazorca y a la producción de tricotecenos (O'Donnell et al., 2010; Zhang et al., 2016).

La detección de *Fusarium sudanense* en este estudio merece una consideración particular. El primer reporte formal de esta especie fue realizado por Larran, et al. (2018), quienes la describieron como saprófita asociada a la testa de las semillas del cultivo de trigo. En contraste, en el presente trabajo *F. sudanense* fue aislado a partir de muestras de suelo, lo que sugiere que esta especie puede formar parte de la micobiota edáfica del agroecosistema sin que necesariamente actúe como patógeno bajo todas las condiciones. Estudios previos han señalado que especies del género *Fusarium* pueden comportarse como organismos saprófitos, endófitos o patógenos facultativos, dependiendo de factores ambientales, del hospedero y del estado nutricional del sistema agrícola (Leslie y Summerell, 2006; Summerell y Leslie, 2011).

En este contexto, la presencia de *F. sudanense* en suelo podría estar relacionada con condiciones ambientales específicas prevalentes durante el ciclo de cultivo, así como la disponibilidad de nutrimentos y el manejo agronómico, más que con un proceso activo de infección. Adicionalmente, el calentamiento global ha sido reconocido como un factor clave que influye en la distribución, abundancia y el comportamiento de especies del género *Fusarium*, al modificar las variables como la temperatura, humedad y el nivel de estrés del hospedero. Estos cambios ambientales favorecen la persistencia y el establecimiento de especies previamente consideradas poco frecuentes o restringidas a ciertos hospederos, ampliando su rango ecológico y su presencia en nuevos nichos (Paterson y Lima, 2010; Medina *et al.*, 2017).

La distribución de especies de *Fusarium* según la matriz de origen de los aislamientos mostró que en semilla se identificaron *F. subglutinans*, *F. temperatum*, y *F. verticillioides*; en tallo se aislaron *F. andiyazi*, *F. boothii*, y *F. subglutinans*; en grano se detectaron *F. boothii*, *F. subglutinans*, *F. temperatum* y *F. verticillioides*; mientras que en suelo se identificaron *F. sudanense* y *F. verticillioides* (Figura 18).

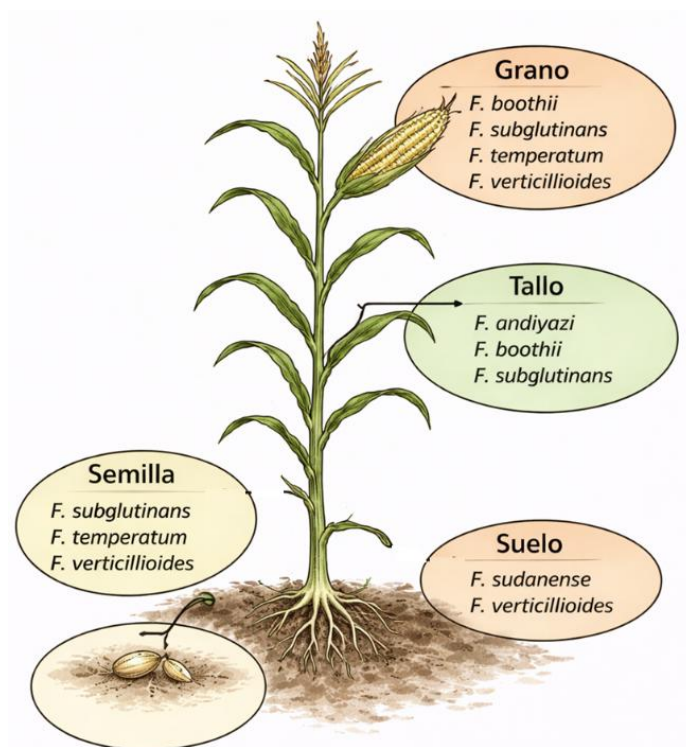


Figura 18. Esquema conceptual de la distribución de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca de maíz.

A partir de los aislados obtenidos en el Bajío mexicano. *Esquema elaborado mediante inteligencia artificial con fines ilustrativos

La distribución de especies de *Fusarium* varió según la matriz de origen (Tabla 6). En semilla, *F. verticillioides* fue predominante, con una incidencia del 60%, mientras que *F. subglutinans* y *F. temperatum* se detectaron en menor proporción, 20% cada una. En tallo, *F. subglutinans* presentó la mayor incidencia (50%), seguida de *F. andiyazi* y *F. boothii*, ambas con 25%. En grano, *F. verticillioides* fue nuevamente la especie más frecuente (50%), mientras que *F. boothii*, *F. temperatum* y *F. subglutinans* mostraron incidencias iguales (16.7%). En suelo, se observó un claro predominio de *F. verticillioides* (80%), con presencia limitada de *F. sudanense* (20%).

Tabla 6. Incidencia de *Fusarium* spp. según la matriz de origen.

Matriz de origen	Especie	Frecuencia (n)	Incidencia en de la matriz de origen (%)
Semilla	<i>F. verticillioides</i>	3	60
	<i>F. subglutinans</i>	1	20
	<i>F. temperatum</i>	1	20
	Total	5	100
Tallo	<i>F. subglutinans</i>	2	50
	<i>F. andiyazi</i>	1	25
	<i>F. boothii</i>	1	25
	Total	4	100
Grano	<i>F. verticillioides</i>	3	50
	<i>F. boothii</i>	1	16.7
	<i>F. temperatum</i>	1	16.7
	<i>F. subglutinans</i>	1	16.7
Suelo	Total	6	100
	<i>F. verticillioides</i>	4	80
	<i>F. sudanense</i>	1	20
	Total	5	100

Nota: Frecuencia absoluta (n) e incidencia relativa (%) de especies de *Fusarium* identificadas en diferentes matrices de origen (semilla, tallo, grano y suelo). La incidencia se calculó como el porcentaje de aislamientos de cada especie respecto al total de aislamientos recuperados por matriz, de modo que la suma de incidencias por matriz corresponde al 100 %.

Esta distribución evidencia la capacidad del género para colonizar distintos comportamientos del sistema maíz-suelo, lo que refleja su versatilidad ecológica y su capacidad de adaptación a diferentes nichos dentro del agroecosistema. La presencia de especies comunes entre semilla, grano y tallo sugiere posibles rutas de dispersión y persistencia a los largo del ciclo del cultivo, mientras su detección en suelo resalta el papel de este reservorio como fuente potencial del inoculo. Este patrón, de distribución constituye un elemento clave para comprender la dinámica epidemiológica de *Fusarium* en El Bajío mexicano y proporciona el marco necesario para analizar, en los apartados siguientes, el potencial patogénico y la capacidad del producción de micotoxinas de las especies identificadas.

A pesar de la existencia de registros previos de *Fusarium* en México, la mayoría de los estudios se han basado predominantemente en la identificación

morfológica o en el uso de un solo marcador molecular, lo que puede limitar la resolución taxonómica dentro de complejos de especies filogenéticamente cercanas. En este contexto, los resultados obtenidos en el presente estudio, sustentados en el uso combinado de los marcadores TEF-1 α y RPB2, aportan evidencia robusta y confiable sobre la composición específica de *Fusarium* asociada al maíz en El Bajío mexicano, fortaleciendo el conocimiento regional y proporcionando una base sólida para la interpretación posterior de los análisis filogenéticos y de perfiles de micotoxinas asociadas a esta especie (O'Donnell *et al.*, 2010; Torres-Cruz *et al.*, 2022).

Esta composición específica constituyó la base para el análisis filogenético y la interpretación posterior de variación intraespecífica.

3.3.2. Análisis filogenético y diversidad haplotípica

3.3.2.1. Filogenia

El análisis filogenético inferido mediante la máxima verosimilitud (ML) a partir de secuencias concatenadas de los genes TEF-1 α y RPB2 permitió resolver las relaciones evolutivas entre los aislados de *Fusarium* asociados a la pudrición de mazorca y las secuencias de referencias incluidas en el análisis (Figura 19). El árbol fue enraizado utilizando las secuencias del género *Ilyonectria* como un grupo externo (Outgroup), lo que permitió una correcta polarización de los clados. Asimismo, se incorporaron secuencias de referencia de *Fusarium graminearum* como taxa comparativos dentro del complejo *Fusarium graminearum* (FGSC), junto con secuencias de referencia de *Fusarium boothii*.

La topología obtenida mostró una clara separación entre los complejos y especies de *Fusarium*, agrupando los aislados de El Bajío mexicano de manera congruente con su identificación molecular. Dentro del complejo de especies relacionadas con *Fusarium graminearum* (FGSC), tal como ha sido documentado para otros taxones cercanamente relacionados (Aoki *et al.*, 2014; O'Donnell *et al.*, 2023). Se identificó el clado 1, integrado por aislados agrupados con secuencias de referencia de *Fusarium boothii*, confirmando su pertenencia a esta especie.

Dentro del segundo complejo filogenético identificado, correspondiente al complejo de especies *Fusarium fujikuroi* (FFSC), se agruparon las especies restantes analizadas. En este contexto, el clado 2 corresponde a *Fusarium sudanense*, donde los aislados se agruparon estrechamente con las secuencias de referencia, evidenciando una relación filogenética cercana entre ellos. De manera similar, el clado 3 agrupó aislados identificados como *Fusarium temperatum*, mostrando una estructura consistente con la delimitación de esta especie dentro del género (Leslie y Summerell, 2006; O'Donnell *et al.*, 2023).

El clado 4 incluyó a los aislados asociados con *Fusarium subglutinans*, los cuales se agruparon conjuntamente con secuencias de referencia, reflejando una clara diferenciación respecto de otros taxones filogenéticamente cercanos. Este patrón concuerda con estudios multilocus previos que han demostrado que *F. subglutinans* constituye una entidad filogenética bien delimitada dentro del complejo *Fusarium fujikuroi*, a pesar de compartir similitudes morfológicas y ecológicas con especies afines (Leslie y Summerell, 2006; O'Donnell *et al.*, 2022).

Por su parte, el clado 5 correspondió a *Fusarium andiyazi*, donde los aislados analizados formaron un grupo bien definido y separado de los demás clados, en concordancia con reportes que destacan la utilidad de los marcadores TEF-1 α y RPB2 para distinguir esta especie de otros miembros cercanos del complejo, particularmente de *F. verticillioides* y *F. subglutinans* (Leslie *et al.*, 2007; O'Donnell *et al.*, 2022).

Finalmente, el clado 6 estuvo conformado por aislados identificados como *Fusarium verticillioides*, los cuales se agruparon con secuencias de referencia de esta especie, constituyendo el clado con mayor número de aislados. Esta dominancia es consistente con lo reportado para sistemas productivos de maíz, donde *F. verticillioides* es reconocida como la especie más frecuente y ampliamente distribuida del complejo *Fusarium fujikuroi* (Munkvold y Desjardins, 1997; Leslie y Summerell, 2006; O'Donnell *et al.*, 2022).

La estructura interna observada en este clado sugiere la presencia de variación genética intraespecífica, un patrón comúnmente documentado en poblaciones de *F. verticillioides* asociadas a maíz y atribuido a su amplia distribución geográfica, diversidad de nichos ecológicos y capacidad de persistencia en diferentes matrices del agroecosistema (Fallahi *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2023). Esta variación fue explorada posteriormente mediante el análisis de haplotipos.

En conjunto, el árbol filogenético obtenido a partir de secuencias concatenadas de los genes TEF-1 α y RPB2 permitió confirmar de manera robusta la identidad taxonómica de los aislados, así como resolver adecuadamente las relaciones entre especies filogenéticamente cercanas dentro del género *Fusarium*. El uso de un enfoque multilocus concatenado ha sido ampliamente recomendado para este género, debido a las limitaciones de la identificación basada únicamente en morfología o en un solo marcador molecular, particularmente en complejos de especies con alta cercanía evolutiva (O'Donnell *et al.*, 2010; O'Donnell *et al.*, 2022; Torres-Cruz *et al.*, 2022).

De esta manera, los resultados obtenidos proporcionan un marco filogenético sólido para los análisis posteriores de soporte nodal y diversidad genética intraespecífica, y respaldan la interpretación integrada de los perfiles patogénicos y micotoxigénicos de las especies identificadas.

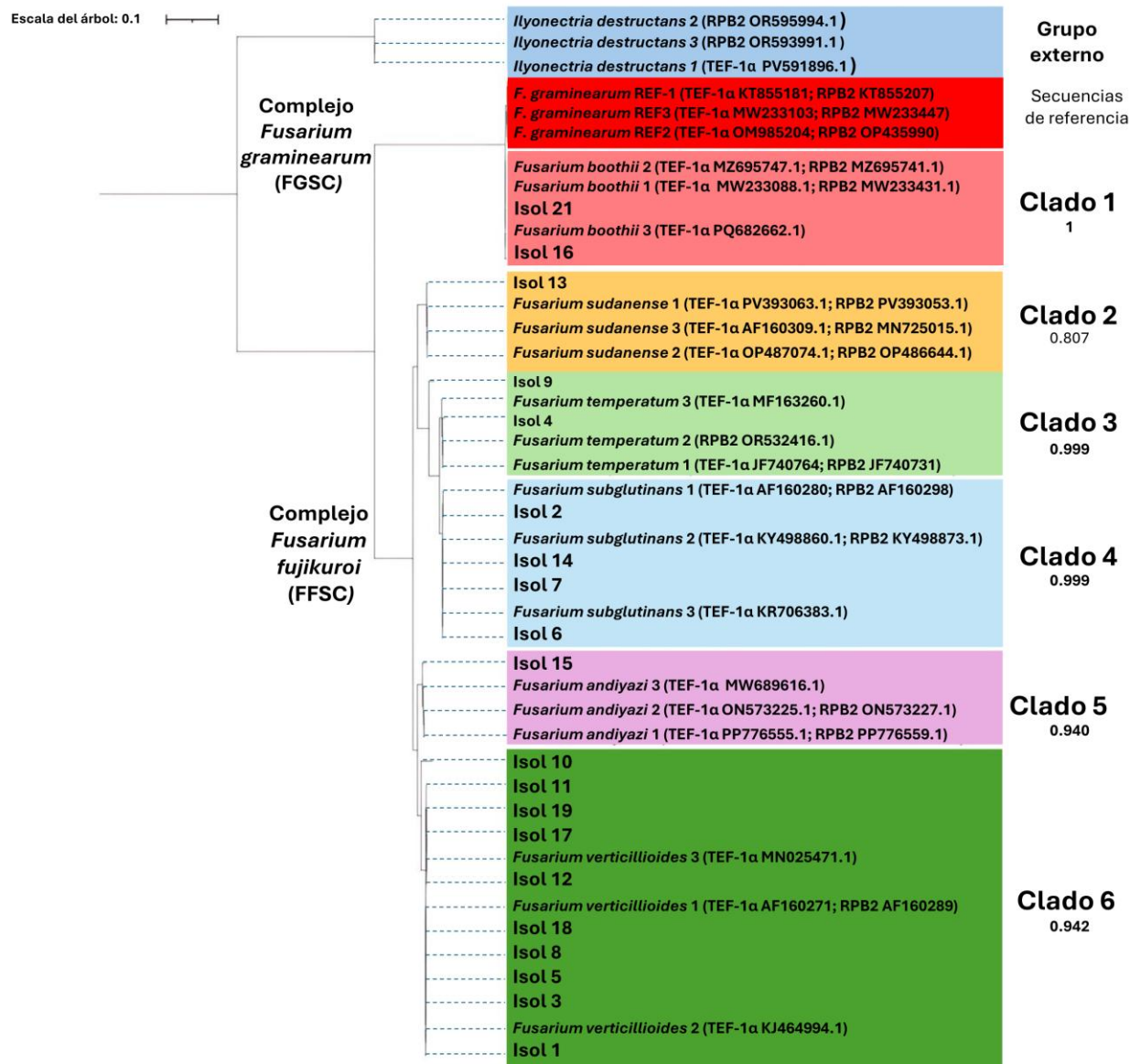


Figura 19. Árbol filogenético obtenido mediante el método de máxima verosimilitud (PhyML) a partir de secuencias concatenadas de los genes TEF-1α y RPB2.

Mostrando la relación filogenética de aislados de *Fusarium* asociados a maíz en El Bajío mexicano. *Ilyonectria destructans* fue utilizada como grupo externo (outgroup). Los aislados se agruparon en seis clados principales (Clados 1–6), correspondientes a especies de los complejos *Fusarium graminearum* (FGSC) y *Fusarium fujikuroi* (FFSC). El soporte de los nodos fue estimado mediante el método approximate likelihood-ratio test (aLRT, SH-like); los valores no se muestran en la figura para facilitar la visualización. La escala representa sustituciones por sitio.

Dentro del complejo de especies de *F. graminearum* (FGSC), *F. boothii* se ubicó como clado hermano de *F. graminearum*, mostrando una cercanía filogenética reflejada en longitudes de rama muy cortas ($\approx 10^{-8}$ sustituciones por sitio, Figura 20) y en elevados niveles de similitud de secuencia. Este patrón es consistente

con una divergencia evolutiva reciente entre ambas especies dentro del complejo, tal como ha sido documentado para otros taxones cercanamente relacionados del FGSC (Aoki *et al.*, 2014; O'Donnell *et al.*, 2023). No obstante, los aislados analizados y las secuencias de referencia formaron clados bien delimitados y sin solapamiento, lo que confirma su identidad como especies filogenéticas distintas, aun cuando mantienen una relación evolutiva estrecha. La inclusión de *F. graminearum* permitió corroborar que la separación observada entre ambas especies es un resultado de diferencias acumuladas en múltiples loci, respaldando la utilidad del análisis multilocus concatenado para la correcta delimitación de especies dentro del FGSC.

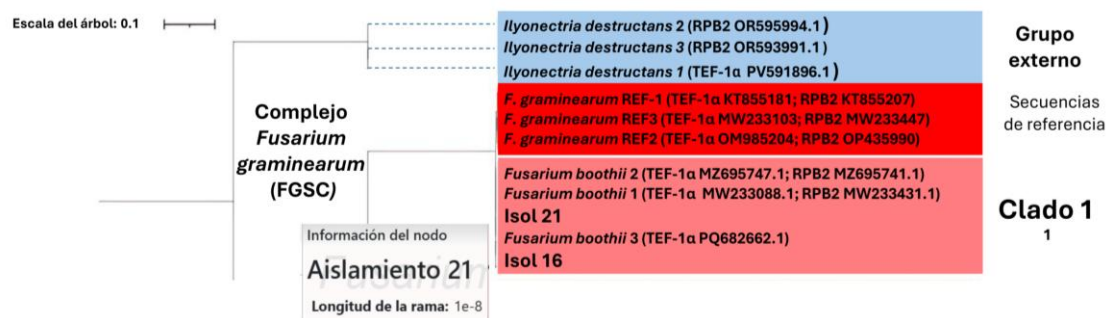


Figura 20. Árbol filogenético multilocus concatenado del complejo de especies *Fusarium graminearum* (FGSC).

Incluye aislados analizados en este estudio y secuencias de referencia. Se muestran las relaciones filogenéticas entre *F. boothii* y *F. graminearum*, así como las longitudes de rama expresadas en sustituciones por sitio. La barra de escala indica la distancia evolutiva.

En el complejo de especies de *F. fujikuroi* (FFSC), el árbol filogenético mostró una clara separación de las especies analizadas, incluyendo *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. andiyazi*, *F. temperatum* y *F. sudanense*. Esta delimitación consistente entre clados refleja la alta resolución filogenética previamente descrita para este complejo, caracterizado por agrupar especies filogenéticamente cercanas, pero genéticamente distinguibles (Leslie & Summerell, 2006; Summerell, 2019; O'Donnell *et al.*, 2022).

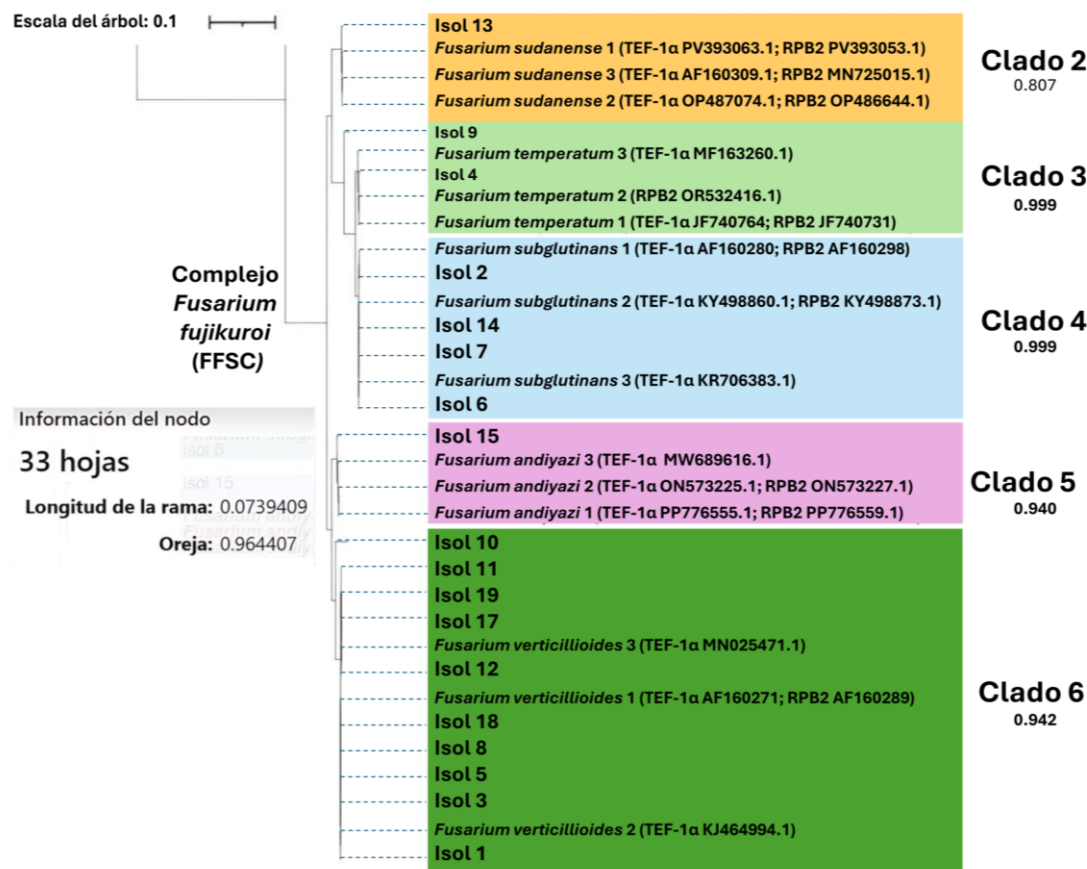


Figura 21. Árbol filogenético multilocus concatenado del complejo de especies *Fusarium fujikuroi* (FFSC).

Incluye aislados analizados en este estudio y secuencias de referencia. Los valores de soporte nodal se indican en los nodos, destacando un valor de 0.97 en los clados principales. La escala representa la distancia evolutiva expresada como sustituciones por sitio.

Dentro del FFSC, *F. verticillioides* formó un clado bien definido y claramente separado del resto de las especies del complejo, a pesar de su reconocida cercanía filogenética con *F. subglutinans* y *F. andiyazi* (Figura 22). Esta separación ha sido atribuida a diferencias acumuladas en múltiples regiones genéticas, y respalda su estatus como especie filogenéticamente independiente, aun dentro de un complejo caracterizado por alta similitud genética entre especies (O'Donnell *et al.*, 2022; O'Donnell *et al.*, 2023). Este resultado es particularmente relevante, dado que *F. verticillioides* es una de las especies más frecuentes y de mayor importancia fitosanitaria asociadas al maíz, con amplia

distribución geográfica y elevada variabilidad genética (Fallahi *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2023).

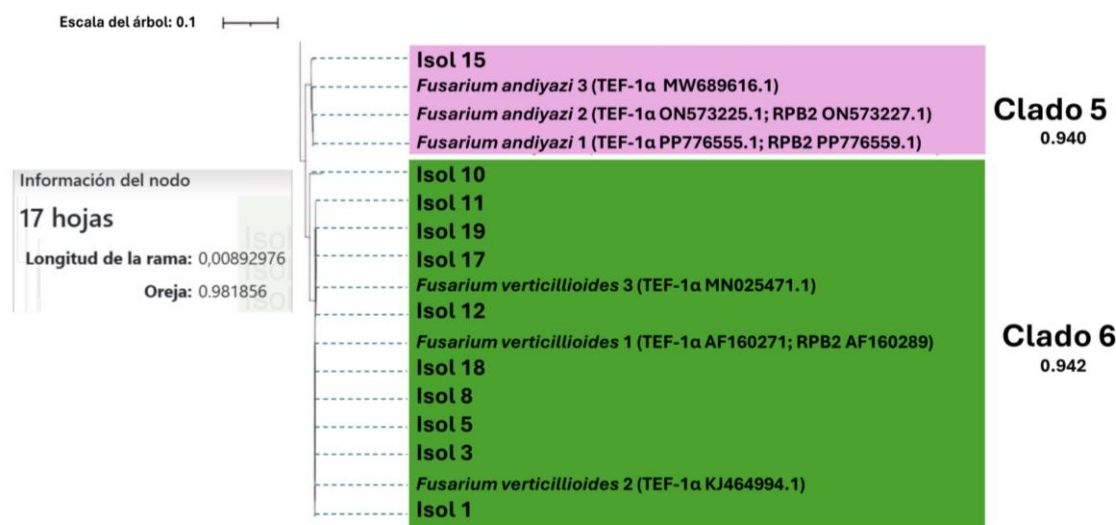


Figura 22. Filogenia evolutiva entre *Fusarium verticillioides* y *F. andiyazi*.

Se muestra la posición de *F. verticillioides* en relación con *F. andiyazi*; los valores de soporte nodal se indican en los nodos (0.99). La escala representa la distancia evolutiva expresada como sustituciones por sitio.

De manera similar, los aislados identificados como *Fusarium subglutinans* se agruparon en un clado diferenciado dentro del complejo *F. fujikuroi* (FFSC), en estrecha relación filogenética con *F. temperatum* y *F. sudanense* (Figura 23). Este patrón concuerda con estudios previos que han documentado la cercanía evolutiva entre estas especies mediante análisis multilocus, aun cuando presentan diferencias genéticas suficientes para su delimitación taxonómica (Leyva-Madrigal *et al.*, 2015; O'Donnell *et al.*, 2022). La agrupación observada pone de manifiesto las limitaciones de la identificación basada exclusivamente en caracteres morfológicos y resalta la necesidad de enfoques moleculares integradores para la correcta delimitación de especies dentro del FFSC.

La delimitación de *F. temperatum* y *F. sudanense* dentro del FFSC evidencia la utilidad de los marcadores empleados para resolver relaciones filogenéticas entre especies estrechamente relacionadas, cuya identificación ha sido históricamente compleja debido a la superposición de rasgos morfológicos. En ambos casos, los

aislados se agruparon en clados monofiléticos bien definidos, con nodos internos de soporte moderado y longitudes de rama cortas, lo que sugiere una divergencia evolutiva relativamente reciente y la presencia de variación genética intraespecífica, un patrón común en especies cercanamente relacionadas dentro de complejos filogenéticos (Leslie *et al.*, 2007; O'Donnell *et al.*, 2023). No obstante, esta variación interna no compromete la delimitación taxonómica de las especies, ya que la separación entre clados se mantiene consistente.

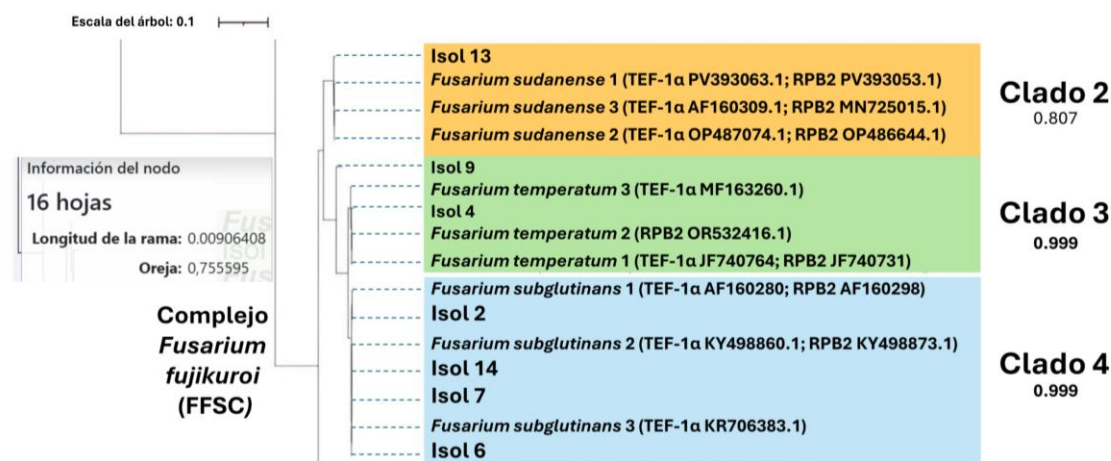


Figura 23. Filogenia evolutiva entre *F. sudanense*, *F. temperatum* y *F. subglutinans*.

Los valores de soporte nodal se indican en los nodos, destacando un valor de 0.75 en el nodo que agrupa a estas especies. La escala representa la distancia evolutiva expresada como sustituciones por sitio.

En conjunto, la estructura filogenética observada en ambos complejos (FGSC y FFSC) confirma que los aislados de *Fusarium* asociados a la pudrición de mazorca en El Bajío mexicano corresponden a linajes evolutivamente diferentes, aun cuando coexisten en el mismo hospedero y región geográfica. Estos resultados resaltan la importancia de emplear análisis filogenéticos multilocus concatenados para la identificación precisa de especies de *Fusarium* con relevancia fitosanitaria y proporcionan un marco sólido para la interpretación de la diversidad genética intraespecífica observada posteriormente en *F. verticillioides* mediante el análisis de haplotipos (Fallahi *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2023).

Soporte filogenético de los clados

El soporte estadístico de los clados identificados en el análisis filogenético fue estimado mediante el approximate likelihood-ratio test (aLRT, SH-like) implementado en PhyML, utilizando el alineamiento concatenado de los genes TEF-1 α y RPB2. Los valores obtenidos corresponden al soporte del nodal basal que define cada clado y se resume en la tabla 7. En general, los clados correspondientes a las especies del FFSC presentaron valores de soporte altos, lo que indica una delimitación filogenética robusta.

Los clados 3 y 4 mostraron los valores más elevados (aLRT = 0.999), mientras que los clados 5 y 6 presentaron valores un poco más bajos (aLRT = 0.94 y 0.942, respectivamente), respaldando la separación consistente de estas especies dentro del complejo FFSC. El clado 2 presentó un soporte moderadamente alto (aLRT = 0.807), lo que sugiere una delimitación confiable, aunque con menor señal filogenética relativa.

Dentro del FFSC, el clado 1 mostró un valor máximo de soporte (aLRT = 1), confirmando una delimitación clara incluso frente a especies filogenéticamente cercanas. El grupo externo, *Ilyonectria destructans*, presentó un valor de soporte menor (aLRT = 0.531), lo cual es esperable dado su papel en el enraizamiento del árbol.

En su conjunto, los valores de soporte obtenidos indican una alta confiabilidad estadística de los clados definidos y respalda la estructura filogenética inferida a partir del análisis multilocus concatenado, en concordancia con lo reportado para el uso de aLRT (SH-like) como medida eficiente de soporte nodal en análisis de máxima verosimilitud (Anisimova et al., 2011; Lemoine et al., 2018).

Tabla 7. Soporte filogenético (aLRT, SH-like) de los clados identificados mediante el análisis de máxima verosimilitud (PhyML) a partir de secuencias concatenadas de TEF-1 α y RPB2.

Clado	Complejo	Especie	Soporte del nodo basal (aLRT, SH-like)
Clado 1	<i>F. graminearum</i> (FGSC)	<i>Fusarium boothii</i>	1
Clado 2		<i>Fusarium sudanense</i>	0.807
Clado 3		<i>Fusarium temperatum</i>	0.999
Clado 4	<i>F. fujikuroi</i> (FFSC)	<i>Fusarium subglutinans</i>	0.999
Clado 5		<i>Fusarium andiyazi</i>	0.94
Clado 6	—	<i>Fusarium verticillioides</i>	0.942
Outgroup		<i>Ilyonectria destructans</i>	0.531

Nota. Los valores corresponden al soporte del nodo basal que define cada clado, estimado mediante el método approximate likelihood-ratio test (aLRT, SH-like) en PhyML.

Los valores de soporte obtenidos indican que la topología del árbol filogenéticos es estadísticamente robusta, particularmente para la delimitación de especies del complejo FFSC, caracterizado por una alta cercanía evolutiva entre taxones. Los valores moderadamente altos observados en algunos clados pueden asociarse a procesos de divergencia evolutiva reciente o a la presencia de variación genética intraespecífica, sin comprometer la delimitación taxonómica cuando se interpretan en conjunto con la topología del árbol y la congruencia cuando se referencia.

3.3.2.2. Análisis de haplotipos de *Fusarium verticillioides*

El análisis haplotípico del gen TEF-1 α en los aislados de *Fusarium verticillioides* reveló la presencia de dos haplotipos (Figura 24). El haplotipo H1 fue compartido por la mayoría de los aislados analizados (n=9), lo que indica una alta homogeneidad genética para este marcador dentro de la población evaluada. En contraste, el haplotipo H2 fue exclusivo del aislado 10, proveniente de suelo, y se diferenció del haplotipo dominante por una única mutación.

La red haplotípica mostró una estructura simple, con ambos haplotipos conectados por un solo paso mutacional, lo que sugiere una divergencia genética mínima entre los aislados de *F. verticillioides* incluidos en este estudio. Este patrón es consistente con el carácter conservado del gen TEF-1 α , ampliamente utilizado para la identificación y delimitación de especies dentro del género

Fusarium, y que generalmente presenta baja variabilidad intraespecífica (O'Donnell *et al.*, 2013; Uribe-Cortés *et al.*, 2020).

La detección de un haplotipo exclusivo en un aislado proveniente de suelo podría reflejar la presencia de variantes genéticas poco frecuentes en determinadas matrices de aislamiento; sin embargo, debido a que este haplotipo estuvo representado por un solo aislado, no es posible establecer asociaciones concluyentes entre la variación genética y el origen del aislamiento. En este contexto, la predominancia de un haplotipo mayoritario sugiere que la población de *F. verticillioides* evaluada en El Bajío mexicano, presenta una estructura genética relativamente uniforme para este marcador.

En conjunto, estos resultados confirman la utilidad del gen TEF-1 α para evaluar la variación intraespecífica en *Fusarium verticillioides*; sin embargo, también indican que la inclusión de marcadores adicionales podría aportar una resolución más detallada de la diversidad genética poblacional, particularmente para detectar linajes poco frecuentes o patrones de diferenciación asociados al origen del aislamiento, al hospedero o a condiciones ambientales específicas (Fallahi *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2023).

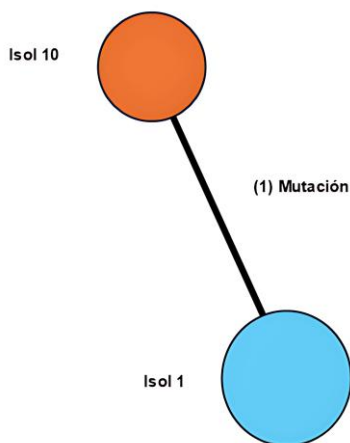


Figura 24. Red haplotípica del gen TEF-1 α para aislados de *Fusarium verticillioides*.

Obtenidos en El Bajío mexicano. Los círculos representan haplotipos únicos y su tamaño es proporcional al número de aislados que los conforman. El haplotipo H1 (azul) fue compartido por nueve aislados, mientras que el haplotipo H2 (naranja) fue exclusivo del aislado Isol 10, proveniente de suelo. La línea que conecta ambos haplotipos indica una diferencia de una mutación entre ellos.

3.3.3. Caracterización morfológica y cultural

Con base en el Manual de Leslie y Summerell (2006) y el Manual de Laboratorio de Ensayos para Semillas de Maíz y Trigo del CIMMYT, fue posible caracterizar 6 especies, pertenecientes a los complejo *F. fujikuroi* (FFSC) y complejo *F. sambucinum* (FSSC).

Identificación morfológica y cultural de especies del complejo *F. fujikuroi* (FFSC)

F. andiyazi Marasas, Rheeder, Lamperch, K. A. Zeller y J. F. Leslie. A los 8 días de incubación en PDA, las colonias presentaron en el anverso un micelio de aspecto pulverulento a flocoso, inicialmente blanco, que conforme avanzó el crecimiento adquirió tonalidades rosa pálido a violeta. En el reverso se observó una pigmentación rosa pálido a violeta que se intensificó con el tiempo. En SNA y CLA presentó microconidios hialinos, aceptados, de forma ovoide a clavada, con dimensiones de 1-3 x 1µm. No se detectaron macroconidios ni clamidosporas, sin embargo, se registró la presencia de pseudoclamidosporas. En conjunto, estas características concuerdan con las descripciones morfológicas reportadas para la especie por Leslie y Summerell (2006) (Figura 25).

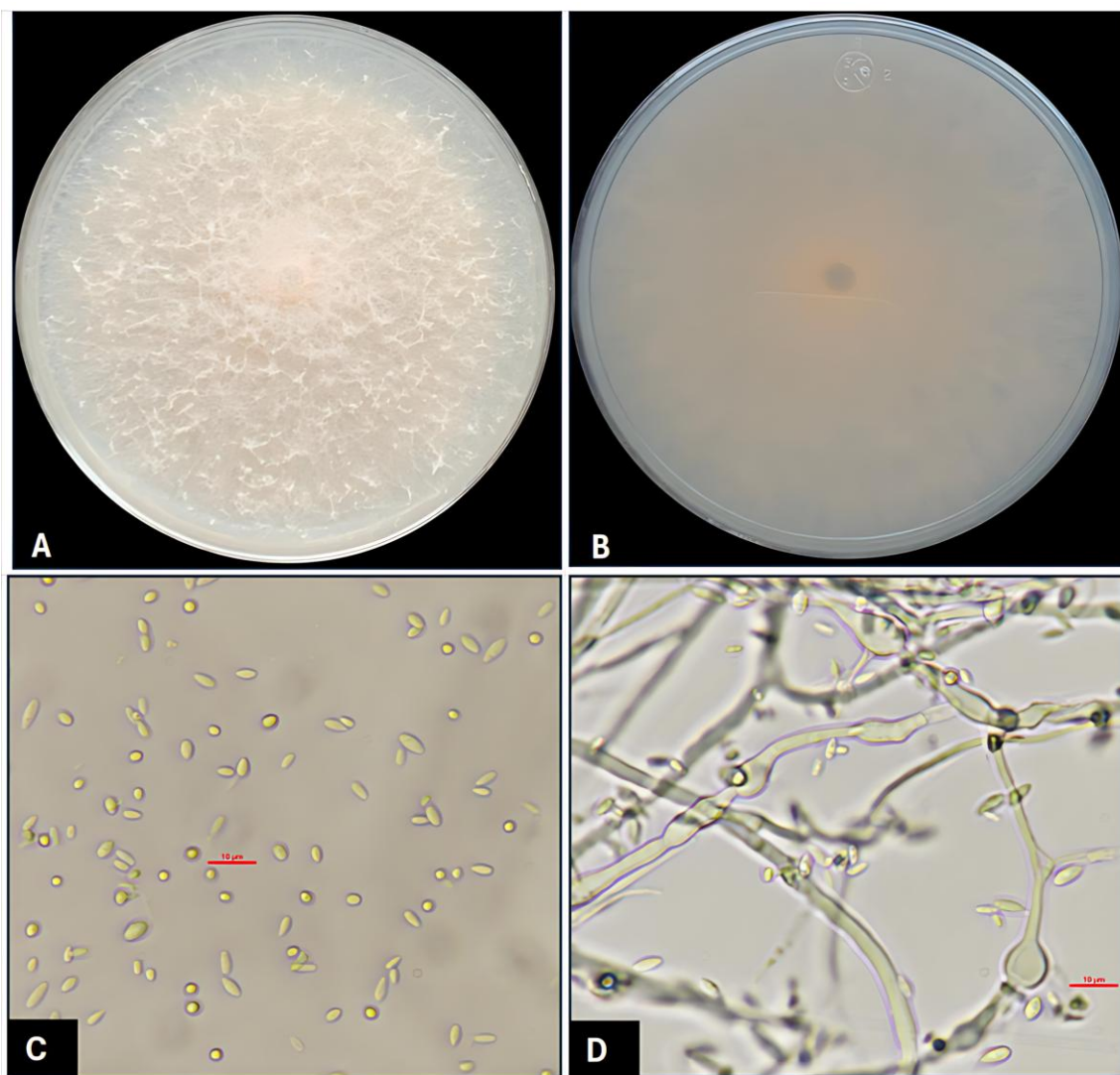


Figura 25. *F. andiyazi*. Colonia en PDA a los 8 días de incubación.

(A) anverso y (B) reverso. En SNA y CLA: (C) microconidios y (D) pseudoclamidosporas. Barra de escala de 10μm.

F. subglutinans Wollenweber y Reinking, P. Nelson, Toussoun y Marasas. Tras 8 días de incubación en PDA, las colonias presentaron en el anverso un micelio blanco algodonoso que, con el desarrollo de la colonia, evolucionó a color salmón; en el reverso se observó una pigmentación salmón que se intensificó con el tiempo. En medios SNA y CLA se produjeron microconidios hialinos, aseptados o un septo, con dimensiones promedio de 8.2 x 2.8μm. No se observaron macroconidios ni clamidosporas. Como características diagnósticas destacaron

la presencia de monofialides y polifialides con formación de falsas cabezas. Estas observaciones concuerdan con la descripción reportada para la especie por Leslie y Summerell (2006) (Figura 26).

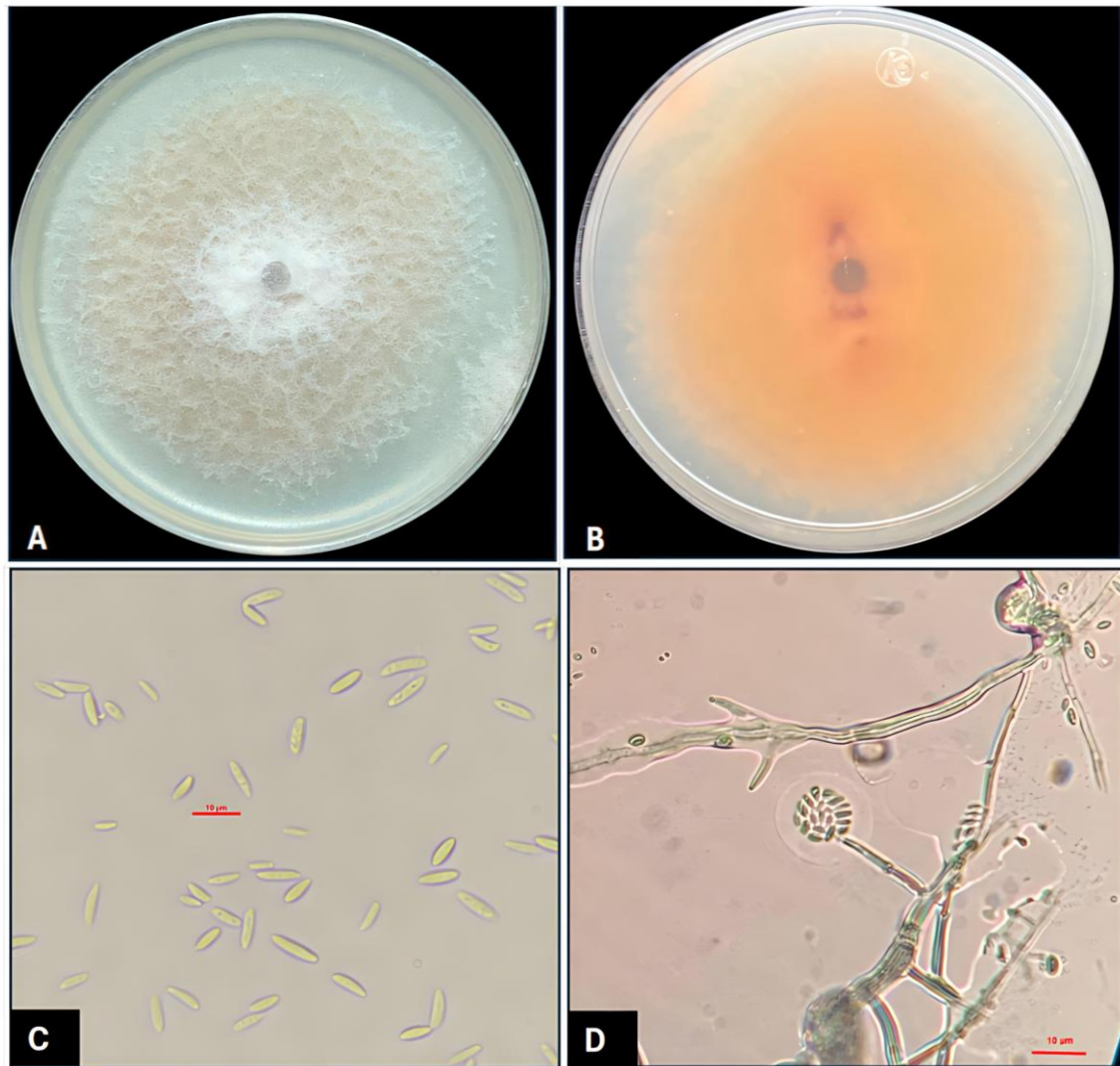


Figura 26. *F. subglutinans*. Colonia en PDA a los 8 días de incubación.

(A) anverso y (B) reverso. En SNA y CLA: (C) microconidios y (D) monofialides con falsa cabeza. Barra de escala de 10µm.

F. sudanense SA Ahmed, Al-Hatmi & de Hoog. Tras 8 días de incubación en PDA, las colonias presentaron una textura afieltrada, con micelio firmemente adherido al medio, inicialmente blanco y que con el transcurso del tiempo adquirió tonalidades rosadas, tanto en anverso como en reverso. En los medio SNA y CLA se observaron microconidios hialinos, unicelulares, de forma ovalada a clavada,

con dimensiones de $3.3\text{-}12.6 \times 3.6\text{-}4.8\mu\text{m}$ dispuestos en cadenas cortas. Así mismo, se produjeron macroconidios hialinos, falcado, con 3 a 5 septos, cuyas dimensiones oscilaron entre $22\text{-}53.5 \times 2.4\text{-}4.3\mu\text{m}$, con base en forma de pie y una célula apical corta y ahusada. Se registró la presencia de clamidosporas intercalares, tanto aisladas como en forma de cadenas. Entre los rasgos diagnóstico destacaron la presencia de monofialides y polifialides, así como la formación de cadenas cortas de microconidios. En conjunto, estas características concuerdan con lo reportado para la especie por Larran, *et al.* (2018) (Figura 27).

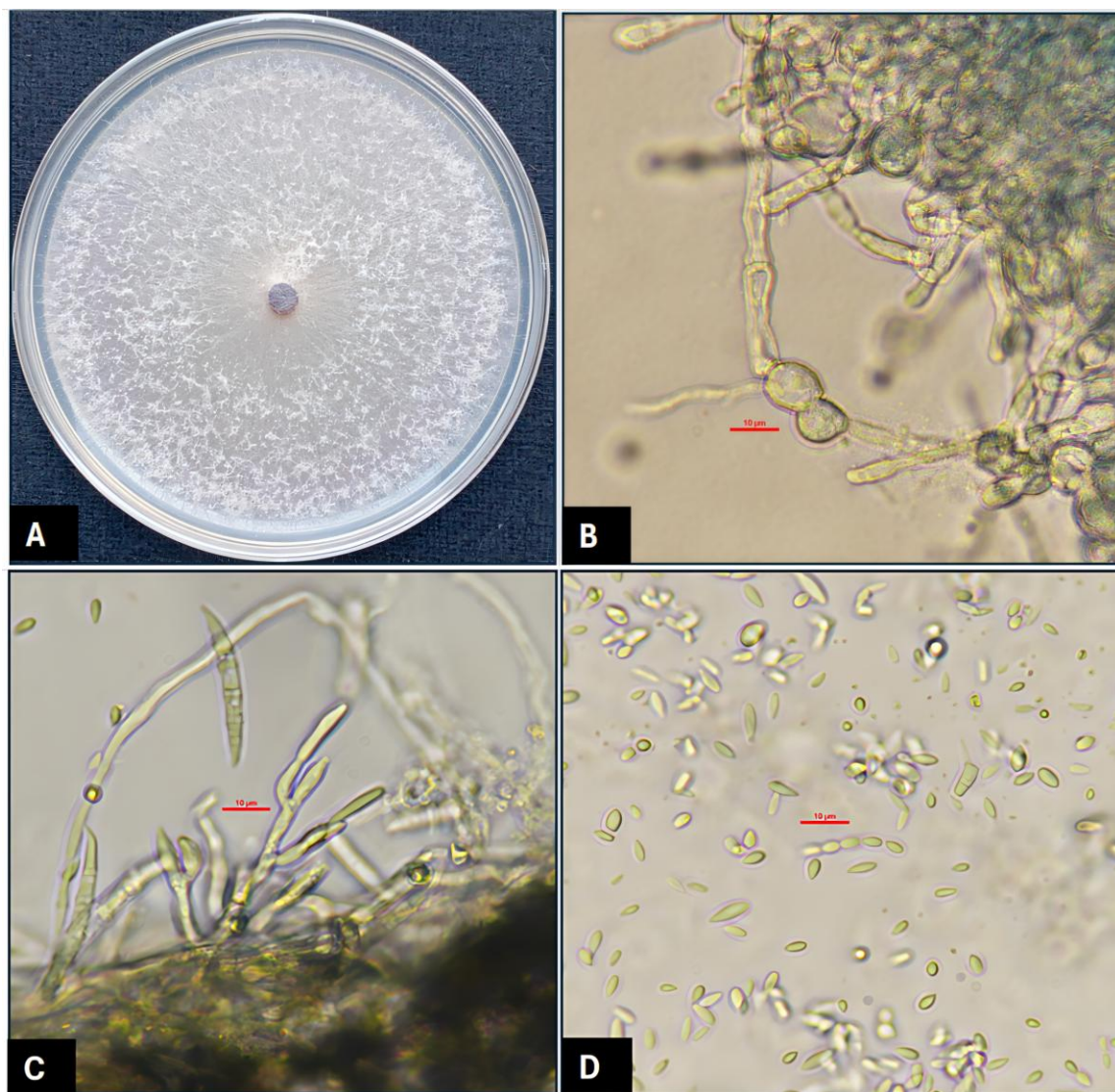


Figura 27. *F. sudanense*. Colonia en PDA a los 8 días de incubación.

(A) Anverso de colonia en PDA a los 8 días de incubación, (B) Clamidosporas intercalares, (C) Macroconidios y polifialides observados en CLA, y (D) Microconidios observados en SNA. Barra de escala de $10\mu\text{m}$.

F. temperatum Scauflaire y F. Munaut. En PDA, las colonias desarrollaron micelio escaso y finamente adherido al medio, de color blanco en etapas iniciales, que con el tiempo evolucionó a tonalidades violetas, observándose además la pigmentación del medio con el mismo color. En los medios SNA y CLA se observaron microconidios hialinos, aseptados o un 1 a 2 septos; los aseptados presentaron formas elipsoidales a ovaladas, mientras que aquellos con septos mostraron morfología fusiforme, con dimensiones que oscilaron entre 3-27 x 0.9-2.5µm. Así mismo, se produjeron macroconidios hialinos, falcados con cuatro a cinco septos, cuyas dimensiones variaron de 42-55 x 3-5µm. En conjunto, las características observadas concuerdan con lo descrito para la especie por Scauflaire, *et al.* (2012) (Figura 28).

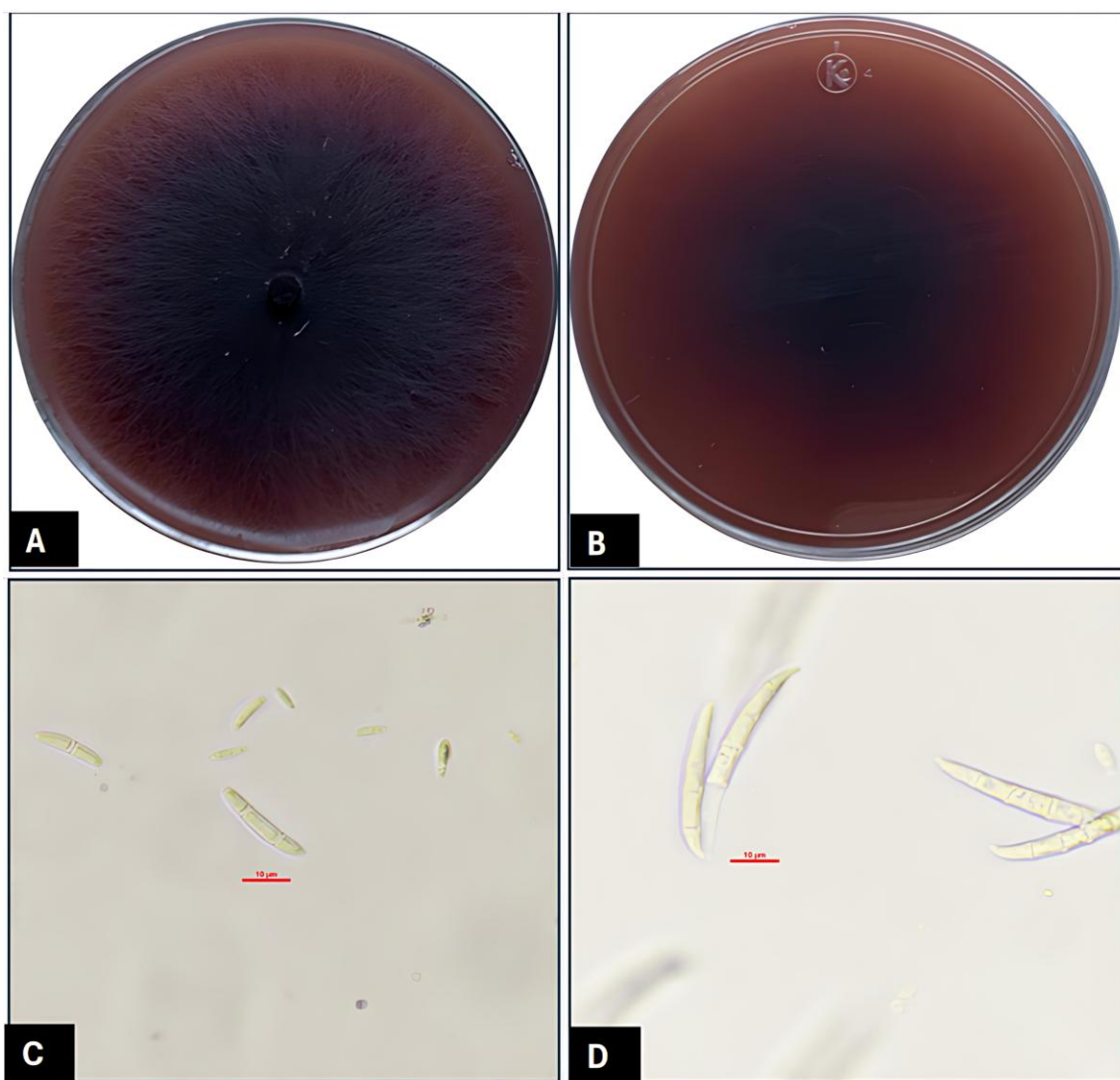


Figura 28. *F. temperatum*. Colonia en PDA a los 8 días de incubación.

(A) Anverso, (B) Reverso. En SNA y CLA (C) Microconidios, y D. Macroconidios. Barra de escala de 10μm.

F. verticillioides (Saccardo) Nirenberg. En medio PDA, las colonias presentaron micelio blanco, de aspecto algodonoso a flocooso en el anverso, mientras que en el reverso el medio se pigmentó de color rosado, el cual se intensificó conforme transcurre el tiempo. En los medios SNA y CLA se observó la presencia de abundantes microconidios pequeños, con dimensiones promedio de 8-10 x 2-2.5μm, No se presentaron macroconidios ni clamidosporas. El carácter definitivo para su identificación fue la presencia de largas cadenas de microconidios

dispuestos en forma de “orejas de conejo”. En conjunto, estas características concuerdan con las reportadas por Leslie y Summerell (2006) (Figura 29).

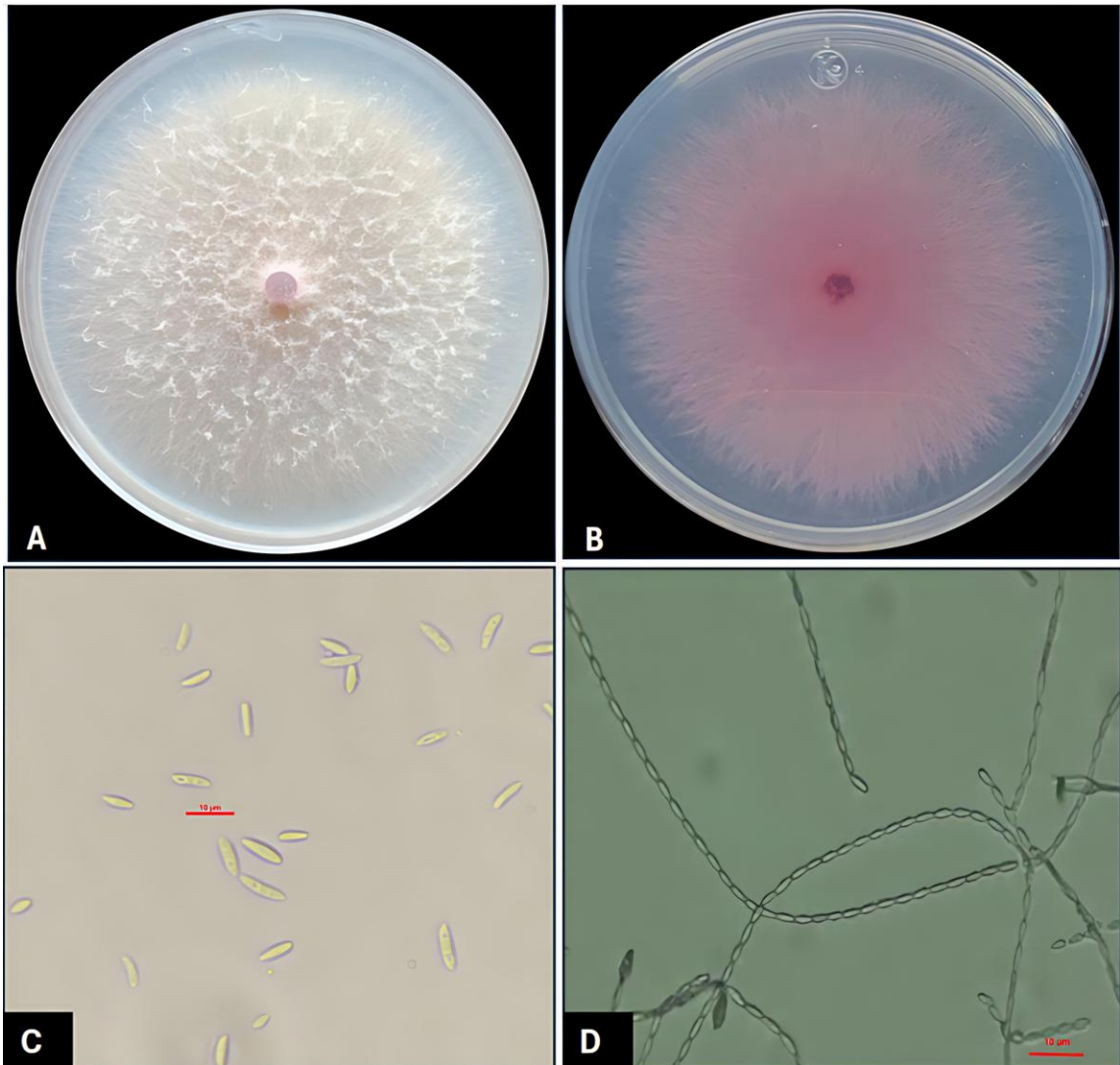


Figura 29. *F. verticillioides*. Colonia en PDA a los 8 días de incubación.

(A) Anverso, (B) Reverso. En SNA y CLA (C) Microconidios, y D. Cadenas largas de microconidios. Barra de escala de 10μm.

Identificación morfológica y cultural de especies del complejo *F. graminearum* (FGSC)

F. boothii O'Donnell. En medio PDA, las colonias presentaron micelio aéreo abundante, inicialmente blanco en el anverso, que con el transcurso del tiempo adquirió tonalidades guinda-rojizas claras; en el anverso se observó una pigmentación rosa a guinda oscuro. En los medio SNA y CLA se presentaron abundantes macroconidios hialinos, de forma falcada, con 4 a 7 septos y dimensiones de 32.5-65.1 x 2-4µm, con célula basal en forma de pie y célula apical estrecha. No se observó la presencia de microconidios ni de clamidosporas. Estas características coinciden con las descritas por O'Donnell *et al.* (2004) para la especie (Figura 30).

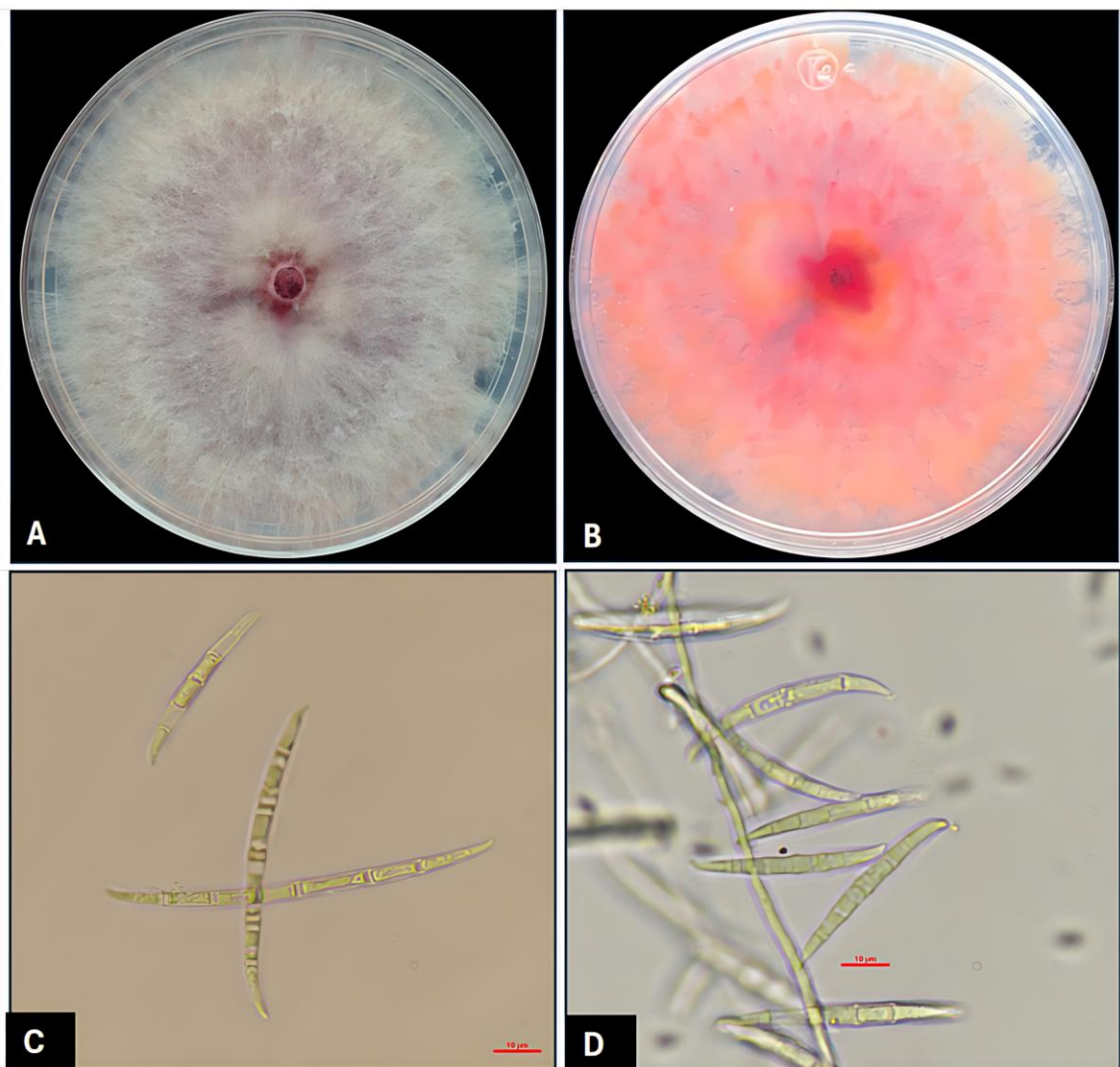


Figura 30. *F. boothii* Colonia en PDA a los 8 días de incubación.

(A) Anverso, (B) Reverso. En SNA y CLA (C y D) Macroconidios. Barra de escala de 10µm.

Con el propósito de integrar y contrastar las principales características morfológicas y culturales observadas en las especies de *Fusarium* identificadas molecularmente, se elaboró un cuadro comparativo que resume los rasgos fenotípicos más relevantes registrados en los distintos medios de cultivo (Tabla 8).

Tabla 8. Comparación de características morfológicas y culturales de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca en maíz.

Especie	Color en PDA	Microconidios (CLA/SNA)	Macroconidios (CLA/SNA)	Clamidosporas	Rasgos distintivos
<i>F. verticillioides</i>	Micelio algodonoso blanco a rosado, agar teñido de rosado	Abundantes microconidios pequeños ($8-10 \times 2-2.5 \mu\text{m}$), dispuestos en cadenas largas, principalmente en SNA	No observados	No observadas	Cadenas largas de microconidios en forma de "orejas de conejo"
<i>F. andiyazi</i>	Micelio flocoso a pulverulento, blanco, que con el tiempo adquiere tonalidades violeta o rosa pálido	Hialinos, aseptados o con un solo septo, ovoides a clavados, de $1-3 \times 1 \mu\text{m}$	No observados	No observadas	Presencia de pseudoclamidosporas
<i>F. subglutinans</i>	Blanco a salmón	Microconidios hialinos, ovalados, aseptados o con un septo, de $8.2 \times 2.8 \mu\text{m}$	No observados	No observadas	Monofialides y polifialides con formación de falsas cabezas
<i>F. temperatum</i>	Micelio escaso y firmemente adherido al medio, inicialmente blanco y posteriormente violeta	Hialinos, abundantes, aseptados o con 1-2 septos; elipsoidales u ovalados cuando son aseptados y fusiformes cuando presentan septos, de $3-27 \times 0.9-2.5 \mu\text{m}$	Hialinos, falcados, con 4-5 septos, de $42-55 \times 3-5 \mu\text{m}$	No observadas	Presencia simultánea de microconidios septados y macroconidios falcados

<i>F. sudanense</i>	Micelio afieltrado adherido al medio, blanco a rosado	Unicelulares, ovalados a mayormente claviformes, de 3.3–12.6 × 3.6–4.8 µm, dispuestos en cadenas cortas	Hialinos, falciformes a casi rectos, con 3–5 septos, de 22–53.5 × 2.4–4.3 µm, con célula apical corta y ahusada y base en forma de pie	Sí, intercalares, aisladas o en cadenas	Monofialides y polifialides; cadenas cortas de microconidios
<i>F. boothii</i>	Blanco aérea abundante de blanco a rojizo	No observados	Hialinos, falcados, con 4–7 septos, de 32.5–65.1 × 2.0–4.0 µm	No observadas	Curvatura dorsal pronunciada; célula apical estrecha y célula basal en forma de pie

Nota: Características morfológicas y micromorfológicas de especies de *Fusarium* aisladas de maíz, observadas en medios de cultivo PDA (agar papa dextrosa), CLA (agar hoja de clavel) y SNA (agar nutritivo sintético). Se describen el color y aspecto del micelio en PDA, la morfología y dimensiones de microconidios y macroconidios, la presencia o ausencia de clamidosporas, así como los principales rasgos distintivos utilizados para la identificación a nivel de especie.

Discusión

La caracterización morfológica y cultural de los aislados permitió describir y contrastar los rasgos fenotípicos de las especies de *Fusarium* identificadas mediante análisis moleculares, aportando evidencia complementaria para su correcta delimitación taxonómica. La asignación de los aislados a los complejos *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC) y *Fusarium graminearum* species complex (FGSC) fue congruente con los criterios taxonómicos clásicos establecidos por Leslie y Summerell (2006), particularmente en lo referente a la morfología de colonia, tipo de conidiogénesis y presencia o ausencia de estructuras diagnósticas.

En el complejo FFSC, las especies identificadas (*F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. temperatum*, *F. andiyazi* y *F. sudanense*) presentaron patrones morfológicos acordes con las descripciones originales y revisiones taxonómicas posteriores. No obstante, tal como ha sido documentado ampliamente, este complejo agrupa especies filogenéticamente cercanas que exhiben una elevada plasticidad fenotípica, lo que puede generar solapamiento de caracteres

morfológicos, especialmente en condiciones de cultivo similares (Leslie y Summerell, 2006; O'Donnell *et al.*, 2015; Summerell, 2019). Esta plasticidad explica por qué caracteres como el color de colonia, la textura micelial o la abundancia relativa de microconidios pueden variar entre aislados de la misma especie o incluso coincidir entre especies distintas del complejo.

En este contexto, los caracteres culturales y microscópicos observados en medios PDA, SNA y CLA resultan útiles para la descripción fenotípica de los aislados y para una identificación preliminar, pero son insuficientes de manera aislada para una asignación específica concluyente dentro del FFSC. Esta limitación ha sido señalada en múltiples estudios, donde se destaca que la identificación basada exclusivamente en morfología puede conducir a errores taxonómicos, particularmente en complejos crípticos como *F. verticillioides*–*F. subglutinans*–*F. andiyazi* (O'Donnell *et al.*, 2015; Torres-Cruz *et al.*, 2022).

La coherencia observada entre los rasgos morfológicos descritos y la identidad molecular de los aislados respalda la correcta asignación taxonómica de las especies analizadas y confirma la importancia de un enfoque integrativo en estudios del género *Fusarium*. En este sentido, la morfología continúa siendo una herramienta valiosa para la comparación de aislados y la detección de variación fenotípica, pero debe interpretarse siempre a la luz de evidencia molecular multilocus, especialmente cuando se trabaja con complejos de especies filogenéticamente cercanas (O'Donnell *et al.*, 2015; Summerell, 2019).

En el complejo *Fusarium graminearum* species complex (FGSC), la identificación de *F. boothii* estuvo respaldada por la presencia de macroconidios falcados, la ausencia de microconidios y el patrón de pigmentación observado en PDA, caracteres que han sido descritos como consistentes y diagnósticos para esta especie (Starkey *et al.*, 2007; O'Donnell *et al.*, 2010). A diferencia del FFSC, el FGSC presenta una menor ambigüedad morfológica entre especies, lo que permite una correspondencia más directa entre caracteres fenotípicos y delimitación molecular, particularmente cuando se consideran estructuras conidiogénicas y morfología de macroconidios.

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que la caracterización morfológica y cultural sigue siendo un componente fundamental en la taxonomía aplicada de *Fusarium*, pero refuerzan que su mayor valor radica en su integración con herramientas moleculares. Este enfoque combinado resulta especialmente relevante en estudios regionales como el presente, donde la coexistencia de múltiples especies dentro del mismo hospedero y agroecosistema puede enmascarar la diversidad real del patógeno si se emplea un único criterio de identificación.

3.3.4. Pruebas de patogenicidad

Los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad confirmaron que los aislados de *Fusarium* identificados en este estudio son capaces de inducir síntomas típicos de pudrición de mazorca en maíz bajo condiciones de campo experimental. La manifestación de signos visibles de infección, tales como la presencia de micelio, decoloración de granos, pudrición interna de la mazorca y alteraciones en el llenado y maduración del grano, concuerda con lo reportado en estudios previos que emplean inoculaciones artificiales para validar la patogenicidad de *Fusarium* spp. asociadas al maíz (Reid *et al.*, 1996; Munkvold & Desjardins, 1997; Zácamo-Velázquez *et al.*, 2023).

La evaluación tuvo un enfoque confirmatorio y cualitativo, registrándose únicamente la presencia o ausencia de síntomas en las mazorcas inoculadas, sin realizar comparaciones de severidad o agresividad entre especies o tratamientos. Bajo estas condiciones, los síntomas observados fueron, en términos generales, similares entre las distintas especies inoculadas. No obstante, los aislados identificados como *Fusarium boothii* se distinguieron visualmente por la presencia de micelio con tonalidades rojizas en los tejidos infectados, rasgo que permitió diferenciar esta especie respecto a las demás bajo las condiciones del ensayo (Figura 31).

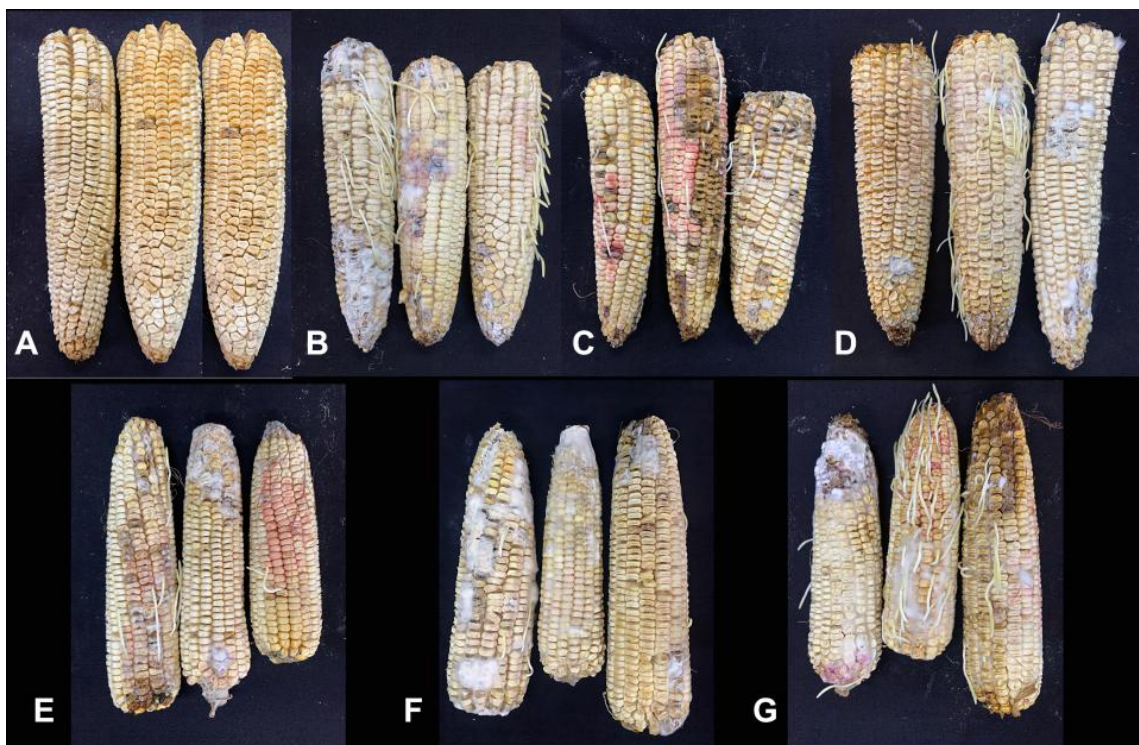


Figura 31. Sintomatología de pudrición de mazorca causa por las seis especies de *Fusarium* en maíz tras pruebas de patogenicidad.

- (A) Testigo inoculado con agua destilada estéril, sin evidencia de crecimiento micelial,
- (B) *F. andiyazi*
- (C) *F. subglutinans*
- (D) *F. sudanense*.
- (E) *F. temperatum*,
- (F) *F. verticillioides* y
- (G) *F. boothii*

Con el fin de corroborar la relación causal entre los aislados inoculados y los síntomas observados, se realizó el reaislamiento a partir de tejido sintomático, recuperándose nuevamente *Fusarium* con características morfológicas consistentes con el inóculo utilizado. Este procedimiento permitió confirmar la asociación directa entre el patógeno inoculado y la enfermedad observada, cumpliendo con los postulados clásicos de patogenicidad bajo condiciones experimentales controladas.

Este tipo de aproximación ha sido ampliamente utilizada en estudios cuyo objetivo principal es establecer la asociación causal entre especies de *Fusarium* y la pudrición de mazorca, particularmente cuando se trabaja con múltiples especies pertenecientes a complejos taxonómicos cercanos y con sintomatología

similar (Mesterházy *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2022). La consistencia en la aparición de síntomas entre repeticiones, así como la ausencia de enfermedad en los controles, refuerza la confiabilidad de los resultados obtenidos. En conjunto, las pruebas realizadas confirman la patogenicidad de los aislados evaluados y respaldan su papel como agentes causales de la pudrición de mazorca en maíz en la región del Bajío mexicano.

3.4. CONCLUSIONES

En la región de El Bajío mexicano se confirmó la presencia de seis especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca en maíz blanco subtropical, pertenecientes a los complejos *Fusarium fujikuroi* (*F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. temperatum*, *F. andiyazi* y *F. sudanense*) y *Fusarium graminearum* species complex (*F. boothii*). Esta diversidad refleja la complejidad del patosistema *Fusarium*–maíz en la región y la coexistencia de especies filogenéticamente cercanas dentro de un mismo agroecosistema.

El uso combinado de los marcadores moleculares TEF-1 α y RPB2, junto con el análisis filogenético multilocus concatenado, permitió una identificación taxonómica robusta y confiable de los aislados evaluados, resolviendo adecuadamente la delimitación de especies dentro de complejos taxonómicos caracterizados por alta cercanía evolutiva. La exclusión de secuencias con baja cobertura e identidad fortaleció la confiabilidad del análisis y evitó asignaciones erróneas a nivel de especie.

El análisis filogenético confirmó que los aislados de *Fusarium* asociados al maíz en El Bajío mexicano corresponden a linajes evolutivamente diferenciados, con altos valores de soporte estadístico en los clados definidos. En *Fusarium verticillioides*, la presencia de dos haplotipos del gen TEF-1 α , con predominio de un haplotipo mayoritario, indica una estructura genética relativamente homogénea para este marcador, con evidencia limitada de variación intraespecífica en la población evaluada.

La distribución de las especies de *Fusarium* varió de acuerdo con la matriz de origen (semilla, tallo, grano y suelo), evidenciando la capacidad del género para colonizar múltiples componentes del sistema maíz–suelo. La detección de especies compartidas entre órganos del cultivo sugiere posibles rutas de persistencia y dispersión a lo largo del ciclo del cultivo, mientras que la presencia de *Fusarium* en el suelo resalta su papel como reservorio potencial de inóculo.

La caracterización morfológica y cultural de los aislados fue congruente con su identidad molecular y permitió describir los principales rasgos fenotípicos de las especies identificadas. No obstante, los resultados confirmaron que, particularmente dentro del complejo *Fusarium fujikuroi* (FFSC), la plasticidad fenotípica y el solapamiento de caracteres limitan la identificación basada exclusivamente en morfología, resaltando la necesidad de enfoques integrativos que combinen evidencia morfológica y molecular.

Las pruebas de patogenicidad demostraron que los aislados de *Fusarium* evaluados son capaces de inducir síntomas típicos de pudrición de mazorca en maíz bajo condiciones de campo experimental. El reaislamiento del patógeno a partir de tejido sintomático confirmó la relación causal entre el inóculo y la enfermedad, respaldando el papel de estas especies como agentes asociados a la pudrición de mazorca en El Bajío mexicano.

En conjunto, los resultados de este capítulo confirman que la pudrición de mazorca en El Bajío mexicano está asociada a un complejo diverso de especies de *Fusarium* con diferencias taxonómicas, filogenéticas y ecológicas, pero con capacidad patogénica comprobada. Estos hallazgos proporcionan una base sólida para la interpretación posterior del potencial toxigénico de las especies identificadas y para el diseño de estrategias de diagnóstico y manejo fitosanitario adaptadas a las condiciones regionales.

3.5. LITERATURA CITADA

- Abbas, H. K., Shier, W. T., & Cartwright, R. D. (2006). Field evaluation of maize cultivars for resistance to *Fusarium* ear rot, kernel infection, and mycotoxin accumulation. *Plant Disease*, 90(5), 593–599. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0593>
- Afolabi, C. G., Ojiambo, P. S., Ekpo, E. J., Menkir, A., & Bandyopadhyay, R. (2007). Evaluation of maize inbred lines for resistance to *Fusarium* ear rot and fumonisin accumulation in grain. *Plant Disease*, 91(3), 279–286. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-3-0279>
- Anisimova, M., Gil, M., Dufayard, J. F., Dessimoz, C., & Gascuel, O. (2011). Survey of branch support methods demonstrates accuracy, power, and robustness of fast likelihood-based approximation schemes. *Systematic Biology*, 60(5), 685–699. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syr041>
- Araújo, S. S., da Silva, J. A., Furtado, G. Q., & Mizubuti, E. S. G. (2022). Standardized inoculation methods for evaluating maize resistance to ear rot pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 162, 889–903. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02494-z>
- Aoki, T., O'Donnell, K., & Geiser, D. M. (2014). Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: Current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, 80(3), 189–201. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0509-3>
- Backhouse, D., & Burgess, L. W. (2002). Climatic analysis of the distribution of *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum* and *F. culmorum* on cereals in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 31(4), 321–327. <https://doi.org/10.1071/AP02026>
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Briones-Reyes, D., Castillo-González, F., Chávez-Servia, J. L., Aguilar-Rincón, V. H., de León García-de Alba, C., & Ramírez-Hernández, A. (2015). Respuesta del maíz nativo del altiplano mexicano a pudrición de mazorca bajo infección natural. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1), 74–85.
- Chandra, N. S., Wulff, E. G., Udayashankar, A. C., Nandini, B. P., Niranjana, S. R., Mortensen, C. N., & Prakash, H. S. (2011). Prospects of molecular markers in *Fusarium* species diversity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(5), 1625–1639. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3209-3>
- CONAGUA. (2023). Estadísticas del agua en México 2023. Comisión Nacional del Agua. <https://www.gob.mx/conagua>

- Crous, P. W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., et al. (2021). *Fusarium*: More than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116>
- Ejaz, M. R., Jaoua, S., Ahmadi, M., & Shabani, F. (2023). Climate change effects on the future distribution of *Fusarium* spp. *Environmental Technology & Innovation*, 31, 103177. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103177>
- Fallahi, A., Ghorbani, R., Fakhraei, H., & Afshari, F. (2021). Genetic structure of *Fusarium verticillioides* populations from maize in Iran. *Fungal Genetics and Biology*, 156, 103613. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2021.103613>
- Gallardo-Reyes, E. D., Ibarra-Moreno, G. M., Cuamea-Cruz, G., & de León-García de Alba, C. (2006). Micobiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 27–34.
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3), 307–321. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6, 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- Leslie, J. F., Anderson, L. L., Bowden, R. L., & Lee, Y.-W. (2007). Inter- and intra-specific genetic variation in *Fusarium*. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.059>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing.
- Leyva-Madrigal, K. Y., Larralde-Corona, C. P., Apodaca-Sánchez, M. A., et al. (2015). *Fusarium* species from the *Fusarium fujikuroi* species complex involved in mixed infections of maize in northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology*, 163(6), 486–497. <https://doi.org/10.1111/jph.12346>
- 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>
- Munkvold, G. P. (2003). Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review of Phytopathology*, 41, 99–116. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.41.052002.095510>
- Munkvold, G. P., & Desjardins, A. E. (1997). Fumonisins in maize: Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*, 81(6), 556–565. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.6.556>

- O'Donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M. G., et al. (2010). Internet-accessible DNA sequence database for identifying *Fusarium* from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(10), 3708–3718. <https://doi.org/10.1128/JCM.00989-10>
- O'Donnell, K., Whitaker, B. K., Laraba, I., et al. (2022). DNA sequence-based identification of *Fusarium*: A work in progress. *Plant Disease*, 106(6), 1597–1609. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-2035-SR>
- Reid, L. M., Hamilton, R. I., & Mather, D. E. (1996). Screening maize for resistance to Gibberella ear rot. Agriculture and Agri-Food Canada.
- Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: Current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 323–339. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>
- Torres-Cruz, T. J., Whitaker, B. K., Proctor, R. H., et al. (2022). FUSARIUM-ID v.3.0: An updated resource for species identification. *Plant Disease*, 106(6), 1610–1616. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-2105-SR>
- Uribe-Cortés, T. B., Silva-Rojas, H. V., Mendoza-Onofre, L. E., Velázquez-Cruz, C., y Rebollar-Alviter, Á. (2020). Identificación de especies de *Fusarium* aisladas de semillas de maíz con base en el gen TEF-1 α . *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(1), 79–85. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.79>
- Zácamo-Velázquez, N. Y., Ireta-Moreno, J., Salinas-Moreno, Y., et al. (2022). Variabilidad morfológica y patogénica de *Fusarium verticillioides* en la región Ciénega–Chapala, México. *Agronomía Mesoamericana*, 34(1). <https://doi.org/10.15517/am.v34i1.49679>

CAPITULO IV. PERFILES DE MICOTOXINAS DE *Fusarium* spp. EN MAÍZ COLECTADO EN CAMPO E INOCULACIONES CONTROLADAS EN EL BAJÍO, MÉXICO

RESUMEN

Las micotoxinas producidas por *Fusarium* spp. representan un riesgo relevante para la inocuidad y el valor comercial del maíz en México. El objetivo de este capítulo fue detectar y cuantificar las fumonisinas presentes en grano de 25 híbridos de maíz blanco subtropical establecidos en catorce sitios de siembra de El Bajío, México, y evaluar su variación entre localidades, así como integrar este análisis con la detección de zearalenonas (ZEA), deoxinivalenol (DON) y fumonisinas (FUN), y con el potencial toxigénico de especies de *Fusarium* mediante inoculaciones en ensayos controlados. Se analizaron 34 muestras de grano, correspondientes a muestras compuestas de campo y a grano obtenido de inoculaciones por especie, mediante ensayos inmunocromatográficos cuantitativos (Reveal Q+). Bajo condiciones de campo, las fumonisinas presentaron una marcada variación espacial y una alta frecuencia de valores no detectables, lo que indica que su acumulación depende de combinaciones ambientales específicas durante las etapas fenológicas R1–R6. En contraste, las inoculaciones en ensayos controlados evidenciaron un potencial fumonisinigénico latente en varias especies, destacando *Fusarium sudanense* y *F. verticillioides* como los principales productores. Los análisis estadísticos confirmaron diferencias significativas entre localidades y entre especies para las micotoxinas evaluadas. En conjunto, los resultados demuestran que la contaminación por micotoxinas en grano de maíz en El Bajío es el resultado de la interacción entre el potencial toxigénico intrínseco de *Fusarium* spp. y las condiciones ambientales locales, lo que resalta la necesidad de estrategias de monitoreo regionalizadas y preventivas.

Palabras clave: *Fusarium* spp., maíz, micotoxinas, fumonisinas, deoxinivalenol, zearalenona, Bajío mexicano

CHAPTER IV. *Fusarium* spp. MYCOTOXIN PROFILES IN MAIZE BY GRAIN SAMPLING AND CONTROLLED INOCULATIONS IN THE BAJÍO, MEXICO

ABSTRAC

Mycotoxins produced by *Fusarium* spp. represent a significant risk to maize safety and commercial value in Mexico. The objective of this chapter was to detect and quantify fumonisins in grain from 25 subtropical white maize hybrids established at fourteen planting sites in the El Bajío region of Mexico, and to evaluate their variation among locations, as well as to integrate this analysis with the detection of zearalenone (ZEA), deoxynivalenol (DON), and fumonisins (FUN), and with the toxigenic potential of *Fusarium* species assessed through inoculations under controlled experimental conditions. A total of 34 grain samples were analyzed, including composite field samples and grain obtained from species-specific inoculations, using quantitative immunochromatographic assays (Reveal Q+). Under field conditions, fumonisins showed marked spatial variability and a high frequency of non-detectable values, indicating that their accumulation depends on specific environmental combinations during the R1–R6 phenological stages. In contrast, inoculations under controlled conditions revealed a latent fumonisin-producing potential in several species, with *Fusarium sudanense* and *F. verticillioides* identified as the main producers. Statistical analyses confirmed significant differences among locations and among species for the mycotoxins evaluated. Overall, the results demonstrate that mycotoxin contamination in maize grain in El Bajío results from the interaction between the intrinsic toxigenic potential of *Fusarium* spp. and local environmental conditions, highlighting the need for regionalized and preventive monitoring strategies.

Key words: *Fusarium* spp., maize, mycotoxins, fumonisins, deoxynivalenol, zearalenone, Mexican Bajío.

Master's Thesis in Plant Protection Sciences, Department of Agricultural Parasitology,
Universidad
Autónoma Chapingo
Author: Lucía Cortez Trejo
Thesis Director: S. Gerardo Leyva Mir

4.1. Introducción

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por diversos hongos que pueden contaminar los granos de maíz durante el desarrollo del cultivo o en el almacenamiento, afectando su calidad, inocuidad y valor comercial (Bacon *et al.*, 2008b; Coppock y M. Dziwenka, 2014). En países de América Latina como México, donde el maíz constituye la base alimentaria y forrajera, la presencia de micotoxinas representa un riesgo significativo para la salud humana y animal. Estas toxinas, al ingresar a la cadena alimentaria de manera directa o indirecta, pueden causar efectos gastrointestinales, metabólicos y cancerígenos dependiendo del tipo y nivel de exposición (Bianchini & Bullerman, 2014; Chen *et al.*, 2024; Xu *et al.*, 2003).

Dentro de los hongos asociados a maíz, *Fusarium* spp. es uno de los principales géneros productores de micotoxinas. Entre sus metabolitos se encuentran el deoxinivalenol (DON), zearalenona (ZEA) y, principalmente, las fumonisinas (FB), consideradas las más abundantes y de mayor importancia toxicológica (Bacon, 1992; Desjardins *et al.*, 2000). Los granos contaminados presentan menor valor nutricional y económico (Sun *et al.*, 2023) y, en animales, la ingestión de fumonisinas puede provocar leucoencefalomalacia en caballos y edema pulmonar en cerdos, además de estar relacionadas con enfermedades carcinogénicas en humanos (Blacutt *et al.*, 2018; Gelderblom *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2023).

La familia de fumonisinas del grupo B, FB1, FB2 y FB3, es sintetizada principalmente por *F. verticillioides* y especies afines. De estas, la fumonisina B1 (FB1) es la más abundante y estudiada, pues puede representar más del 75% del total de fumonisinas detectadas en maíz (De la Torre *et al.*, 2013; Proctor *et al.*, 2006). Sin embargo, la capacidad de producción de estas toxinas puede variar entre cepas de este patógeno, lo que explica por qué en campo se observa una amplia heterogeneidad en la contaminación del grano. Esta variación depende de la interacción entre el hongo, las condiciones ambientales durante el llenado del grano y el sustrato disponible para su crecimiento (Bluhm *et al.*, 2008; Flaherty *et al.*, 2003).

En El Bajío mexicano, una región altamente productora de maíz, la presencia de *Fusarium* spp. y sus micotoxinas ha sido reportada en diversas etapas del cultivo. Factores como la variación climática, el manejo agronómico, el daño por insectos y las condiciones poscosecha influyen directamente en la frecuencia y concentración de fumonisinas en grano (Gallardo-Reyes *et al.*, 2006; Zácamo-Velázquez *et al.*, 2022). No obstante, existe poca información actualizada sobre la variabilidad en la capacidad toxigénica de aislados locales, así como sobre el mapeo regional de la contaminación en estados clave como Guanajuato, Jalisco y Michoacán.

En este contexto, evaluar si las 20 cepas aisladas en este estudio son capaces de producir fumonisinas mediante pruebas de inoculación, así como determinar la presencia y concentración de micotoxinas en grano recolectado en los tres estados de El Bajío, es fundamental para comprender el riesgo real que representan estas especies en la región. Este capítulo integra los principales antecedentes sobre micotoxinas asociadas a *Fusarium*, su impacto en la salud y la agricultura, y la importancia de su monitoreo regional como base para el análisis y discusión de los resultados del presente estudio.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Origen de las muestras

Para el análisis de micotoxinas en grano de maíz se empleó un muestreo compuesto. El estudio incluyó grano proveniente de 25 híbridos comerciales de maíz, establecidos originalmente en 14 sitios de siembra distribuidos en los estados de Guanajuato, Jalisco y Michoacán, en la región del Bajío mexicano. Sin embargo, para el análisis estadístico se contó finalmente con información completa de 11 sitios de muestreo, los cuales fueron considerados en el presente estudio.

Dentro de cada sitio de siembra, las muestras de grano correspondientes a los distintos híbridos se unificaron y homogenizaron, con el objetivo de obtener muestras representativas a nivel de sitio. A partir de este proceso se conformaron

dos muestras compuestas de 1 kg por sitio, las cuales se consideraron unidades experimentales independientes, resultando en dos repeticiones por sitio de muestreo para el análisis de micotoxinas. Este enfoque permitió evaluar la presencia y concentración de micotoxinas a nivel de sitio; sin embargo, no se realizaron inferencias estadísticas por híbrido individual, debido a la naturaleza del muestreo compuesto.

De manera complementaria, y con el fin de evaluar el potencial micotoxigénico bajo condiciones controladas, se incluyeron en el análisis mazorcas inoculadas durante las pruebas de patogenicidad con las seis especies de *Fusarium* identificadas en el estudio. Para este ensayo se colectaron 2 kg de grano por especie, con la finalidad de obtener dos repeticiones por especie.

En total, se analizaron 34 muestras de grano, de las cuales 22 correspondieron a muestras compuestas provenientes de campo y 12 a muestras provenientes de las pruebas de patogenicidad. Las mazorcas se colectaron con un contenido aproximado de 12 % de humedad, posteriormente se desgranaron, etiquetaron y almacenaron en bolsas tipo Ziploc®, para su envío y análisis en el Laboratorio de Calidad de Maíz del CIMMYT, en Texcoco, Estado de México.

4.2.2. Análisis de micotoxinas

El análisis de micotoxinas se realizó en el Laboratorio de Calidad de Maíz en el CIMMYT mediante ensayos inmunocromatográficos cuantitativos utilizando kits comerciales de la marca NEOGEN, específicamente Reveal Q+ para zearalenonas, Reveal Q+ para fumonisinas y Reveal Q+ para deoxinivalenol (DON), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Cada muestra compuesta, se obtuvo una muestra representativa de 10 g de grano, la cual fue previamente molida y pesada. Posteriormente, se realizó la extracción de micotoxinas utilizando etanol al 65 % (v/v) como solvente. Para las determinaciones de fumonisinas y DON, se adicionaron 50 mL de etanol al 65 %, mientras que para el análisis de zearalenonas se utilizaron 30 mL. Las mezclas se agitaron vigorosamente durante 3 minutos, según lo recomendado para cada analito.

Tras la agitación, las muestras se dejaron reposar durante 5 minutos y posteriormente se filtraron para obtener el extracto. De este extracto, se tomaron 200 μ L, los cuales se colocaron en el recipiente rojo de dilución proporcionado por el kit. A continuación, se añadieron 100 μ L del extracto diluido y se homogenizó la mezcla aspirando y expulsando el líquido con una pipeta en cinco ocasiones. Posteriormente, se transfirieron 100 μ L de la solución final al recipiente de muestra.

Se colocó una tira Reveal Q+ específica para cada micotoxina en el recipiente de muestra y se configuró un tiempo de reacción de 6 minutos. Al término de este periodo, las tiras fueron retiradas e interpretadas mediante el lector AccuScan Gold, el cual permitió la lectura cuantitativa de las concentraciones de micotoxinas expresadas en partes por billón (ppb).

4.2.3. Variables climáticas

Los datos de temperatura promedio ($^{\circ}$ C), humedad relativa promedio (%) y precipitación pluvial (mm) correspondientes a cada sitio de muestreo se obtuvieron a partir de la base de datos climáticos de la plataforma NASA POWER (Prediction of Worldwide Energy Resources), utilizando coordenadas geográficas representativas de cada municipio. La información climática se recopiló considerando los últimos cuatro meses del ciclo de desarrollo del cultivo de maíz, correspondientes a las etapas fenológicas R1 a R6 (floración, llenado y maduración del grano), ya que diversos estudios reportan que durante este periodo se presentan las condiciones ambientales más favorables para la infección por especies de *Fusarium* y la biosíntesis de micotoxinas en el grano, particularmente fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON) (Pitt y Hocking, 2009; Munkvold, 2017; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019; Jouany *et al.*, 2023).

La precipitación pluvial se expresó como precipitación mensual acumulada estimada (mm), calculada a partir del promedio diario de precipitación obtenido para cada sitio, multiplicado por un periodo de 30 días, con el fin de estandarizar la comparación de la disponibilidad hídrica entre sitios durante las etapas

fenológicas R1–R6. Las variables climáticas se utilizaron para describir e interpretar las condiciones ambientales asociadas a la presencia y concentración de micotoxinas en las muestras analizadas.

4.2.4. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) y se efectuaron por separado para las muestras provenientes de sitios de muestreo y para las muestras provenientes de pruebas de patogenicidad (inoculaciones). En ambos casos, los datos de concentración de fumonisinas, zearalenonas y deoxinivalenol (DON) se analizaron considerando como unidad experimental cada muestra compuesta de grano.

Previo al análisis de varianza, se evaluaron los supuestos de normalidad de los residuales mediante pruebas de bondad de ajuste. Las variables ZEA y DON cumplieron con el supuesto de normalidad; en contraste, la variable FUN no cumplió dicho supuesto debido a la alta proporción de valores cero en los datos. No obstante, todas las variables se analizaron mediante un Modelo Lineal General (GLM), sin recurrir a transformaciones adicionales de los datos.

Para cada micotoxina se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y, cuando se detectaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Adicionalmente, se efectuaron contrastes para evaluar comparaciones específicas entre grupos, reportando tanto los contrastes estadísticamente significativos como aquellos que no resultaron significativos.

Los resultados se consideraron altamente significativos cuando $p < 0.01$.

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1. Micotoxinas en sitios de muestreo (condiciones de campo)

En este apartado se evaluaron y discutieron los resultados del análisis de fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON) en grano de maíz proveniente de sitios de muestreo bajo condiciones de campo en la región de El Bajío mexicano. Las concentraciones promedio de las micotoxinas detectadas por sitio de muestreo, así como las comparaciones estadísticas entre sitios, se resumieron en la Tabla 9, la cual integró las tres variables respuesta en una sola matriz para facilitar su interpretación. Adicionalmente, se evaluó el efecto de variables climáticas mediante contrastes, cuyos resultados se presentan en la Tabla 10. Finalmente, los datos se consolidaron empleando un análisis multivariado con el fin de identificar patrones conjuntos de comportamiento micotoxigénico entre sitios, con énfasis en su variación espacial, relevancia sanitaria y relación con las condiciones ambientales predominantes durante las etapas fenológicas del cultivo.

Tabla 9. Valores promedio de zearalenonas, deoxinivalenol y fumonisinas, en grano de maíz durante la etapa de formación y maduración del grano (R1–R6) en diferentes sitios de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.

Sitio	Zearalenonas (ppb)	Deoxinivalenol (ppb)	Fumonisinas (ppb)
Maravatío	102.5 a	825.0 c	0.0 d
Copándaro	88.75 b	730.0 c	47.5 c
Zamora	67.30 c	1425.0 a	0.0 d
San Juan de los Lagos	44.75 d	112.5 e	222.5 a
Zapopan	19.25 e	400.0 d	250.0 a
Lagos de Moreno	15.40 e	370.0 d	102.5 b
Juanacatlán	12.55 e	1200.0 b	0.0 d
Celaya	2.15 f	80.0 e	0.0 d
Valle de Santiago	1.50 f	102.5 e	0.0 d
Cortazar	1.00 f	177.5 e	0.0 d
Juventino Rosas	0.75 f	157.5 e	0.0 d
DSH**	9.31	120.7	32.46
Prob.	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Nota: Medias con la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencias estadísticamente significativas (prueba de Tukey, $\alpha = 0.05$).

**DSH: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

Tabla 10. Resultados de los contrastes definidos con base en variables climáticas durante las etapas fenológicas R1–R6 en sitios de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.

Contraste (criterio cuantitativo)	ZEA (p)	DON (p)	FUN (p)
Temperatura promedio ≤ 18.5 °C vs. > 18.5 °C	<0.0001	<0.01	<0.0001
Humedad relativa promedio ≤ 72 % vs. > 72 %	0.8103	<0.01	0.0089
Precipitación mensual acumulada estimada ≤ 90 mm vs. > 90 mm	0.1294	<0.01	<0.0001

Nota. Se presentan los valores de significancia estadística (p) obtenidos para la comparación de la producción de zearalenona (ZEA), deoxinivalenol (DON) y fumonisinas (FUN) entre categorías de variables climáticas cuantitativas. Los contrastes se realizaron entre dos niveles definidos por umbrales de temperatura promedio (≤ 18.5 °C vs. > 18.5 °C), humedad relativa promedio (≤ 72 % vs. > 72 %) y precipitación mensual acumulada estimada (≤ 90 mm vs. > 90 mm). Valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

4.3.1.1. Zearalenonas (ZEA)

Las concentraciones de zearalenonas (ZEA) detectadas en grano de maíz presentaron una variación significativa entre sitios, con valores promedio que oscilaron entre 0.75 y 102.5 ppb. El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre sitios de muestreo ($F = 513.95$; $p < 0.0001$), explicando el modelo el 99.8 % de la variación total observada ($R^2 = 0.9979$).

La comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) permitió identificar grupos estadísticamente diferenciados entre los sitios evaluados. El sitio de Maravatío presentó la concentración promedio más alta de zearalenonas (102.5 ppb), seguido de Copándaro (88.75 ppb) y Zamora (67.3 ppb). Valores intermedios se registraron en San Juan de los Lagos (44.75 ppb), mientras que Zapopan, Lagos de Moreno y Juanacatlán presentaron concentraciones bajas. Los valores más reducidos se observaron en Celaya, Valle de Santiago, Cortazar y Juventino Rosas, con concentraciones cercanas o iguales a cero, sin diferencias significativas entre estos sitios (Figura 32).

El análisis de contrastes indicó que la comparación entre sitios con temperatura promedio ≤ 18.5 °C y > 18.5 °C fue altamente significativa ($p < 0.0001$), mientras

que los contrastes asociados a humedad relativa y precipitación mensual acumulada estimada no resultaron estadísticamente significativos, lo que sugiere que la temperatura fue el factor climático con mayor peso explicativo en la variación espacial de ZEA bajo las condiciones evaluadas.

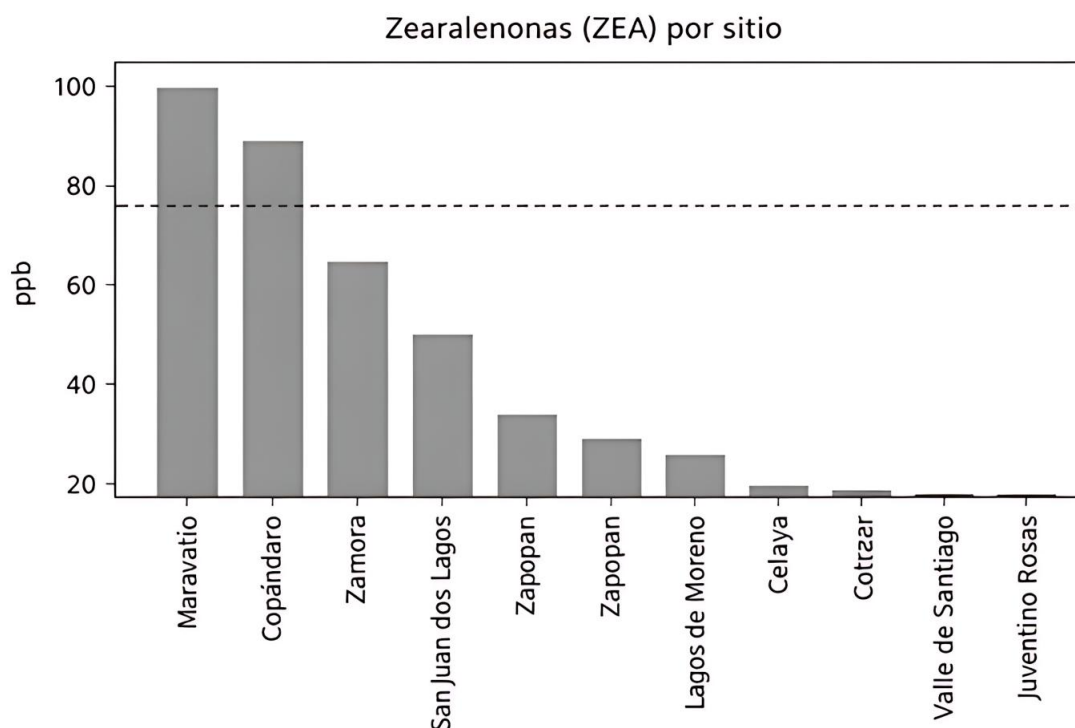


Figura 32. Concentración promedio de zearalenonas (ZEA, ppb) detectadas en grano de maíz por sitio de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.

Las barras representan los valores promedio por sitio. La línea discontinua indica un valor de referencia para la interpretación de los niveles de ZEA.

Discusión

La variabilidad espacial observada en las concentraciones de zearalenonas concuerda con reportes previos que señalan que la producción de esta micotoxina por especies de *Fusarium* se encuentra estrechamente asociada a condiciones térmicas específicas durante las etapas de llenado y maduración del grano (R1–R6), así como a la interacción con otros factores ambientales (Zinedine *et al.*, 2007; EFSA, 2016; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019). En particular, se ha documentado que temperaturas moderadas a cálidas favorecen la colonización del grano y la activación de rutas biosintéticas asociadas a ZEA, aun en ausencia de síntomas externos evidentes.

El comportamiento observado en Maravatío, que presentó la mayor concentración promedio de zearalenonas, sugiere la presencia de condiciones microclimáticas favorables para la síntesis de esta micotoxina. De acuerdo con los datos climáticos obtenidos de la plataforma NASA POWER, este sitio se caracterizó durante las etapas R1–R6 por temperaturas promedio superiores a 18.5 °C, acompañadas de condiciones térmicas relativamente estables durante el llenado del grano. En contraste, los sitios que registraron concentraciones cercanas o iguales a cero compartieron condiciones térmicas más bajas, lo que podría haber limitado tanto la colonización del grano como la expresión del potencial micotoxigénico.

Desde el punto de vista sanitario, es relevante destacar que algunos sitios, incluido Maravatío, superaron el valor de referencia para consumo humano (75 ppb), aunque todas las concentraciones se mantuvieron por debajo del límite de referencia para consumo animal (500 ppb). Este patrón resalta la importancia de evaluar el riesgo micotoxigénico a escala regional y bajo un enfoque preventivo, particularmente en zonas donde el maíz se destina al autoconsumo, y refuerza la necesidad de estrategias de monitoreo focalizadas en sitios con condiciones ambientales predisponentes para la producción de zearalenonas (Muñoz-Zavala *et al.*, 2025).

4.3.1.2. Deoxinivalenol (DON)

Las concentraciones de deoxinivalenol (DON) presentaron una variación significativa entre sitios, con valores promedio que oscilaron entre 80.0 y 1 425.0 ppb. El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas ($p < 0.0001$).

La comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) permitió identificar grupos estadísticamente diferenciados entre los sitios evaluados. El sitio de Zamora presentó la concentración promedio más alta de DON (1 425.0 ppb), seguido de Juanacatlán (1 200.0 ppb). Un segundo grupo con valores elevados estuvo conformado por Maravatío (825.0 ppb) y Copándaro (730.0 ppb). Valores intermedios se registraron en Zapopan (400.0 ppb) y Lagos de Moreno

(370.0 ppb), mientras que las concentraciones más bajas se observaron en Celaya (80.0 ppb), Valle de Santiago (102.5 ppb), Cortazar (177.5 ppb) y Juventino Rosas (157.5 ppb), sin diferencias significativas entre estos últimos (Figura 33).

Los contrastes indicaron efectos significativos de temperatura, humedad relativa y precipitación mensual acumulada estimada ($p < 0.01$), lo que sugiere que la variación de DON responde a la interacción de múltiples factores ambientales.

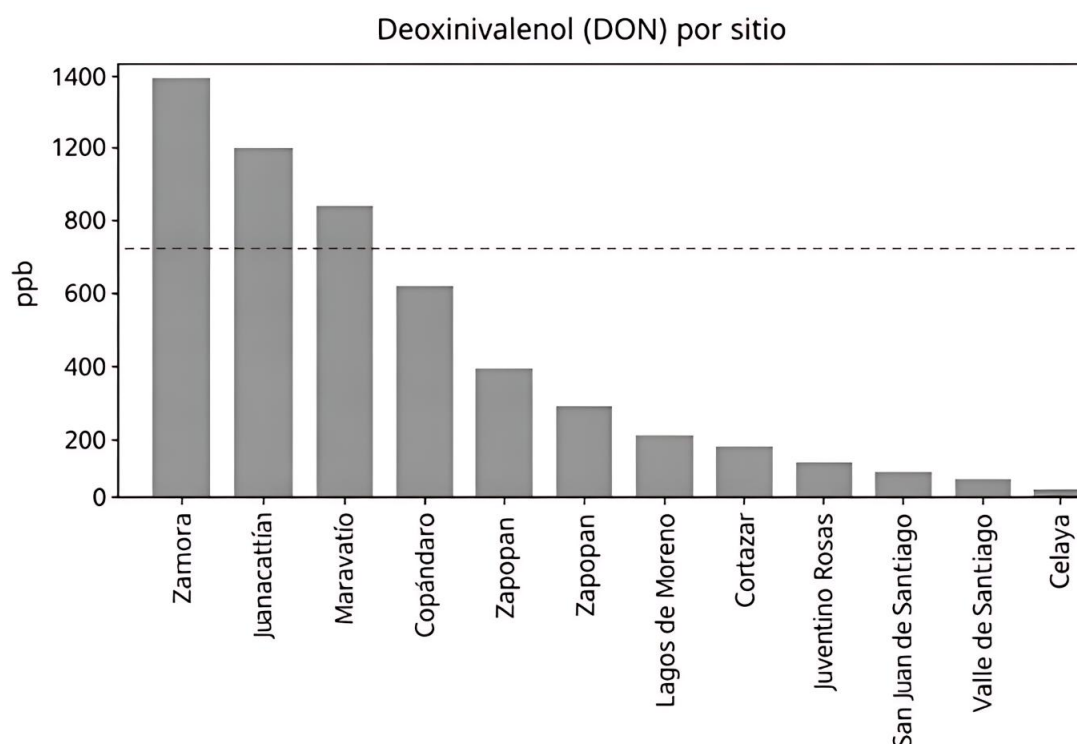


Figura 33. Concentración promedio de deoxinivalenol (DON, ppb) detectada en grano de maíz por sitio de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.

Las barras representan los valores promedio por sitio. La línea discontinua indica un valor de referencia para la interpretación de los niveles de DON.

Discusión

La distribución espacial del deoxinivalenol (DON) observada en los sitios de muestreo concuerda con reportes previos que asocian su producción principalmente a especies del complejo *Fusarium sambucinum*, bajo condiciones caracterizadas por temperaturas moderadas y alta disponibilidad hídrica durante las etapas de llenado y maduración del grano (Pestka, 2010; Sobrova *et al.*, 2010; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019). La significancia de los contrastes asociados tanto

a temperatura como a humedad relativa y precipitación confirma que la síntesis de DON responde a la interacción simultánea de temperatura y disponibilidad hídrica, a diferencia de lo observado para zearalenonas, donde la temperatura mostró un efecto predominante.

Los valores elevados registrados en Zamora y Juanacatlán sugieren la presencia de ambientes particularmente favorables para la colonización del grano y la biosíntesis de DON. De acuerdo con los datos climáticos obtenidos de la plataforma NASA POWER, ambos sitios se caracterizaron por temperaturas promedio superiores a 18.5 °C, humedad relativa promedio mayor a 72 % y precipitaciones mensuales acumuladas estimadas por encima de 90 mm. Estas condiciones favorecen tanto el desarrollo del patógeno como la activación de rutas biosintéticas relacionadas con la producción de tricotecenos (Blandino *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2023).

Desde el punto de vista sanitario, los resultados evidenciaron que varios sitios superaron el límite máximo de referencia para consumo humano (750 ppb), particularmente Zamora, Juanacatlán y Maravatío, aunque todas las concentraciones se mantuvieron por debajo del umbral establecido para consumo animal (5 000 ppb) (Comisión Europea, 2006; Reglamento (UE) 2023/915; FAO/WHO, 2019).

4.3.1.3. Fumonisin (FUN)

Las concentraciones de fumonisin (FUN) mostraron una alta variabilidad espacial, con valores promedio entre 0 y 250 ppb y una elevada frecuencia de valores no detectables. El análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas entre sitios ($F = 267.11$; $p < 0.0001$), explicando el 99.6 % de la variación total ($R^2 = 0.9959$).

La prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) permitió identificar grupos estadísticamente diferenciados. Los valores más altos de fumonisin se registraron en los sitios de Zapopan (250.0 ppb) y San Juan de los Lagos (222.5 ppb), los cuales conformaron el grupo con las medias significativamente mayores. En contraste, Lagos de Moreno (102.5 ppb) y

Copándaro (47.5 ppb) presentaron valores intermedios, mientras que el resto de los sitios (Celaya, Juventino Rosas, Maravatío, Juanacatlán, Valle de Santiago, Zamora y Cortazar) registraron valores no detectables (0 ppb), sin diferencias significativas entre ellos.

Los contrastes mostraron efectos altamente significativos de temperatura, humedad relativa y precipitación mensual acumulada estimada, indicando una fuerte influencia de las condiciones ambientales sobre la concentración de fumonisinas en grano.

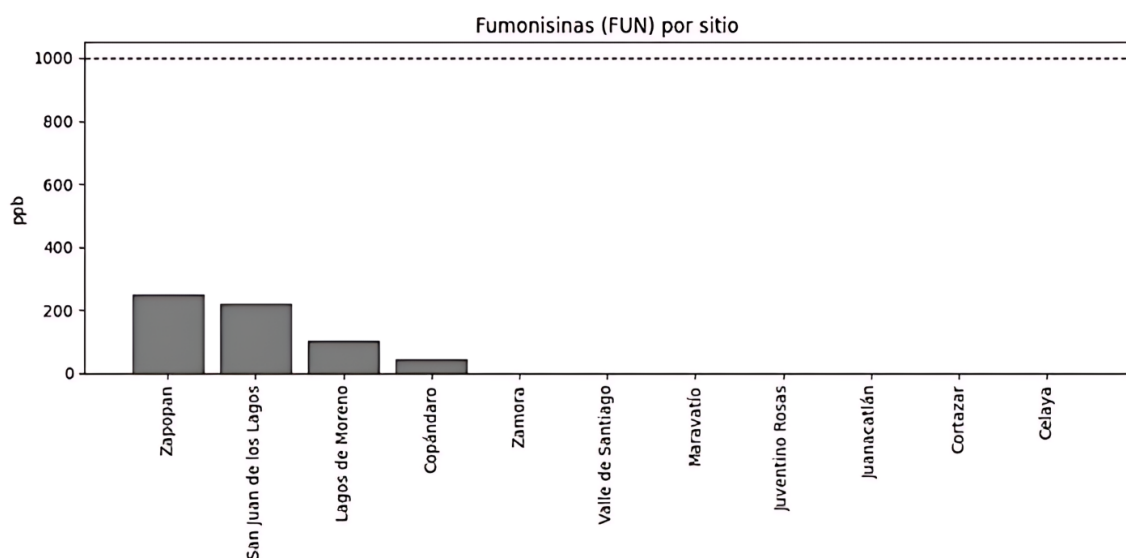


Figura 34. Concentración promedio de fumonisinas (FUN, ppb) detectada en grano de maíz por sitio de muestreo bajo condiciones de campo en El Bajío mexicano.

Las barras representan los valores promedio por sitio. La línea discontinua indica un valor de referencia para la interpretación de los niveles de fumonisinas.

Discusión

La presencia de valores nulos de fumonisinas en la mayoría de los sitios evaluados sugiere que la contaminación por esta micotoxina no es homogénea en la región de estudio y depende de manera marcada de combinaciones específicas de condiciones ambientales locales durante las etapas fenológicas R1 a R6, periodo crítico para la colonización del grano y la biosíntesis de micotoxinas. Este patrón es consistente con reportes previos que señalan que la producción de fumonisinas por especies de *Fusarium*, particularmente *F. verticillioides*, se ve favorecida por temperaturas cálidas y condiciones de estrés hídrico intermitente, más que por ambientes persistentemente húmedos (Desjardins, 2006; Marín *et al.*, 2010; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019).

La significancia del contraste asociado a la temperatura promedio respalda la importancia de este factor como determinante principal en la acumulación de fumonisinas, mientras que la significancia de los contrastes asociados a humedad relativa y precipitación indica que la interacción entre disponibilidad hídrica y temperatura desempeña un papel clave en la expresión del potencial micotoxigénico bajo condiciones de campo. En este sentido, los sitios de Zapopan y San Juan de los Lagos, que presentaron las concentraciones promedio más elevadas de fumonisinas, se caracterizaron por temperaturas promedio superiores a 18.5 °C, humedad relativa promedio cercana o ligeramente inferior al 72 % y precipitaciones mensuales acumuladas estimadas alrededor o por debajo del umbral de 90 mm, condiciones que favorecen la síntesis de fumonisinas bajo escenarios de estrés hídrico moderado y daño fisiológico del grano (Blandino *et al.*, 2008; Marín *et al.*, 2010; Jouany *et al.*, 2023).

De manera complementaria, los sitios que registraron concentraciones no detectables de fumonisinas (Celaya, Valle de Santiago, Cortazar, Juventino Rosas, Maravatío, Juanacatlán y Zamora) compartieron condiciones climáticas que, en conjunto, resultaron menos favorables para la síntesis de esta micotoxina. Estos sitios se caracterizaron por temperaturas promedio iguales o inferiores a 18.5 °C y/o por una mayor disponibilidad hídrica, reflejada en humedades relativas promedio superiores al 72 % y precipitaciones mensuales acumuladas estimadas mayores a 90 mm. Este tipo de condiciones ha sido asociado en la literatura con una menor acumulación de fumonisinas, ya que la producción de estas toxinas suele verse favorecida por ambientes más cálidos y con estrés hídrico intermitente, más que por escenarios de humedad persistente (Desjardins, 2006; Marín *et al.*, 2010; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019). En este contexto, la ausencia de fumonisinas en estos sitios refuerza la hipótesis de que la combinación específica de temperatura elevada y limitación hídrica relativa constituye un factor clave para la expresión del potencial fumonisinigénico bajo condiciones de campo.

Desde el punto de vista sanitario, las concentraciones promedio de fumonisinas detectadas en todos los sitios se mantuvieron por debajo del límite máximo

permitido para consumo humano (1 000 ppb) y consumo animal (4 000 ppb). No obstante, la detección de valores relativamente elevados en ciertos sitios pone de manifiesto la necesidad de monitoreo continuo, especialmente en regiones donde el grano se destina al autoconsumo o a la alimentación animal sin procesos de control previos. Estos resultados confirman que, aunque la contaminación por fumonisinas puede ser baja o nula en varios ambientes, existen escenarios específicos de riesgo asociados a combinaciones particulares de temperatura y disponibilidad hídrica dentro de El Bajío mexicano, en concordancia con el contexto de variabilidad climática creciente (Muñoz-Zavala et al., 2025).

4.3.1.4. Análisis multivariado de micotoxinas en sitios de muestreo

Con el fin de evaluar de manera simultánea el comportamiento conjunto de fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON) en los sitios de muestreo, se realizó un análisis multivariado de la varianza (MANOVA) mediante el procedimiento GLM. Las cuatro pruebas multivariadas (Lambda de Wilks, traza de Pillai, traza de Hotelling–Lawley y raíz mayor de Roy) resultaron altamente significativas ($p < 0.0001$), lo que indica diferencias significativas entre los sitios cuando se consideraron de forma conjunta las tres micotoxinas.

La matriz de correlaciones parciales mostró asociaciones positivas de magnitud moderada entre ZEA y DON ($r = 0.57$), ZEA y FUN ($r = 0.47$), y DON y FUN ($r = 0.36$); no obstante, estas correlaciones no fueron estadísticamente significativas, probablemente debido al tamaño de muestra limitado para detectar asociaciones moderadas ($n = 11$).

Con base en estos resultados, se realizó un análisis de conglomerados jerárquico que permitió agrupar los sitios de muestreo de acuerdo con su similitud en el perfil micotoxigénico integrado (Figura 28). El dendrograma reveló la formación de tres grupos bien definidos: un grupo con bajo perfil micotoxigénico (Celaya, Valle de Santiago, Cortazar y Juventino Rosas), un grupo con perfil intermedio (Lagos de Moreno, San Juan de los Lagos y Zapopan), y un grupo con alto perfil micotoxigénico (Copándaro, Maravatío, Juanacatlán y Zamora).

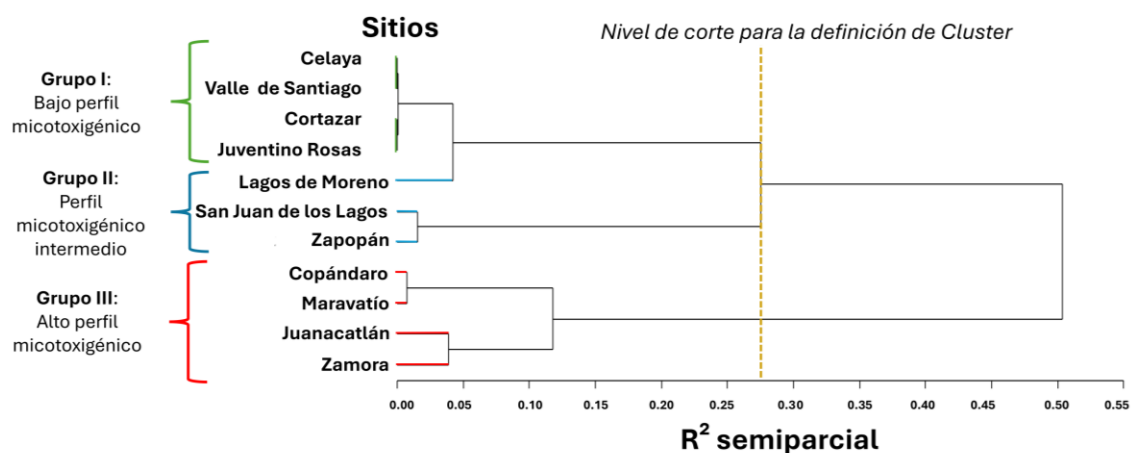


Figura 35. Dendrograma de agrupamiento jerárquico de sitios de muestreo bajo condiciones de campo en la región del Bajío mexicano.

Construido a partir de las concentraciones promedio de fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON) en grano de maíz durante las etapas R1–R6. El nivel de corte (línea punteada) definió tres conglomerados con perfiles micotoxigénicos contrastantes.

Discusión

El análisis multivariado permitió integrar simultáneamente la información de fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON), revelando patrones de agrupamiento entre sitios que no son completamente evidentes a partir de los análisis univariados. El dendrograma obtenido permitió identificar tres conglomerados principales de sitios, los cuales presentaron perfiles micotoxigénicos contrastantes y estuvieron asociados a diferencias cuantificables en las condiciones ambientales durante las etapas fenológicas R1–R6 del cultivo de maíz. En concordancia con estudios que documentan que la acumulación conjunta de micotoxinas en maíz responde a la interacción entre temperatura, humedad relativa y precipitación durante el llenado del grano (Czembor *et al.*, 2015; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019; Muñoz-Zavala *et al.*, 2025).

El Grupo I (bajo perfil micotoxigénico), conformado por Celaya, Valle de Santiago, Cortazar y Juventino Rosas, se caracterizó por concentraciones bajas o nulas de las tres micotoxinas evaluadas. Estos sitios compartieron temperaturas promedio iguales o inferiores a 18.5 °C, humedad relativa promedio menor a 72 % y precipitaciones mensuales acumuladas estimadas generalmente por debajo de 90 mm, condiciones que, de acuerdo con los contrastes, no favorecieron significativamente la acumulación de ZEA, DON ni FUN. Estudios previos han

documentado que temperaturas moderadas a bajas, combinadas con menor humedad ambiental o periodos secos durante R1–R6, limitan tanto la colonización del grano por especies de *Fusarium* como la biosíntesis de micotoxinas (Marín *et al.*, 2010; Czembor *et al.*, 2015). En conjunto, este patrón sugiere escenarios de menor riesgo micotoxigénico bajo las condiciones de campo evaluadas.

El Grupo II (perfil micotoxigénico intermedio) estuvo integrado por Lagos de Moreno, San Juan de los Lagos y Zapopan, sitios que presentaron concentraciones moderadas del perfil micotoxigénico integrado, particularmente fumonisinas y/o deoxinivalenol. Desde el punto de vista ambiental, estos sitios se ubicaron en un rango intermedio, con temperaturas promedio superiores a 18.5 °C, humedad relativa cercana o ligeramente superior al 72 %, y precipitaciones mensuales acumuladas alrededor del umbral de 90 mm. Estas condiciones coinciden con reportes que indican que rangos térmicos moderados, combinados con humedad intermedia o fluctuante, pueden favorecer la producción de fumonisinas y DON sin alcanzar los niveles máximos observados bajo ambientes más húmedos o con estrés hídrico marcado (Rosa Júnior *et al.*, 2019; Janić Hajnal *et al.*, 2023). Este grupo podría representar ambientes transicionales donde la expresión del potencial micotoxigénico depende de la interacción temporal de los factores climáticos.

El Grupo III (alto perfil micotoxigénico) estuvo integrado por Copándaro, Maravatío, Juanacatlán y Zamora, sitios que concentraron las mayores concentraciones promedio de DON y ZEA, y en algunos casos valores elevados cercanos o superiores a los límites máximos permitidos para consumo humano. Este grupo se caracterizó por temperaturas promedio superiores a 18.5 °C, humedad relativa promedio mayor a 72 % y precipitaciones mensuales acumuladas estimadas superiores a 90 mm, combinación de factores que resultó estadísticamente significativa en los contrastes para DON y FUN, y parcialmente para ZEA. Diversos estudios han señalado que ambientes con temperaturas moderadas a cálidas y alta disponibilidad hídrica durante el llenado y maduración del grano favorecen la colonización por especies del complejo *Fusarium*

graminearum y la acumulación de DON y ZEA, particularmente bajo periodos prolongados de humedad (Czembor *et al.*, 2015; Janić Hajnal *et al.*, 2023).

En conjunto, el análisis MANOVA y el agrupamiento jerárquico confirmaron que la variación micotoxigénica en El Bajío mexicano responde a la interacción de múltiples factores ambientales, más que a un solo determinante climático. Este enfoque integrador permite identificar zonas con comportamiento micotoxigénico similar y aporta información relevante para la regionalización del riesgo, el diseño de estrategias de monitoreo focalizadas y la toma de decisiones en manejo preventivo de micotoxinas, especialmente en contextos donde el maíz se destina al autoconsumo o a cadenas cortas de comercialización.

4.3.2. Micotoxinas en pruebas de patogenicidad (inoculaciones)

Con el fin de evaluar la capacidad toxigénica de las seis especies de *Fusarium* caracterizadas en este estudio y asociadas al maíz, se cuantificaron fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON) en grano proveniente de pruebas de patogenicidad realizadas mediante inoculaciones en campo experimental bajo un diseño controlado, en Celaya, Guanajuato. Estas pruebas permiten confirmar el potencial de producción de micotoxinas de cada especie, independientemente de las condiciones ambientales naturales observadas en los sitios de muestreo, y contribuyen a comprender la relación entre patogenicidad y toxigenicidad.

Tabla 11. Concentraciones promedio de fumonisinas (FUN), zearalenonas (ZEA) y deoxinivalenol (DON) en grano de maíz inoculado con seis especies de *Fusarium* bajo condiciones de campo experimental en Celaya, Guanajuato.

Especie (Inóculo)	ZEA (ppb)	DON (ppb)	FUN (ppb)
<i>F. boothii</i>	2000.0 a	45600.0 a	795.0 c
<i>F. sudanense</i>	255.45 b	309.0 b	2225.0 a
<i>F. andiyazi</i>	184.35 c	73.5 b	455.0 d
<i>F. verticillioides</i>	136.40 d	810.0 b	1875.0 b
<i>F. subglutinans</i>	127.30 d	357.5 b	890.0 c
<i>F. temperatum</i>	26.15 e	235.0 b	525.0 d
DSH**	12.08	1404.2	110.79
Prob.	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Medias con la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencias estadísticamente significativas (prueba de Tukey, $\alpha = 0.05$).

**DSH: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

Adicionalmente, se evaluaron contrastes puntuales entre pares de especies; sin embargo, debido a que estos corresponden a comparaciones 1 vs 1 y no aportan información adicional a la obtenida mediante las comparaciones múltiples de medias (prueba de Tukey), dichos contrastes no se utilizaron como base principal para la interpretación de los resultados.

4.3.2.1. Zearalenonas (ZEA)

En las pruebas de patogenicidad realizadas en campo experimental, la producción de zearalenonas (ZEA) mostró diferencias altamente significativas entre las seis especies de *Fusarium* evaluadas (ANOVA, $p < 0.0001$). La comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) evidenció un ranking claro de capacidad zearalenonigénica, en el cual *Fusarium boothii* presentó la concentración promedio más alta (2000 ppb), seguido por *F. sudanense* (255.45 ppb) y *F. andiyazi* (184.35 ppb). En un nivel inferior se ubicaron *F. verticillioides* (136.40 ppb) y *F. subglutinans* (127.30 ppb), mientras que *F. temperatum* registró la concentración más baja (26.15 ppb) (Figura 36, Tabla 11).

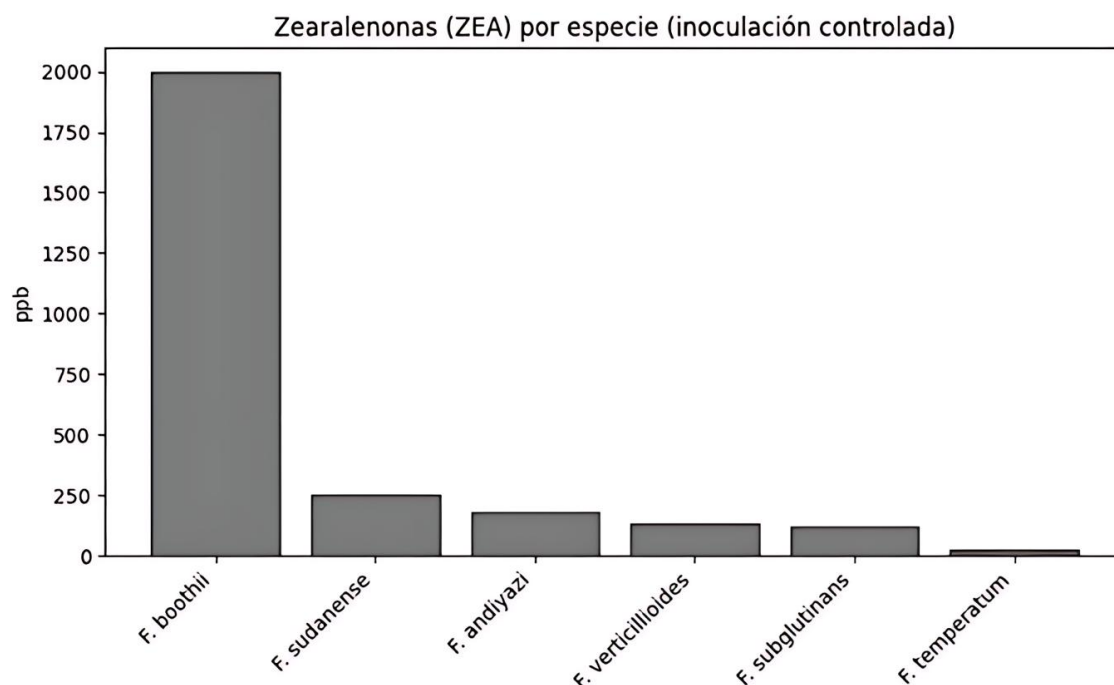


Figura 36. Producción promedio de zearalenonas (ZEA, ppb) por especies de *Fusarium* bajo condiciones de inoculación controlada.

Discusión

La elevada producción de ZEA observada en *F. boothii* concuerda con lo reportado para especies del complejo *Fusarium graminearum*, ampliamente reconocidas como productoras de zearalenonas en cereales. Diversos estudios han señalado que la biosíntesis de ZEA puede incrementarse notablemente bajo condiciones de infección establecida y ambientes favorables, aun cuando en condiciones de campo natural su detección sea variable o limitada (Foods, 2022). En este sentido, las pruebas de patogenicidad permiten revelar el potencial toxigénico intrínseco de las especies, eliminando la variabilidad ambiental presente en los sitios de muestreo.

La literatura indica que la producción de zearalenonas en *Fusarium* está fuertemente modulada por factores ambientales como temperatura, disponibilidad hídrica y estado fisiológico del hospedero, los cuales regulan la activación de las rutas biosintéticas involucradas (Foods, 2022; NIH PMC, 2023). Bajo condiciones controladas de inoculación, como las empleadas en este estudio, dichas rutas pueden expresarse con mayor intensidad, lo que explica las

concentraciones elevadas detectadas en *F. boothii* en comparación con los valores registrados en campo natural.

La detección de niveles intermedios de ZEA en *F. sudanense* y *F. andiyazi* sugiere que estas especies poseen la capacidad de producir zearalenonas cuando se establecen infecciones activas en el grano. Aunque estas especies no han sido tradicionalmente consideradas como las principales productoras de ZEA en maíz, estudios experimentales han demostrado que la infección por *Fusarium* en tejidos de maíz puede inducir la acumulación de micotoxinas bajo condiciones favorables para el patógeno (APS, 2016). Este hallazgo amplía el espectro de especies con potencial zearalenonigénico y resalta la importancia de evaluarlas bajo escenarios controlados.

En contraste, las bajas concentraciones observadas en *F. verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. temperatum* indican una capacidad limitada para la producción de ZEA bajo las condiciones evaluadas. Este comportamiento es consistente con reportes previos que señalan que estas especies están más frecuentemente asociadas con otros perfiles micotoxigénicos y que su contribución a la acumulación de zearalenonas en maíz suele ser secundaria (Foods, 2022).

Al comparar estos resultados con los obtenidos en los sitios de muestreo bajo condiciones de campo natural, se refuerza la idea de que la ausencia o baja detección de ZEA en campo no implica necesariamente la ausencia de especies productoras. Por el contrario, la expresión de esta micotoxina depende de la interacción entre el genotipo del patógeno, el hospedero y las condiciones ambientales durante las etapas críticas del desarrollo del grano. En este contexto, las pruebas de patogenicidad constituyen una herramienta clave para identificar un riesgo zearalenonigénico latente que podría manifestarse en ciclos agrícolas con condiciones predisponentes.

Desde una perspectiva sanitaria y de manejo fitosanitario, la alta producción de ZEA observada en *F. boothii* bajo condiciones experimentales sugiere que la presencia de esta especie en sistemas de producción de maíz representa un riesgo potencial, particularmente si coinciden factores ambientales favorables

durante el llenado y maduración del grano. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de profundizar en estudios dirigidos a la identificación y expresión de genes involucrados en la biosíntesis de zearalenonas, con el fin de fortalecer la evaluación del riesgo micotoxigénico y el diseño de estrategias preventivas (NIH PMC, 2023).

4.3.2.2. Deoxinivalenol (DON)

En las pruebas de patogenicidad realizadas en campo experimental, la producción de deoxinivalenol (DON) mostró diferencias altamente significativas entre las seis especies de *Fusarium* evaluadas (ANOVA, $p < 0.0001$). Dado que las concentraciones de DON difirieron en varios órdenes de magnitud entre especies, la gráfica de barras (Figura 37) se construyó utilizando una escala logarítmica en el eje de concentraciones, lo que permitió una visualización adecuada de las diferencias relativas entre tratamientos. La comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) evidenció una separación marcada de *Fusarium boothii* respecto al resto de los tratamientos. De acuerdo con la Tabla 11, *F. boothii* registró concentraciones promedio de DON extraordinariamente superiores (45 600 ppb), mientras que las demás especies (*F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. sudanense*, *F. temperatum* y *F. andiyazi*) conformaron un grupo estadísticamente homogéneo con valores considerablemente menores (≤ 810 ppb).

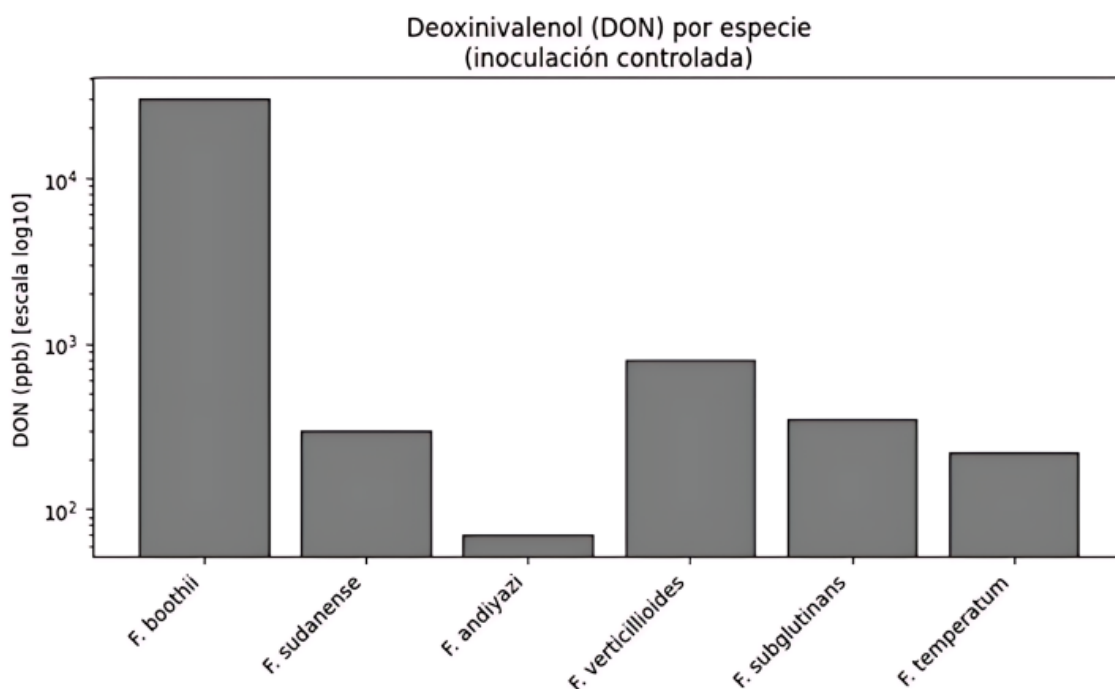


Figura 37. Producción promedio de deoxinivalenol (DON, ppb) por especies de *Fusarium* bajo condiciones de inoculación controlada.

Discusión

La producción de DON se asocia principalmente a especies del complejo *Fusarium graminearum* (FGSC), y constituye una de las micotoxinas tricotecénicas de mayor importancia sanitaria y económica en cereales como maíz, trigo y cebada, debido a su toxicidad y frecuencia de ocurrencia en granos destinados a consumo humano y animal (Döll y Dänicke, 2011). En este contexto, la magnitud de los valores observados en *F. boothii* es consistente con su pertenencia al complejo *Fusarium sambucinum* muy cercano a FGSC y con el papel central que estas especies desempeñan en la biosíntesis de DON en sistemas agrícolas.

La marcada diferencia observada entre *F. boothii* y el resto de las especies evaluadas sugiere que la capacidad de producción de DON está fuertemente determinada por la especie, más que por la simple presencia del patógeno en el hospedero. Estudios experimentales han demostrado que, bajo condiciones de infección controlada, la colonización de tejidos de maíz por especies del FGSC se asocia con una mayor acumulación de DON, lo que vincula directamente la

patogenicidad con la expresión del potencial toxigénico (Quesada-Ocampo *et al.*, 2016).

Al contrastar los resultados de inoculación con los obtenidos en los sitios de muestreo bajo condiciones de campo natural, se refuerza la idea de que la ausencia o baja detección de DON en campo no implica necesariamente la ausencia de especies altamente productoras. Por el contrario, la expresión de tricotecenos como DON depende de la concurrencia de condiciones ambientales favorables, particularmente alta disponibilidad hídrica y temperaturas moderadas durante las etapas de llenado y maduración del grano, las cuales pueden no presentarse de forma consistente en todos los ciclos agrícolas (Döll y Dänicke, 2011).

Estudios recientes orientados a la cuantificación de micotoxinas en matrices alimentarias y sistemas experimentales han destacado que la evaluación bajo condiciones controladas permite identificar riesgos toxigénicos latentes que no siempre son evidentes en muestreos de campo, especialmente en regiones con alta variabilidad climática (International Journal of Food Microbiology, 2025). En este sentido, los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad confirman que *F. boothii* representa un potencial impulsor de la acumulación de DON en maíz cuando se establecen infecciones efectivas.

Desde una perspectiva sanitaria y de manejo fitosanitario, las concentraciones elevadas de DON observadas en *F. boothii* bajo inoculación experimental ponen de manifiesto la importancia de considerar no solo la presencia de especies del FGSC, sino también las condiciones que favorecen la activación de las rutas biosintéticas de tricotecenos. Estos hallazgos resaltan la necesidad de integrar estudios de patogenicidad, micotoxinas y regulación genética para mejorar la evaluación del riesgo y fortalecer las estrategias de monitoreo y prevención (Döll y Dänicke, 2011; International Journal of Food Microbiology, 2025).

4.3.2.3. Fumonisin (FUN)

En las pruebas de patogenicidad realizadas bajo condiciones de campo experimental, la producción de fumonisin (FUN) mostró diferencias altamente

significativas entre las seis especies de *Fusarium* evaluadas (ANOVA, $p < 0.0001$). La comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) evidenció un gradiente claro en la capacidad fumonisigénica entre especies. Las concentraciones promedio más elevadas se registraron en *Fusarium sudanense* (2 225 ppb) y *F. verticillioides* (1 875 ppb), seguidas por valores intermedios en *F. subglutinans* (890 ppb) y *F. boothii* (795 ppb). En contraste, *F. temperatum* (525 ppb) y *F. andiyazi* (455 ppb) presentaron las concentraciones más bajas (Figura38).

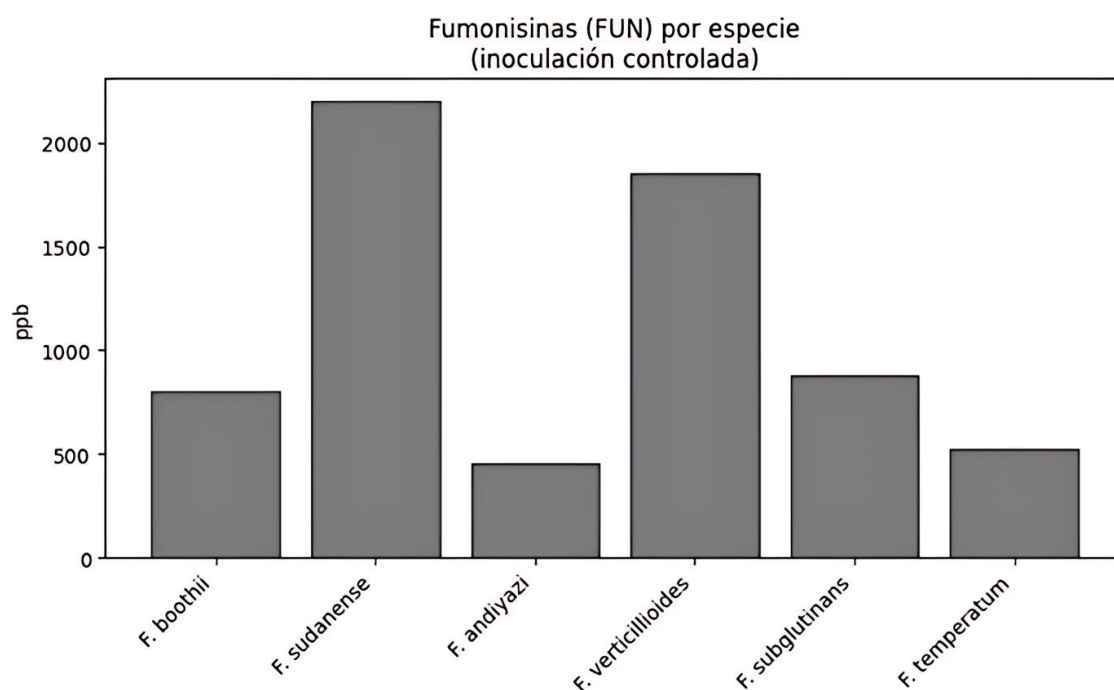


Figura 38. Producción promedio de fumonisinas (FUN, ppb) por especies de *Fusarium* bajo condiciones de inoculación controlada.

Discusión

Las fumonisinas se asocian clásicamente con *Fusarium verticillioides*, reconocido como el principal productor de estas micotoxinas en maíz a nivel mundial. Numerosos estudios han documentado la acumulación de fumonisinas en grano tras inoculación artificial y bajo condiciones de campo experimental, demostrando que su producción depende tanto de la especie como del método de inoculación, el tejido colonizado y las condiciones ambientales durante el desarrollo del grano (Desjardins, 2006; Marín *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2025).

La mayor producción de fumonisinas observada en este estudio correspondió a *Fusarium sudanense*, lo que indica que esta especie posee un potencial fumonisinigénico elevado bajo condiciones de infección controlada, aun cuando la evidencia previa sobre su papel como productor de fumonisinas en maíz es limitada. Este resultado sugiere que *F. sudanense* podría actuar como un contribuyente relevante a la contaminación por fumonisinas cuando se establecen condiciones favorables para la infección.

En contraste, *F. verticillioides*, reconocido clásicamente como el principal agente fumonisinigénico en maíz, presentó concentraciones elevadas pero inferiores a las observadas en *F. sudanense*, lo que confirma su capacidad productora sin desplazar el protagonismo del hallazgo principal. Asimismo, la detección de niveles intermedios a elevados en *F. subglutinans* y *F. temperatum* concuerda con reportes previos que han demostrado su capacidad de producir fumonisinas tras inoculación artificial, particularmente en tejidos vegetales bajo condiciones favorables de infección, aun cuando estas especies no siempre dominan en muestreos de campo (Desjardins *et al.*, 2000; Marín *et al.*, 2010).

En el caso de *F. andiyazi*, la producción relativamente baja de fumonisinas observada coincide con reportes que describen a esta especie como micotoxigénica, aunque su papel como productor principal de fumonisinas en maíz ha sido menos documentado y suele depender de condiciones específicas de infección. Por ello, los resultados obtenidos deben interpretarse con cautela, reconociendo que la expresión de su potencial fumonisinigénico puede variar en función del hospedero y del ambiente (Desjardins, 2006).

Particularmente relevante es la elevada producción de fumonisinas registrada en *F. sudanense*. Dado que la evidencia previa sobre su capacidad fumonisinigénica en maíz es limitada, este resultado sugiere que esta especie emergente posee un potencial fumonisinigénico significativo bajo condiciones de infección controlada. En este sentido, los datos obtenidos en las pruebas de patogenicidad representan un hallazgo novedoso, que amplía el espectro de especies de

Fusarium con capacidad de contribuir a la contaminación por fumonisinas en grano de maíz.

Al comparar estos resultados con los obtenidos en los sitios de muestreo bajo condiciones de campo natural, se refuerza la idea de que la baja frecuencia o ausencia de fumonisinas en campo no implica la ausencia de especies productoras. Por el contrario, la producción de fumonisinas requiere combinaciones específicas de temperatura, estrés hídrico y daño fisiológico del grano, las cuales no siempre se presentan durante el ciclo del cultivo (Marín *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2025). Las pruebas de patogenicidad confirman que el potencial fumonisinigénico está presente en múltiples especies y puede expresarse plenamente cuando la infección ocurre bajo condiciones favorables.

Desde una perspectiva sanitaria, estos resultados ponen de manifiesto la existencia de un riesgo latente asociado a la presencia de diversas especies de *Fusarium* con capacidad de producir fumonisinas. La identificación de especies no clásicamente asociadas a esta micotoxina como productoras bajo inoculación experimental subraya la importancia de integrar estudios de patogenicidad, cuantificación de micotoxinas y caracterización genética para una evaluación más precisa del riesgo micotoxigénico en sistemas de producción de maíz.

4.3.2.4. Análisis multivariado de micotoxinas en pruebas de patogenicidad (inoculaciones)

El análisis multivariado de la varianza (MANOVA) confirmó un efecto altamente significativo del factor especie (Inóculo) sobre la producción conjunta de zearalenonas (ZEA), deoxinivalenol (DON) y fumonisinas (FUN) (Lambda de Wilks, Traza de Pillai, Traza de Hotelling–Lawley y Raíz mayor de Roy; $p < 0.0001$). Estos resultados indican que las seis especies de *Fusarium* evaluadas difieren significativamente en su perfil micotoxigénico integrado bajo condiciones de inoculación controlada, lo que respalda que la expresión toxigénica es un rasgo dependiente de la especie y no un fenómeno aleatorio asociado únicamente a la infección (Desjardins, 2006; Wang *et al.*, 2025).

La matriz de correlaciones parciales evidenció asociaciones positivas moderadas entre fumonisinas y zearalenonas ($r = 0.70$) y entre fumonisinas y DON ($r = 0.53$), mientras que zearalenonas y DON no mostraron correlación. Este patrón sugiere que la producción de fumonisinas puede coexistir con la acumulación de otras micotoxinas bajo condiciones de infección intensa, mientras que la biosíntesis de ZEA y DON responde a rutas metabólicas parcialmente independientes, incluso dentro de especies filogenéticamente cercanas (Desjardins Y Proctor, 2007; Döll Y Dänicke, 2011).

Discusión

El análisis MANOVA confirmó que las diferencias observadas entre especies en los análisis univariados se mantienen cuando las tres micotoxinas se consideran de manera simultánea, lo que refuerza la existencia de perfiles micotoxigénicos específicos por especie. Este enfoque multivariado ha sido ampliamente recomendado para evaluar la co-ocurrencia de micotoxinas, ya que permite integrar la complejidad metabólica de *Fusarium* y evitar interpretaciones parciales basadas en una sola toxina (Wang et al., 2025).

La ausencia de correlación entre ZEA y DON observada en las pruebas de patogenicidad sugiere que, aun dentro de especies pertenecientes al complejo *Fusarium graminearum*, la activación de las rutas biosintéticas responsables de estas micotoxinas puede ocurrir de forma independiente. Estudios previos han demostrado que la regulación diferencial de los clústeres génicos involucrados en la biosíntesis de tricotecenos y zearalenonas responde a señales ambientales y fisiológicas distintas, lo que explica la falta de asociación consistente entre ambas toxinas (Desjardins, 2006; Döll y Dänicke, 2011).

En contraste, la correlación moderada observada entre fumonisinas y las otras micotoxinas indica que una colonización intensa del grano puede favorecer la acumulación simultánea de múltiples metabolitos secundarios, particularmente bajo condiciones de infección controlada. Este patrón difiere parcialmente de lo observado en los sitios de muestreo bajo condiciones de campo, donde las restricciones ambientales limitan la expresión conjunta del potencial

micotoxigénico. En este sentido, las pruebas de patogenicidad revelan un escenario de riesgo latente que puede manifestarse cuando las condiciones favorecen la infección y el desarrollo del patógeno (Marín *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2025).

4.3.3. Integración general de resultados

En conjunto, los resultados obtenidos bajo condiciones de campo (sitios de muestreo) y bajo condiciones de infección controlada (pruebas de patogenicidad por especie) evidencian que la contaminación por micotoxinas en grano de maíz en El Bajío mexicano responde a la interacción entre (i) el potencial toxigénico intrínseco de las especies de *Fusarium* y (ii) las condiciones ambientales predominantes durante las etapas fenológicas R1–R6, que modulan la colonización del grano y la expresión del metabolismo secundario. Esta dualidad explica por qué ciertos sitios presentaron niveles nulos o bajos de micotoxinas, aun cuando el ensayo de inoculación demostró que varias especies poseen capacidad de producir ZEA, DON y/o FUN cuando la infección se establece exitosamente. (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019; Desjardins, 2006; Marín *et al.*, 2010).

Bajo condiciones de campo, las tres micotoxinas mostraron patrones espaciales contrastantes. La zearalenona (ZEA) se concentró principalmente en sitios específicos, con máximos en Maravatío y Copándaro, y una contribución climática dominada por la temperatura; el deoxinivalenol (DON) presentó los valores más elevados en Zamora y Juanacatlán y mostró dependencia significativa de la interacción entre temperatura, humedad relativa y precipitación; mientras que las fumonisinas (FUN) se detectaron con mayor intensidad en Zapopan y San Juan de los Lagos, con una alta frecuencia de valores no detectables en otros sitios, lo que sugiere una mayor sensibilidad a combinaciones ambientales particulares y/o a la dinámica local de infección durante el llenado del grano. (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019; Desjardins, 2006; Marín *et al.*, 2010).

La integración multivariada de los datos de campo (MANOVA y conglomerados) reforzó que los sitios pueden agruparse en zonas con perfiles micotoxigénicos diferenciados, distinguiendo un grupo de bajo perfil (Celaya, Valle de Santiago, Cortazar y Juventino Rosas), un grupo intermedio (Lagos de Moreno, San Juan de los Lagos y Zapopan) y un grupo de alto perfil (Copándaro, Maravatío, Juanacatlán y Zamora). Este patrón apoya el valor del análisis conjunto de micotoxinas para regionalizar el riesgo y orientar estrategias de monitoreo focalizado, ya que la co-ocurrencia de toxinas y su magnitud dependen de la variación ambiental y de la composición del complejo de *Fusarium* en cada ambiente productivo. (Czembor *et al.*, 2015; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019; Muñoz-Zavala *et al.*, 2025).

Por otro lado, las pruebas de patogenicidad en Celaya demostraron que las seis especies caracterizadas difieren significativamente en su perfil micotoxigénico, evidenciando capacidad toxigénica latente aun cuando en campo algunas micotoxinas se detectaron con baja frecuencia. En inoculación por especie, *F. boothii* destacó como el principal productor de DON y ZEA, mientras que la producción más alta de FUN correspondió a *F. sudanense*, seguido de *F. verticillioides*. La presencia de perfiles intermedios en *F. subglutinans* y *F. boothii* para FUN, así como la detección de ZEA en especies con menor protagonismo clásico en maíz, confirman que el potencial micotoxigénico no se restringe a una sola especie, y que bajo infección efectiva pueden expresarse metabolitos de interés sanitario. (Döll y Dänicke, 2011; Desjardins, 2006; Wang *et al.*, 2025; Foods, 2022).

Al comparar ambos escenarios (campo vs inoculación), se observa que la detección en campo refleja el resultado neto de la interacción especie–ambiente, mientras que la inoculación permite revelar el potencial toxigénico intrínseco. En particular, la alta producción experimental de DON y ZEA por *F. boothii* sugiere que la ausencia o baja detección de estas toxinas en ciertos sitios no implica ausencia de riesgo, sino condiciones ambientales subóptimas para su expresión. De manera similar, la producción elevada de FUN en inoculación (incluyendo valores altos en *F. sudanense* y *F. verticillioides*) ayuda a interpretar la

variabilidad espacial observada en campo, donde las fumonisinas se detectaron principalmente en ambientes con combinaciones predisponentes (temperatura y disponibilidad hídrica/estrés) durante R1–R6. (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019; Desjardins, 2006; Marín *et al.*, 2010).

El MANOVA de inoculaciones confirmó que estas diferencias entre especies se mantienen al considerar simultáneamente ZEA, DON y FUN, lo cual respalda la existencia de perfiles micotoxigénicos integrados por especie. Además, la ausencia de correlación entre ZEA y DON, junto con correlaciones moderadas entre FUN y las otras toxinas, sugiere que ciertas rutas biosintéticas pueden activarse de manera independiente, mientras que bajo colonización intensa del grano puede favorecerse la acumulación conjunta de metabolitos secundarios. Este resultado es consistente con la complejidad regulatoria del metabolismo secundario en *Fusarium* y con la variación en co-ocurrencia de micotoxinas reportada en maíz y otros cereales. (Desjardins y Proctor, 2007; Döll y Dänicke, 2011; Wang *et al.*, 2025).

Desde una perspectiva sanitaria, el análisis conjunto muestra que existen sitios con valores que superan referencias de consumo humano para ZEA y DON, y que, aun cuando FUN se mantuvo por debajo de referencias en campo, su potencial de acumulación bajo infección efectiva fue evidente en el ensayo de inoculación. En términos prácticos, esto refuerza la necesidad de establecer esquemas de vigilancia diferenciados por zona (bajo/intermedio/alto perfil), priorizando periodos críticos del cultivo (R1–R6) y ambientes predisponentes, especialmente donde el grano se destina al autoconsumo o a cadenas cortas de comercialización. (Comisión Europea, 2006; Reglamento (UE) 2023/915; FAO/WHO, 2019; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019).

Finalmente, los resultados sostienen que la evaluación del riesgo micotoxigénico en El Bajío mexicano no puede basarse únicamente en la detección puntual en campo, sino que debe integrar información de potencial toxigénico por especie, condiciones ambientales y dinámica de infección. En consecuencia, se recomienda profundizar en estudios dirigidos a la confirmación genética del

potencial toxigénico (p. ej., genes/clústeres asociados a tricotecenos, zearalenonas y fumonisinas) y a la validación de factores predisponentes en distintos ciclos agrícolas, con el fin de fortalecer la predicción del riesgo y el diseño de estrategias preventivas de manejo. (NIH PMC, 2023; Desjardins, 2006; Van der Fels-Klerx *et al.*, 2019).

4.4. CONCLUSIONES

En El Bajío mexicano se detectó variación espacial significativa en las concentraciones de zearalenonas (ZEA), deoxinivalenol (DON) y fumonisinas (FUN) en grano de maíz bajo condiciones de campo, lo que confirma que el riesgo micotoxigénico no es homogéneo entre sitios y depende del ambiente durante las etapas fenológicas R1–R6.

Bajo condiciones de campo, ZEA mostró un patrón restringido a sitios específicos y estuvo asociada principalmente con la temperatura promedio, mientras que DON presentó los valores más elevados en sitios con mayor disponibilidad hídrica y evidenció dependencia significativa de la interacción entre temperatura, humedad relativa y precipitación. En contraste, FUN presentó alta frecuencia de valores no detectables en varios sitios, sugiriendo que su acumulación depende de combinaciones ambientales particulares y/o de la dinámica local de infección.

La integración multivariada (MANOVA) confirmó diferencias simultáneas entre sitios cuando se consideraron conjuntamente ZEA, DON y FUN. El análisis de conglomerados jerárquico permitió identificar tres perfiles micotoxigénicos (bajo, intermedio y alto), lo que aporta una base cuantitativa para regionalizar el riesgo y orientar estrategias de monitoreo focalizado.

Las pruebas de patogenicidad mediante inoculación por especie evidenciaron que las seis especies de *Fusarium* caracterizadas en este estudio difieren significativamente en su capacidad toxigénica, lo que demuestra la existencia de potencial micotoxigénico intrínseco que puede no manifestarse plenamente bajo condiciones ambientales desfavorables en campo.

En inoculaciones, *F. boothii* destacó como la especie con mayor capacidad de producir DON y ZEA, mientras que la mayor producción de fumonisinas correspondió a *F. sudanense*, seguida de *F. verticillioides*. Estos resultados muestran que el riesgo puede estar asociado tanto a especies clásicamente reconocidas como productoras como a especies con menor documentación previa en maíz, especialmente bajo infección efectiva.

La comparación entre campo e inoculaciones confirma que la presencia o ausencia de micotoxinas en muestreos naturales refleja el resultado neto de la interacción especie–ambiente–hospedero, por lo que la baja detección en campo no equivale a ausencia de especies toxigénicas, sino a limitación de condiciones para la expresión del metabolismo secundario.

En términos de inocuidad, se identificaron sitios que superaron valores de referencia para consumo humano en ZEA y DON, y se evidenció un escenario de riesgo latente bajo infección controlada, lo cual subraya la necesidad de vigilancia continua, especialmente en sistemas donde el grano se destina al autoconsumo o alimentación animal sin controles previos.

Se requiere investigación complementaria orientada a confirmar la base genética del potencial toxigénico (genes o clústeres biosintéticos asociados a fumonisinas, tricotecenos y zearalenonas) y a validar los factores ambientales predisponentes en distintos ciclos agrícolas, con el fin de fortalecer la predicción del riesgo y el diseño de estrategias preventivas regionalizadas.

4.5. CONCLUSIONES GENERALES

El presente estudio permitió diagnosticar y caracterizar de manera integral la diversidad de especies de *Fusarium* spp. asociadas al cultivo de maíz blanco subtropical en la región de El Bajío, México, mediante la combinación de análisis morfológicos, moleculares, filogenéticos, de patogenicidad y de micotoxinas, cumpliendo plenamente con el objetivo general de la investigación.

A partir del aislamiento de *Fusarium* spp. en semilla, tallo, grano y suelo de 25 híbridos de maíz y catorce sitios de producción en Guanajuato, Jalisco y Michoacán, se confirmó que estos componentes del sistema maíz–suelo actúan como fuentes y reservorios de inóculo, lo que evidencia la persistencia y circulación del patógeno a lo largo del ciclo del cultivo y entre ciclos agrícolas, dando cumplimiento a los objetivos específicos 1 y 2.

La caracterización morfológica y molecular permitió identificar seis especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca, pertenecientes a los complejos *Fusarium fujikuroi* (*F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. temperatum*, *F. andiyazi* y *F. sudanense*) y *Fusarium graminearum* species complex (*F. boothii*), confirmando que la enfermedad en El Bajío es causada por un complejo diverso de especies filogenéticamente cercanas, en concordancia con el objetivo específico 3.

El uso combinado de los marcadores TEF-1 α y RPB2, junto con análisis filogenéticos multilocus concatenados, proporcionó una identificación taxonómica robusta y confiable, resolviendo la delimitación de especies dentro de complejos con alta cercanía evolutiva y confirmando la existencia de linajes genéticamente diferenciados. En *F. verticillioides*, la detección de dos haplotipos del gen TEF-1 α , con predominio de uno mayoritario, sugiere una estructura genética relativamente homogénea para la población analizada.

La caracterización morfológica y cultural fue congruente con la identidad molecular de los aislados; sin embargo, se corroboró que, particularmente dentro del complejo *Fusarium fujikuroi*, la plasticidad fenotípica y el solapamiento de

caracteres limitan la identificación basada únicamente en morfología, lo que confirma la necesidad de enfoques integrativos para el diagnóstico preciso de *Fusarium* spp.

Las pruebas de patogenicidad demostraron que todas las especies caracterizadas son capaces de inducir síntomas típicos de pudrición de mazorca en maíz, y el reaislamiento del patógeno confirmó su relación causal con la enfermedad, cumpliendo los postulados de Koch y validando el objetivo específico 5.

La detección y cuantificación de zearalenonas (ZEA), deoxinivalenol (DON) y fumonisinas (FUN) en grano bajo condiciones de campo evidenció una variación espacial significativa entre sitios, asociada a las condiciones ambientales durante las etapas fenológicas R1–R6. ZEA se presentó de manera restringida y asociada principalmente a la temperatura promedio, DON mostró dependencia de la interacción entre temperatura, humedad relativa y precipitación, mientras que FUN presentó alta frecuencia de valores no detectables, lo que indica que su acumulación depende de combinaciones ambientales específicas, cumpliendo el objetivo específico 4.

La integración multivariada de micotoxinas permitió identificar perfiles micotoxigénicos diferenciados entre sitios (bajo, intermedio y alto riesgo), proporcionando una base cuantitativa para la regionalización del riesgo micotoxigénico y para el diseño de estrategias de monitoreo y manejo focalizado.

Las pruebas de patogenicidad mediante inoculación por especie demostraron que las seis especies de *Fusarium* difieren significativamente en su capacidad toxigénica, confirmando un potencial micotoxigénico intrínseco que puede no expresarse plenamente bajo condiciones ambientales desfavorables en campo. *Fusarium boothii* destacó por su alta producción de DON y ZEA, mientras que *F. sudanense* y *F. verticillioides* mostraron mayor capacidad para producir fumonisinas.

La comparación entre muestreos de campo e inoculaciones confirmó que la presencia o ausencia de micotoxinas en condiciones naturales refleja la

interacción especie–ambiente–hospedero, por lo que la baja detección en campo no implica ausencia de especies toxigénicas, sino limitación en la expresión del metabolismo secundario.

En términos de inocuidad, se identificaron sitios que superaron valores de referencia para consumo humano en ZEA y DON, y se evidenció un riesgo latente bajo infección efectiva, lo que subraya la necesidad de vigilancia continua, especialmente en sistemas donde el grano se destina al autoconsumo o a la alimentación animal sin controles previos.

En conjunto, los resultados sustentan la hipótesis planteada, al demostrar que la pudrición de mazorca en maíz en El Bajío mexicano está asociada a un complejo de especies de *Fusarium* con capacidad patogénica y potencial micotoxigénico, cuya incidencia, distribución y expresión toxigénica varían en función del híbrido, el sitio de siembra y las condiciones ambientales.

Finalmente, se concluye que es necesario desarrollar investigaciones complementarias orientadas a la identificación de genes y clústeres biosintéticos asociados a fumonisinas, tricotecenos y zearalenonas, así como a la validación de los factores ambientales predisponentes en distintos ciclos agrícolas, con el fin de fortalecer la predicción del riesgo, el manejo fitosanitario y la seguridad alimentaria del maíz en México

4.6. LITERATURA CITADA

- Bacon, C. W. (1992). Fumonisin production by *Fusarium moniliforme* cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(4), 1448–1450.
- Bacon, C. W., Glenn, A. E., Yates, I. E., & Smith, J. E. (2008). *Fusarium verticillioides*: Managing the endophytic association with maize for reduced fumonisin accumulation. *Toxin Reviews*, 27(3–4), 411–434. <https://doi.org/10.1080/15569540802497889>
- Bianchini, A., & Bullerman, L. B. (2014). Biological control of mycotoxins in foods. *Food Science and Nutrition*, 54(2), 1–14. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.606381>
- Blacutt, A. A., Gold, S. E., Voss, K. A., Gao, M., & Glenn, A. E. (2018). Fumonisin production by *Fusarium verticillioides* is influenced by maize genotype and environment. *Phytopathology*, 108(5), 638–646. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-17-0240-R>
- Bluhm, B. H., Woloshuk, C. P., & Smith, J. E. (2008). Regulation of fumonisin biosynthesis by environmental factors. *Journal of Food Protection*, 71(8), 1556–1564.
- Cerón-Bustamante, L. J., Hernández-Rodríguez, C. S., & Vázquez-Marrufo, G. (2018). Micotoxinas en alimentos y piensos: impacto en la salud humana y animal. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 9(3), 569–586. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i3.4567>
- Chen, Y., Li, Z., Zhang, H., & Wang, J. (2024). Occurrence and health risk assessment of mycotoxins in maize and maize-based products. *Food Control*, 153, 109927. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109927>
- Coppock, R. W., & Dziwenka, M. (2014). Toxicity of selected mycotoxins in livestock and companion animals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 37(2), 119–132. <https://doi.org/10.1111/jvp.12076>
- Czembor, E., Stępień, Ł., Waśkiewicz, A., & Golinski, P. (2015). Effect of environmental factors on *Fusarium* species and mycotoxin contamination of maize grain. *PLOS ONE*, 10(7), e0133644. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133644>
- De la Torre, A., González, H. H. L., & Chulze, S. N. (2013). Fumonisin contamination in maize and maize-based foods. *Mycotoxin Research*, 29(3), 141–149. <https://doi.org/10.1007/s12550-013-0163-5>
- Desjardins, A. E. (2006). *Fusarium mycotoxins: Chemistry, genetics, and biology*. APS Press.
- Desjardins, A. E., Plattner, R. D., & Proctor, R. H. (2000). Linkage among genes responsible for fumonisin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3361–3365.

- Desjardins, A. E., & Proctor, R. H. (2007). Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1–2), 47–50.
- Desjardins, A. E., & Proctor, R. H. (2016). Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *Phytopathology*, 106(9), 1000–1012. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0199-R>
- Döll, S., y Dänicke, S. (2011). The *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) in animal feeding. *Preventive Veterinary Medicine*, 102, 132–145. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.04.008>
- EFSA (European Food Safety Authority). (2011). Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of zearalenone in food and feed. *EFSA Journal*, 9(6), 2197. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2197>
- Flaherty, J. E., Woloshuk, C. P., & Smith, J. E. (2003). Regulation of fumonisin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6314–6321.
- Foods Editorial. (2022). Zearalenone production and environmental factors. *Foods*, 11(21). <https://doi.org/10.3390/foods11213465>
- Gallardo-Reyes, E. D., Sánchez, E., & Carballo-Carballo, A. (2006). Contaminación por fumonisinas en grano de maíz en México. *Agrociencia*, 40(4), 419–429.
- Gelderblom, W. C. A., Marasas, W. F. O., Lebepe-Mazur, S., Swanevelder, S., & Vessey, C. J. (2001). Interaction of fumonisins with sphingolipid metabolism and cancer risk. *Environmental Health Perspectives*, 109(Suppl. 2), 291–300.
- Janić Hajnal, E., Kos, J., Radić, B., Anić, M., Radović, R., Kudumija, N., Vulić, A., Đekić, S., & Pleadin, J. (2023). Impact of climate changes on the natural prevalence of *Fusarium* mycotoxins in maize harvested in Serbia and Croatia. *Toxins*, 15(3), 186. <https://doi.org/10.3390/toxins15030186>
- Jouany, J. P., et al. (2023). Effects of environmental conditions on *Fusarium* development and mycotoxin production in maize. *Toxins*, 15(3), 186. <https://doi.org/10.3390/toxins15030186>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing.
- Mannaa, M., & Kim, K. D. (2017). Influence of temperature and water activity on deleterious fungi and mycotoxin production during grain storage. *Mycobiology*, 45(4), 240–254. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.4.240>
- Malbrán, I. (2013). Distribución y variabilidad de micotoxinas en cereales. *Revista Argentina de Microbiología*, 45(3), 204–212.
- Marín, P., Magan, N., Vázquez, C., & González-Jaén, M. T. (2010). Differential effect of environmental conditions on the growth and regulation of the fumonisin biosynthetic gene FUM1 in the maize pathogens and fumonisin

- producers *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. *FEMS Microbiology Ecology*, 73(2), 303–311. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00894.x>
- Marín, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., & Sanchis, V. (2010). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 48(4), 847–860.
- Munkvold, G. P. (2017). *Fusarium* species and their associated mycotoxins in maize. *Mycotoxin Research*, 33, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12550-016-0260-8>
- NIH PMC. (2023). Mechanisms of zearalenone biosynthesis in *Fusarium* and environmental modulation. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7913079/>
- O'Donnell, K., Ward, T. J., Robert, V. A. R. G., Crous, P. W., Geiser, D. M., & Kang, S. (2013). DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions. *Phytoparasitica*, 41(5), 475–482. <https://doi.org/10.1007/s12600-013-0324-8>
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food spoilage* (3rd ed.). Springer.
- Proctor, R. H., Desjardins, A. E., Plattner, R. D., & Hohn, T. M. (2006). A polyketide synthase gene required for fumonisin production. *Fungal Genetics and Biology*, 43(6), 434–444.
- Quesada-Ocampo, L. M., et al. (2016). Susceptibility of Maize to Stalk Rot Caused by *Fusarium graminearum*. *Plant Disease*, <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-15-0199-R>
- Rosa Júnior, O. F., Dalcin, M. S., Nascimento, V. L., & Del Ponte, E. M. (2019). Environmental factors affecting fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in maize. *Toxins*, 11(4), 215. <https://doi.org/10.3390/toxins11040215>
- Solórzano-Solórzano, J. L., Muñoz-Zavala, C., & Leyva-Mir, S. G. (2024). Occurrence and distribution of *Fusarium* mycotoxins in maize from central Mexico. *Journal of Stored Products Research*, 104, 102147. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2023.102147>
- Sun, X., Wang, Y., Li, Q., & Zhang, Y. (2023). Impact of mycotoxin contamination on maize quality and economic losses. *Food Research International*, 163, 112221. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112221>
- Van der Fels-Klerx, H. J., et al. (2019). Climate change impacts on mycotoxin contamination of cereals. *World Mycotoxin Journal*, 12(4), 321–333. <https://doi.org/10.3920/WMJ2019.2436>
- Wang, X., Chen, J., Zhang, Q., Li, Y., & Liu, Z. (2025). Geographic variations in the *Fusarium* species and toxins associated with maize ear rot in China.

International Journal of Food Microbiology, 436, Article 111208.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2025.111208>

Xu, Y., Sun, Y., & Zhang, H. (2003). Toxicological effects of *Fusarium* mycotoxins in food and feed. Food and Chemical Toxicology, 41(6), 815–828.

Zácamo-Velázquez, M., Gallardo-Reyes, E. D., & Hernández-Rodríguez, C. S. (2022). Factores ambientales asociados a la contaminación por fumonisinas en maíz del Bajío mexicano. Revista Mexicana de Fitopatología, 40(2), 233–245. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2202-3>

Zhang, Y., Chen, Y., Liu, H., & Wang, J. (2023). Health risks associated with fumonisin exposure through maize consumption. Toxins, 15(3), 215. <https://doi.org/10.3390/toxins15030215>