



**Aislamiento e identificación molecular de *Fusarium* spp. a partir de muestras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) de fincas ubicadas en comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, Cantón Cotacachi, Provincia de Imbabura.**

Llano Arteta, Mateo Sebastian

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

Flores Flor, Francisco Javier, PhD.

21 de agosto de 2023

## Hoja de resultados de la herramienta CopyLeaks



Plagiarism report

MLlano copyleaks.txt

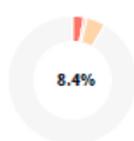
### Scan details

Scan time:  
July 26th, 2023 at 13:36 UTC

Total Pages:  
28

Total Words:  
6953

### Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
● Identical	2.9%	201
● Minor Changes	0.7%	52
● Paraphrased	4.8%	333
● Omitted Words	0%	0

### AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text

**Plagiarism Results: (28)**



FRANCISCO JAVIER  
FLORES FLOR



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

### **Certificación**

Certifico que el trabajo de titulación: “Aislamiento e identificación molecular de *Fusarium spp.* a partir de muestras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) de fincas ubicadas en comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, Cantón Cotacachi, Provincia de Imbabura.”, fue realizado por el señor **Mateo Sebastian, Llano Arteta**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 21 de agosto de 2023



firmado digitalmente por  
**FRANCISCO  
JAVIER FLORES  
FLOR**

---

**Flores Flor, Francisco, PhD.**

C. C. 1713443479



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de autoría

Yo, **Llano Arteta, Mateo Sebastian**, con cédula de ciudadanía N° 1719435891, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: "Aislamiento e identificación molecular de *Fusarium* spp. a partir de muestras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) de fincas ubicadas en comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, Cantón Cotacachi, Provincia de Imbabura." es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 21 de agosto de 2023

---

**Llano Arteta, Mateo Sebastian**

C. C. 1719435891



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Autorización de publicación**

Yo, Llano Arteta, Mateo Sebastian, con cédula de ciudadanía N° 1719435891, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "Aislamiento e Identificación molecular de *Fusarium* spp. a partir de muestras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) de fincas ubicadas en comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, Cantón Cotacachi, Provincia de Imbabura." en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad

Sangolquí, 21 de agosto de 2023

---

**Llano Arteta, Mateo Sebastian**

**C. C. 1719435891**

## Dedicatoria

A ti mi Zarah, por ser mi motor eterno. A mi esposa Elizabeth, por ser siempre mi compañera incondicional; y a mi madre Diana, por nunca dudar de mí.

Mateo Sebastian Llano Arteta

## Agradecimiento

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento y gratitud a Francisco Flores Flor por confiar en mí y permitirme desarrollar este proyecto en conjunto con la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, su dirección y guía durante la investigación fue fundamental en todo momento.

A mis compañeros de laboratorio, todos quienes aportaron con su conocimiento y mutuo apoyo, así como el cariño para colaborar en todo momento.

A todo el equipo que conforma el laboratorio de microbiología de la ESPE, a la licenciada Silvana Granda por estar siempre presta a colaborar y apoyar de la mejor forma posible.

A mis amigos de la universidad Pavel, Felipe, Jefferson, Massiel, Alexis, Luis, Ronny por siempre estar ahí de una forma u otra, lo logramos amigos. Pipe y Pavel espero siempre podamos seguir apoyándonos y que esto solo sea un comienzo, gracias por todo hermanos.

A mi adorada Elizabeth, esto es más tuyo que mío, gracias por estar ahí cuando más necesitaba a alguien y nunca soltarme, siempre serás la inspiración de muchos sueños en mi vida, gracias mi reina.

A mi bella Zarah, por darme siempre tanta felicidad, te amo hija adorada, que esto sea el inicio de muchas más aventuras juntos.

A mi madre Diana. Es una dicha ser tu hijo, gracias por ponerme siempre metas tan altas y demostrarme que todo es posible.

A mi bella universidad y todos los que la conforman, por darme una familia y las herramientas para descubrir todo lo que más me apasiona en la vida, gracias por todo el conocimiento y la sabiduría.

A toda mi familia y amigos que siempre han estado ahí brindando su apoyo y cariño, les agradezco infinitamente.

## Índice de contenidos

Hoja de resultados de la herramienta CopyLeaks .....	2
Dedicatoria.....	6
Agradecimiento.....	7
Resumen .....	14
Abstract .....	15
Capítulo I: Introducción .....	16
Formulación del problema .....	16
Justificación del problema .....	17
Objetivos .....	19
<i>Objetivo general</i> .....	19
<i>Objetivos específicos</i> .....	19
Hipótesis .....	20
Capítulo II: Marco Teórico.....	21
La rizosfera .....	21
Hongos fitopatógenos.....	21
Micotoxinas .....	21
Familia Nectriaceae.....	22
Género Fusarium .....	22
<i>Fusarium solani</i> .....	22
<i>Fusarium oxysporum</i> .....	22

	10
<i>Fusarium foetens</i> .....	23
Complejo de especies de <i>Fusarium fujikuroi</i> (FFSC) .....	23
<i>Fusarium bactridioides</i> .....	24
<i>Fusarium ficicrescens</i> .....	24
Factor de elongación de traducción uno alfa (EF-1 $\alpha$ ) .....	24
Capítulo III: Materiales y métodos.....	26
Población .....	26
Muestreo .....	26
Aislamiento.....	27
Caracterización molecular .....	28
Extracción de ADN.....	28
Amplificación de la región del gen del factor de elongación 1 alfa (EF-1 $\alpha$ ).....	29
Obtención de secuencias.....	30
Alineamiento y análisis filogenético.....	31
Capítulo IV: Resultados .....	32
Aislamiento de <i>Fusarium</i> .....	32
Identificación Molecular .....	33
Análisis filogenético.....	33
Capítulo V: Discusión.....	36
Conclusiones .....	41
Recomendaciones .....	42

Bibliografía.....	43
Apéndices.....	52

### Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Orígenes Geográficos de los Aislados de Fusarium</i> .....	26
<b>Tabla 2</b> <i>Primers para la amplificación de Fusarium</i> .....	30
<b>Tabla 3</b> <i>Programa del termociclador para la amplificación</i> . ....	30
<b>Tabla 4</b> <i>Identificación de los aislados mediante BLAST en NCBI</i> . ....	34

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> <i>Distribución de las fincas donde se obtuvieron las muestras de tejido infectado en la parroquia Seis de Julio de Cuellaje.</i> .....	27
<b>Figura 2</b> <i>Vista en 3D de la distribución de las fincas donde se obtuvieron las muestras de tejido infectado en la parroquia Seis de Julio de Cuellaje.</i> .....	27
<b>Figura 3</b> <i>Micelio de Fusarium spp en medio PDB (Potato Dextrose Broth) (Llano, 2023).</i> .....	28
<b>Figura 4</b> <i>Características morfológicas de los aislados de Fusarium spp. en medio PDA.</i> .....	32
<b>Figura 5</b> <i>Secuencias de los aislados de fincas de comunidades de la parroquia Seis de Julio de Cuellaje.</i> .....	33
<b>Figura 6</b> <i>Árbol filogenético desarrollado con las secuencias obtenidas del estudio e incluyendo las más cercanas comparadas a través de la búsqueda de BLAST con la base de datos del GENBANK.</i> .....	35

## Resumen

Las enfermedades causadas por los hongos *Fusarium* spp. representan una amenaza significativa para los cultivos de granadilla y naranjilla. La enfermedad que producen los hongos *Fusarium* spp. (fusariosis) puede ocurrir en diferentes partes de la planta, y la gravedad de la infección puede variar según la especie de *Fusarium* involucrada, así como también de las condiciones ambientales. El presente estudio tuvo como objetivo aislar y caracterizar molecularmente a *Fusarium* spp. a partir de muestras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) en comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje.

Se tomaron muestras de tejido vegetal de plantas con sintomatología de enfermedades producidas por hongos *Fusarium* spp. de granadilla y naranjilla provenientes de fincas de la zona de estudio, se desinfectaron y posteriormente se sembraron en medios de cultivo generales para el aislamiento de hongos. Una vez obtenidos los aislados, se realizó la amplificación de un fragmento del gen EF-1 $\alpha$  mediante PCR y se secuenciaron los amplicones. Los resultados obtenidos se editaron mediante el programa Geneious Prime 2023 y se realizaron análisis filogenéticos utilizando el programa MEGA 11 a través del método de máxima verosimilitud con el modelo de Tamura-Nei.

Los resultados mostraron la presencia de *Fusarium* spp. en ambos cultivos, siendo más frecuente en las muestras de naranjilla. Se encontraron a las especies *F. oxysporum* y *F. foetens* asociadas al cultivo de granadilla y a las especies *F. oxysporum*, *F. fujikuroi*, *F. bactridioides*, *F. ficicrescens* y *F. solani* asociadas a los cultivos de naranjilla. La especie más común en ambos cultivos fue *F. oxysporum*.

*Palabras clave:* identificación molecular, secuenciación, gen del factor de elongación 1- $\alpha$ , árbol filogenético, *Fusarium*.

### Abstract

Diseases caused by *Fusarium* spp. Fungi pose a significant threat to granadilla and naranjilla crops. *Fusarium* spp. (fusariosis) fungal disease can occur in different parts of the plant, and the severity of infection may vary depending on the *Fusarium* species involved, as well as the environmental conditions. The present study aimed to isolate and characterize *Fusarium* spp. From samples of granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) and naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) in communities of the 6 de Julio de Cuellaje parish.

Plant tissue samples were taken from plants with symptoms of diseases caused by *Fusarium* spp fungi. Of granadilla and naranjilla from farms in the study area, were disinfected and then sown in general culture media for the isolation of fungi. Once the isolates were obtained, a fragment of the EF-1 $\alpha$  gene was amplified by PCR and the amplicons were sequenced. The results obtained were edited through the Geneious Prime 2023 program and phylogenetic analyses were performed using the MEGA 11 program through the maximum likelihood method with the Tamura-Nei model.

The results showed the presence of *Fusarium* spp. In both crops, being more frequent in the samples of naranjilla. The species *F. oxysporum* and *F. foetens* associated with the cultivation of granadilla and the species *F. oxysporum*, *F. fujikuroi*, *F. bactridioides*, *F. ficicrescens* and *F. solani* associated with the naranjilla crops were found. The most common specie in both cultures was *F. oxysporum*.

*Keywords:* molecular identification, sequencing, elongation factor 1-alpha gene, phylogenetic tree, *Fusarium*.

## Capítulo I: Introducción

### Formulación del problema

*Fusarium* es un género cosmopolita de hongos ascomicetos filamentosos que incluye a muchos patógenos de plantas, productores de toxinas de alta importancia agrícola, las enfermedades que causa incluyen marchitez, tizón, podredumbres y llagas en muchos cultivos de tipo hortícola, de campo, ornamentales y forestales tanto en sistemas agrícolas como naturales (Ahmed M. Abdel-Azeem, 2019). Las especies del género *Fusarium* realizan nichos ecológicos primarios de primer orden en los órganos de la planta durante la época de crecimiento, proporcionando funciones tróficas y de reproducción de micromicetos (Irina Vorob'eva, 2020).

Convencionalmente, *Fusarium* ha sido una amenaza más agronómica que médica, sin embargo, en las últimas tres décadas debido a una variedad de factores aportantes, este escenario ha sufrido un radical cambio, con *Fusarium* spp. emergiendo como un patógeno oportunista para los humanos, causando una amplia gama de infecciones superficiales y sistémicas con alta morbilidad en la primera forma y alta mortalidad en la segunda (Ananya Tupaki-Sreepurna, 2018).

Las micotoxinas más importantes producidas por *Fusarium* son los tricotecenos y la zearalenona, los tricotecenos se pueden dividir en tipo A, incluyendo a la toxina T-2, HT-2, diacetoxiscirpenol (DAS), monoacetoxiscirpeno I (MAS), y tipo B, que incluye al deoxinivalenol (DON, llamado también vomitoxina) y nivalenol (NIV) y sus derivados mono y diacetilados; debido al calentamiento global y a la actividad humana se pueden predecir cambios en la composición de las especies y en las micotoxinas que producen (Yli-Mattila, 2010).

Debido a la abundancia y distribución de las especies de *Fusarium* en el suelo, se ha comprobado que tienen un rol importante en la descomposición saprofitica, al tener una actividad celulolítica, son esenciales en los procesos de circulación de nutrientes en muchos

ecosistemas terrestres. Podemos destacar a *F. oxysporum*, que ha demostrado tener un rol importante en la desnitrificación del suelo al tener la habilidad de reducir NO, N<sub>2</sub>O y hasta N<sub>2</sub> completo, por ende, son componentes biológicos de alta importancia en los suelos terrestres (Peter K. Maina, 2009).

Morfológicamente las formas patogénicas más destacadas que causan estragos en la producción de tantos cultivos no son fácilmente distinguibles de las comunes que se encuentran naturalmente en el suelo. Estas formas especiales van a representar una pequeña minoría en general entre el número total de propágulos de *Fusarium* presentes en el suelo, los cuáles van a estar distribuidos de manera desigual en los suelos de los campos, esto va a depender de la adaptabilidad, así como del entorno inmediato que puede favorecer o no a la propagación del hongo (Smith, 2007).

Los procesos evolutivos que conducen a la aparición de formas patogénicas siguen sin caracterizar y se desconoce si el rango geográfico en expansión de este patógeno resultó de dispersión o evolución, independientemente de patogenicidad. En cepas patogénicas de plantas los cromosomas accesorios que se adquieren a través de la transferencia horizontal de cromosomas (HTC) pueden tener los genes necesarios para patogenicidad específica del huésped. Sin embargo, hay pocos ejemplos documentados de HTC en la naturaleza y se desconoce con qué frecuencia ha contribuido a la diversidad de cepas que causan enfermedades en un huésped en particular, muchas formas patogénicas son polifiléticas y HTC provee una explicación atractiva de su diversidad (Peter M. Henry, 2021).

### **Justificación del problema**

La identificación de las diferentes formas especiales de *Fusarium* spp. y la evaluación de su virulencia es esencial para su control ya que los estudios de su estructura poblacional a través de técnicas moleculares son de gran ayuda para aclarar la etiología de la enfermedad y planificar estrategias de manejo efectivo debido a que se han encontrado más de una

subespecie, las cuáles pueden variar considerablemente tanto morfológicamente como genéticamente y además pueden afectar al mismo cultivo (Chen Y. Z.-F., 2014).

*Fusarium* es capaz de colonizar el sistema vascular e incluso en estados de crecimiento avanzados se propaga fuera del sistema vascular, en el parénquima adyacente, produciendo gran cantidad de conidios y clamidosporas que se pueden encontrar en el suelo y permanecer en dormancia eventualmente por varios años, llegando a afectar a futuras plantaciones posteriores a una que ya ha sido perjudicada. Dentro de nuestro país sus diferentes formas especiales (formae speciales “ff.spp.”), pueden afectar a diversos cultivos como son naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.), granadilla (*Passiflora maliformis* L.), maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.), banano (*Musa paradisiaca* L.), entre otros. El Ecuador es el primer exportador mundial de banano con más de 162 mil hectáreas sembradas siendo el cultivo más representativo del país (AGROCALIDAD, 2017), por otro lado, hay un promedio de 9450 hectáreas de naranjilla (INIAP, 2011), en cambio de maracuyá 6547 hectáreas en todo el país y de granadilla un aproximado de 5688 hectáreas (Palacios, 2019).

Esté patógeno se dispersa principalmente a través del movimiento de material de propagación y residuos infectados pudiendo encontrarse en diversos puntos del país debido al traslado de plantas contaminadas de un sector a otro; en la actualidad se encuentra dentro de las 10 plagas más importantes a nivel mundial debido a las cuantiosas pérdidas económicas y al impacto social que ejerce. La diferenciación de sus especies dentro de una zona específica nos puede ayudar a tener un mejor tratamiento de las plantaciones (AGROCALIDAD, 2013).

Se ha descubierto que en plantaciones donde hay afectación de *Fusarium* diferentes aislados pueden haber llegado a evolucionar de un ancestro en común y muchas veces las especies no patogénicas van a controlar la proliferación de las patogénicas al inhibir su crecimiento, siendo así un aliado para mantener el equilibrio de los microorganismos en la rizosfera y endorizosfera. Las variaciones de pH en el suelo pueden llegar a favorecer de gran forma al aumento de ciertas especies de *Fusarium* en específico ya que se ha demostrado que

las condiciones ligeramente alcalinas pueden prolongar la supervivencia de las mismas (Mamta Joshi, 2013).

La parroquia Seis de Julio de Cuellaje con una extensión de 18160.74 hectáreas dedica el 49.12% de su territorio a la actividad agropecuaria y el resto a la conservación y protección; los suelos dedicados exclusivamente al uso agrícola representan el 38.84% de la superficie parroquial y estos se encuentran distribuidos por toda la parroquia; posee una temperatura que va desde los 10°C a los 20°C; una precipitación de 1500 mm a 3000 mm anuales, diversos climas que van desde el tropical mega térmico húmedo pasando por el ecuatorial mesotérmico semi húmedo y en su parte alta un clima ecuatorial de alta montaña, la humedad relativa tiene valores medios anuales superiores al 85% (Vaca, 2018). La agricultura es la principal actividad productiva de la parroquia, siendo esta convencional, con un alto y variado uso de agrotóxicos para enfrentar plagas y enfermedades; se basa principalmente en la producción de fréjol, tomate, granadilla, naranjilla, limón, aguacate, café y caña de azúcar; dentro de la parroquia se estima que se dedican aproximadamente 100 hectáreas al cultivo de granadilla y 71 hectáreas al de naranjilla (CUELLAJE, GADP, 2020).

## **Objetivos**

### ***Objetivo general***

Aislar e identificar molecularmente *Fusarium* spp. a partir de muestras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) obtenidas de fincas ubicadas en comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, Cantón Cotacachi, Provincia de Imbabura.

### ***Objetivos específicos***

- Aislar *Fusarium* spp. a partir de muestras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) de fincas de comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje.
- Identificar molecularmente los hongos aislados mediante la amplificación de la región del gen del factor de elongación 1 alfa (EF-1 $\alpha$ ).
- Analizar filogenéticamente los resultados obtenidos mediante secuenciación molecular.

**Hipótesis**

H<sub>0</sub>: *Fusarium* spp. es un agente fitopatógico que no se encuentra presente en los cultivos de las fincas de comunidades de la parroquia Seis de julio de Cuellaje.

H<sub>i</sub>: *Fusarium* spp. es un agente fitopatológico que se encuentra presente en los cultivos de las fincas de comunidades de la parroquia Seis de Julio de Cuellaje.

## Capítulo II: Marco Teórico

### La rizosfera

La rizosfera es un ecosistema crítico, se entiende como la zona especializada entre las raíces y el suelo, donde va a existir gran actividad microbiana y aumento de biomasa. Es el ecosistema terrestre más grande debido a que hace referencia a un espacio donde se van a dar interacciones biológicas entre las raíces y los microorganismos del suelo; su importancia e impacto son vitales en el funcionamiento global de la biosfera; en el suelo las dinámicas poblacionales van a estar moduladas por los exudados radicales que van a ser utilizados por microorganismos edáficos como fuente de energía en sus procesos vitales (Lobo, 2012).

### Hongos fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos son organismos que van a provocar enfermedades a las plantas; estos van a poseer una alta capacidad de adaptación dependiendo de su diversidad genética, la cual puede llegar a ser muy variada incluso dentro de una misma especie; dentro de los factores que intervienen en los cambios genéticos de las poblaciones de hongos patógenos están la mutación, la recombinación, el flujo de genes y la selección. Dependiendo del tipo de hongo patógeno va a existir una afectación específica a cierto tipo de plantas y en cierto tipo de órganos como raíz, tallo, hojas, flor o fruto; sus efectos pueden llegar a producir grandes pérdidas en los cultivos con porcentajes de destrucción que van del 30 al 80 por ciento de la producción de la mayoría de cultivos de alta importancia alimentaria (Gilberto Manzo Sánchez, 2005).

### Micotoxinas

Se definen a las micotoxinas como compuestos naturales de bajo peso molecular producidos por hongos microscópicos que generan una respuesta tóxica cuando son introducidos en concentraciones bajas en animales por una ruta natural. Las enfermedades que van a estar causadas por la ingesta de toxinas de hongos se llaman micotoxicosis y la ingesta recurrente de micotoxinas puede decaer en efectos agudos y crónicos; normalmente los

efectos son teratogénicos, carcinogénicos, estrogénicos e inmunosupresivos (Ricardo Santillán Mendoza, 2017).

### **Familia Nectriaceae**

El orden de los Hypocreales incluye aproximadamente 2700 especies fúngicas de 240 géneros, que se dividen en ocho familias, con algunos géneros todavía clasificados como *incertae sedis*, los miembros de este orden se encuentran globalmente en muchos ecosistemas y son de gran importancia para la agricultura y la medicina, han sido extensivamente explotados de forma industrial y comercial (L. Lombard, 2014).

### **Género Fusarium**

Es un género de hongos que se distribuyen universalmente y tienen una gran importancia económica ya que son patógenos comunes en los cultivos, pueden llegar a ser muy relevantes para la salud humana sobre todo en pacientes inmunodeprimidos (Tudela, 2012). Las especies de mayor importancia médica son aquellas que comprenden el complejo de especies *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, y la especie *verticillioides*, perteneciente al complejo *Fusarium fujikuroi* (Joan E. Rodríguez-Grimaldo, 2022).

#### ***Fusarium solani***

Es un complejo de hongos patógenos universales que pueden causar síntomas de pudrición radical, podredumbre del pie y necrosis vascular, ha sido descrito como un patógeno importante en distintos cultivos alrededor del mundo como Argentina, California, Australia, India, Turquía, en Australia es el principal causante del marchitamiento en tomates resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (J. Montealegre, 2003). El complejo de especies de *Fusarium solani* es un grupo que se estima contiene al menos 60 especies filogenéticamente distintas (Coleman, 2015).

#### ***Fusarium oxysporum***

Son hongos imperfectos, su reproducción se da por medio de conidias y poseen periodos de supervivencia bastante largos en el suelo en forma de clamidiosporas, su micelio

es aéreo, abundante, algodonoso, con diferentes coloraciones que pueden ser blancas, durazno, salmón, pero normalmente con un color púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar; sus variables están divididas en gran cantidad de formas singulares que no se pueden distinguir morfológicamente (Canencio, 2007). Modelos experimentales han demostrado que los suelos moderadamente ácidos (valores de pH entre 5-6) son óptimos tanto para la germinación de esporas como para infecciones de plántulas de vivero; esto se da debido a la ausencia de microorganismos antagonistas en suelos con estos valores de pH (Dmitry A. Nikitin, 2023).

### ***Fusarium foetens***

Este hongo se ha reportado como un patógeno de las begonias en Holanda, su epíteto se asigna a la característica de presentar un olor fétido al ser inoculado en medio de cultivo Agar Oatmeal y en ocasiones en PDA; se diferencia de *F. oxysporum*, *F. foetens* presenta polifiálides; las longitudes de monofiálides del micelio aéreo no sobrepasa los 14  $\mu\text{m}$  para *F. oxysporum* pero puede llegar a superar los 35  $\mu\text{m}$  en cepas de *F. foetens* (OSORIO, 2009). Su habilidad para sobrevivir en el suelo e infectar ciertas especies de plantas de forma asintomática puede permitir su esparcimiento y constituye una potencial amenaza para otros cultivos ornamentales. Los primeros síntomas incluyen la disminución del crecimiento y desarrollo, enanismo de las plantas jóvenes, desarrollo de una apariencia brillante de las hojas y coloración amarillenta de las venas (Organization, European and Mediterranean Plant Protection, 2013).

### **Complejo de especies de *Fusarium fujikuroi* (FFSC)**

El complejo de especies de *Fusarium fujikuroi* es uno de los más grandes y mejor estudiados dentro del género mostrando varias ecologías, uno de los cultivos más afectados a nivel mundial es el del arroz. En la actualidad hay más de sesenta especies filogenéticas distintas reconocidas en el complejo de especies. Sin embargo, la mayoría de estas especies que son filogenéticamente distintas dentro de este complejo aún no han sido oficialmente

nombradas. Una especie bien definida puede ayudar a que los usuarios finales identifiquen sólidamente las diferentes cepas de *Fusarium* lo cual permitiría diagnosticar las enfermedades de mejor forma y gestionar estrategias de prevención oportunas (N. Yilmaz, 2021).

### ***Fusarium bactridioides***

*Fusarium bactridioides* es una especie de hongo ascomiceto de la familia *Nectriaceae*. Su genoma completo fue recién secuenciado en el 2020 en un estudio para identificar a miembros del complejo de especies de *Fusarium fujikuroi* (Llano, 2023).

### ***Fusarium ficicrescens***

Su descubrimiento de igual forma ha sido muy reciente en frutas tropicales, en piña en la Isla Reunión en frutas sanas, esto sucede debido a la abundancia del género en la naturaleza (Vignassa, y otros, 2021), en Irán se lo encontró en higos y mediante técnicas moleculares fue descrito como un nuevo taxón ya que previamente fue identificado morfológicamente como *F. andiyazi*; ha sido comprobado como un miembro del complejo de especies de *Fusarium fujikuroi* y su análisis filogenético lo emparenta con *F. lactis*, *F. ramigenum*, y *F. napiforme*; hongos patógenos conocidos por ser productores de micotoxinas y que ocasionalmente son resistentes a los medicamentos (Abdullah M.S. Al-Hatmi, 2015).

### **Factor de elongación de traducción uno alfa (EF-1 $\alpha$ )**

Los estudios filogenéticos de *Fusarium* mostraron que el factor de elongación de traducción – 1 alfa es un marcador genético adecuado para distinguir entre especies relacionadas de *Fusarium*, se encarga de codificar para una proteína expresada de forma constitutiva de manera abundante y que es un elemento clave en la traducción de proteínas eucariotas (O'Donnell K. C., 1998). De forma particular se ha demostrado que el gen TEF-1 $\alpha$  es una región genética útil para estudios filogenéticos y taxonómicos en *Fusarium spp.* por lo tanto, se ha utilizado como herramienta de identificación de locus único en la base de datos FUSARIUM-ID (Elke Nitschke, 2009). Recientemente el gen fue nuevamente seleccionado para barcoding debido a que es una región polimórfica que permite discriminar a nivel de especies,

una ventaja de usar este gen para estudiar las comunidades de *Fusarium* es que parece estar presente como una sola copia de este género (Anne-Laure Boutigny, 2019).

### Capítulo III: Materiales y métodos

#### Población

Hongos patógenos del género *Fusarium* obtenidos de muestras de raíces de fincas con problemas fitopatológicos de comunidades de la Parroquia 6 de Julio de Cuellaje, Cantón Cotacachi, Imbabura.

#### Muestreo

Se realizó el muestreo en diversas fincas de comunidades de la Parroquia 6 de Julio de Cuellaje y una de las comunidades más próximas a la misma que presentaban grandes afectaciones por patógenos en sus cultivos, se recolectaron raíces de las plantas que mostraban la enfermedad. Se obtuvieron 5 muestras de diversas fincas productoras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) de las comunidades San Joaquín, San Alberto, Nápoles y El Rosario de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje y una muestra de la comunidad El Cristal de la parroquia Peñaherrera, ambas pertenecientes a la Zona de Intag, Cotacachi, Imbabura (Tabla 1). Las muestras de raíces con tejido infectado se rotularon con el nombre de la locación y las coordenadas GPS, y se almacenaron a 4°C hasta su posterior uso.

**Tabla 1**

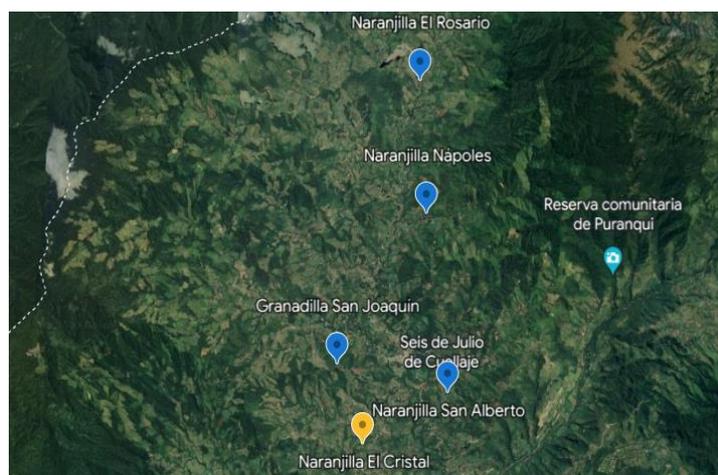
*Orígenes Geográficos de los Aislados de Fusarium.*

Comunidad	Cultivo	Altitud (m.s.n.m.)	Latitud	Longitud
El Cristal	Naranjilla	1950	0.378078	-78.536920
San Joaquín	Granadilla	2195	0.3971991	-78.5429857
San Alberto	Naranjilla	1971	0.3898783	-78.5143749
Nápoles	Naranjilla	2034	0.4316882	-78.5196908
El Rosario	Naranjilla	2105	0.4626008	-78.5219911

*Nota:* Esta tabla muestra las altitudes a las que se encontraron los aislados de *Fusarium*.

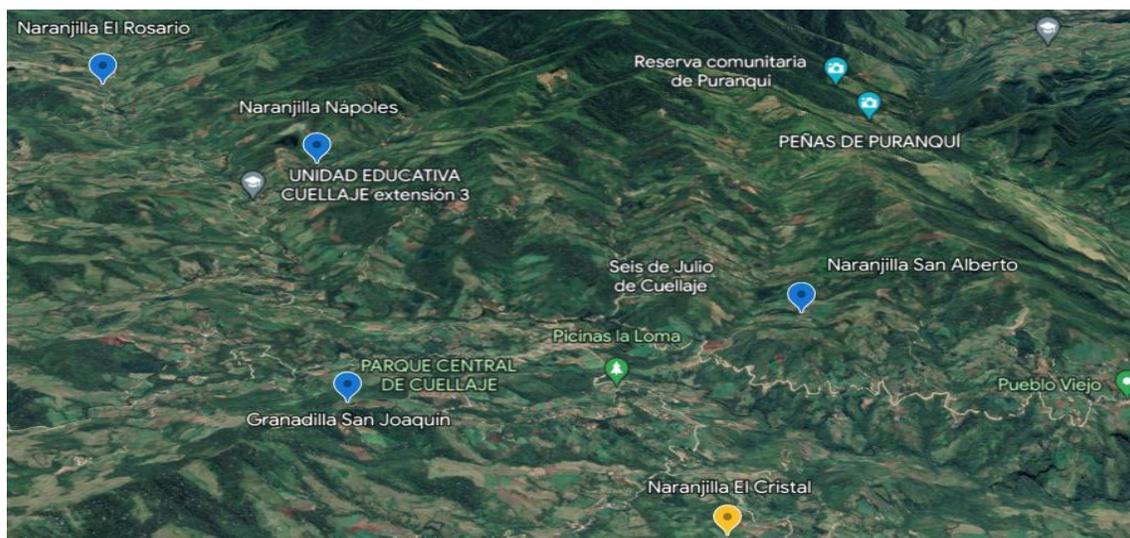
## Figura 1

*Distribución de las fincas donde se obtuvieron las muestras de tejido infectado en la parroquia Seis de Julio de Cuellaje.*



## Figura 2

*Vista en 3D de la distribución de las fincas donde se obtuvieron las muestras de tejido infectado en la parroquia Seis de Julio de Cuellaje.*



## Aislamiento

Las muestras de raíces se cortaron en secciones de 3-6 cm de largo y se desinfectaron usando solución de hipoclorito de sodio al 1% (NaOCl) por 30 segundos para después ser

lavadas con etanol al 70% durante 1 minuto; posteriormente fueron lavada con agua destilada estéril tres veces y secadas en papel filtro estéril. Los trozos se colocaron en medio agar papa dextrosa (PDA) adicionado con gentamicina y cloranfenicol. Las colonias fúngicas que aparecieron después de 10 días en incubación a 25°C fueron aisladas en PDA para obtener un cultivo puro. Los aislados se incubaron a temperatura ambiente y, tras 10 días de incubación, se seccionó y transfirió un pedazo de agar con micelio a medio líquido papa dextrosa (PDB), donde el hongo creció durante 5 días para luego proceder con la extracción de ADN.

### Figura 3

*Micelio de Fusarium spp en medio PDB (Potato Dextrose Broth).*



### Caracterización molecular

#### Extracción de ADN

Se colocó aproximadamente 50 mg de micelio del medio líquido en un tubo de 1.5 mL con 3 perlas de vidrio estériles, se adicionó 500  $\mu$ L de buffer de extracción (2.5% w/v CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris HCl pH 8.0) y 2  $\mu$ L de  $\beta$ -mercaptoetanol. Se agitó a 50HZ durante 10 ciclos de 30 s por ciclo, con 10 s de descanso entre cada ciclo, utilizando un homogeneizador multifunción (Biobase BK-24YS), hasta que el tejido quedó pulverizado. Se incubo en baño maría a 60°C por 30 minutos, mezclando e invirtiendo cada 10 minutos,

posteriormente se añadió 500 µL de cloroformo líquido congelado y se homogeneizó en Vortex por 30 segundos (Dejar reposar un minuto), posteriormente se centrifugó a 14.500g en una centrífuga (Eppendorf 5415 D) por 10 minutos. Se tomó el sobrenadante cuidando no mezclar las fases, aproximadamente 400 µL, y se colocó en un nuevo tubo estéril de 1.5 mL. Se añadió al sobrenadante un volumen igual de etanol absoluto frío, 150 µL de acetato de sodio 3M y 300 µL de etanol al 70% filtrado para precipitar el ADN, posteriormente se dejó reposar a -20°C por 12 horas. A continuación, se centrifugó a 14.500g por 17 minutos y después se eliminó el sobrenadante, se realizaron dos lavados con 100 µL de etanol al 70%, descartando el etanol por inversión. Se secó el pellet durante 15 a 20 minutos, después se resuspendió el pellet de ADN con 25 µL de agua DEPC (Dietilpirocarbonato), se añadió 1 µL de RNasa y se incubó en baño maría a 37°C por 30 minutos, tras la incubación se almacenaron las muestras a -20°C hasta su posterior uso, protocolo modificado de Lopera-Barrero (2008).

### **Amplificación de la región del gen del factor de elongación 1 alfa (EF-1α)**

Se midió la calidad del ADN extraído mediante el uso del espectrofotómetro (Nanodrop 2000 Thermo Scientific). Posteriormente se realizó una corrida de PCR con los primers EF-1 y EF-2, descritos por (O'Donnell K. W., 2015), para la amplificación de un fragmento del gen del factor de elongación 1 alfa (EF-1α) en una mezcla de reacción de 25 µL que contenga 2 µL de DNA ( $25-50 \frac{ng}{\mu L}$ ), 1.25 µL de cada primer forward y reverse con concentración 0.2 µM, 12.5 µL de GoTaq® Green Master Mix (400µM dATP, 400µM dGTP, 400µM dCTP, 400µM dTTP y 3mM MgCl<sub>2</sub>) (Promega, 2021) y 8 µL de H<sub>2</sub>O DEPC (Dietilpirocarbonato). Se programó el termociclador MiniPCR® modelo mini16 de acuerdo a lo descrito en la Tabla 3.

**Tabla 2**

*Primers para la amplificación de Fusarium.*

<b>Región</b>	<b>Primer</b>	<b>Secuencia</b>
<b>EF-1<math>\alpha</math></b>	EF-1	5´- ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3´
<b>EF-1<math>\alpha</math></b>	EF-2	5´- GGARGTACCAGTSATCATG -3´

*Nota:* Los primers amplificarán un fragmento del gen del factor de elongación 1 alfa y son provenientes de la casa comercial Macrogen®.

**Tabla 3**

*Programa del termociclador para la amplificación.*

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Ciclos</b>
<b>Desnaturalización inicial</b>	94.0 °C	180 segundos	1 ciclo
<b>Desnaturalización</b>	94.0 °C	30 segundos	
<b>Alineamiento</b>	51.0 °C	30 segundos	35 ciclos
<b>Extensión</b>	72.0 °C	60 segundos	
<b>Extensión final</b>	72.0 °C	300 segundos	1 ciclo

*Nota:* Las condiciones de la PCR fueron tomadas del protocolo descrito por (Geiser, 2004) pero reduciendo la temperatura de annealing de 53°C a 51°C.

### **Obtención de secuencias**

Se realizó una electroforesis para verificar los productos de la PCR, los amplicones se visualizaron en geles de agarosa al 1% en buffer TBE 1X; se corrió la electroforesis durante 45 minutos con un voltaje de 90 voltios.

Los amplicones se observaron con un transiluminador UV (Invitrogen). Los productos de PCR de tamaño correcto, con peso molecular de aproximadamente 750 pb según lo descrito por (Geiser, 2004), fueron enviados a secuenciar a Macrogen (Seúl, Corea del Sur).

### **Alineamiento y análisis filogenético**

Las secuencias fueron editadas utilizando el programa informático (GENEIOUS PRIME, 2023.2), para obtener una secuencia consenso. Las secuencias fueron comparadas con secuencias EF-1 $\alpha$  almacenadas en la base de datos del NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica), usando la herramienta BLAST (Altschul, 2011). Las secuencias del NCBI que se seleccionaron fueron aquellas con un porcentaje de cobertura del 100%, valor de E igual a 0 y porcentaje de identidad mayor al 99% excepto en un único caso que fue del 95%; se descargaron las secuencias tanto de material tipo como de la búsqueda general con un total de 7 secuencias descargadas de NCBI para la elaboración del árbol filogenético, se seleccionó a *Metarhizium robertsii* como outgroup al ser muy cercano el género *Fusarium*. Para el alineamiento con todas las secuencias descargadas de la base de datos y las obtenidas de la secuenciación se utilizó el algoritmo MUSCLE en el programa MEGA 11 (Koichiro Tamura, 2021), se verificó la calidad del alineamiento de manera visual y se buscó el mejor modelo posible para la elaboración del árbol filogenético, posteriormente se usó la herramienta de construcción de árboles filogenéticos con en el método de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura-Nei con 1000 bootstraps.

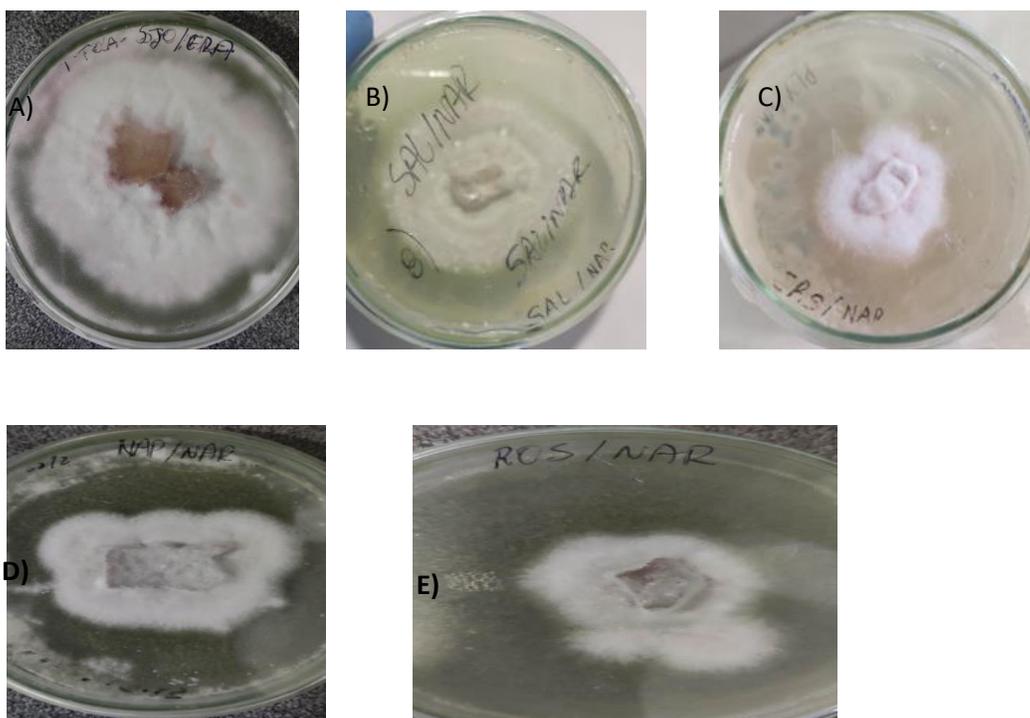
## Capítulo IV: Resultados

### Aislamiento de *Fusarium*

Se lograron obtener 4 aislados de naranjilla y 1 aislado de granadilla de diferentes comunidades de la parroquia Seis de Julio de Cuellaje y la comunidad contigua de El Cristal (Figura 1), estos fueron seleccionados del cultivo primario a través de sus características morfológicas mediante observación.

### Figura 4

Características morfológicas de los aislados de *Fusarium* spp. en medio PDA.



Nota: A) Granadilla Comunidad San Joaquín (G1\_SJO). B) Naranjilla Comunidad San Alberto (N2\_SAL). C) Naranjilla Comuna El Cristal (N1\_CRS). D) Naranjilla Comunidad de Nápoles (N4\_NAP). E) Naranjilla Comunidad El Rosario (N5\_ROS). Los aislados A, B y C presentan un micelio algodonoso de color rosado en los bordes y blanco en el centro a diferencia de los aislados D y E, los cuáles presentaron únicamente coloración blanca.



de Nápoles se asocia con *Fusarium fujikuroi* y se encuentra en un clado hermano con los aislados de San Alberto, San Joaquín y El Rosario, como podemos observar en la Figura 3. Los aislados asociados a *F. bactridioides*, *F. ficicrescens*, *F. fujikuroi*, *F. foetens* y *F. oxysporum* se asociaron en un clado y el aislado de El Cristal se asoció independientemente con *F. solani* en otro clado. Esto nos indica que se han encontrado especies diferentes que en algún momento divergieron, podríamos considerar que hay un clado del complejo de especies de *Fusarium solani* (FSEC) y otro clado del complejo de especies de *Fusarium oxysporum* (FOEC), donde se encuentran miembros del complejo de especies de *Fusarium fujikuroi* (FFEC).

**Tabla 4**

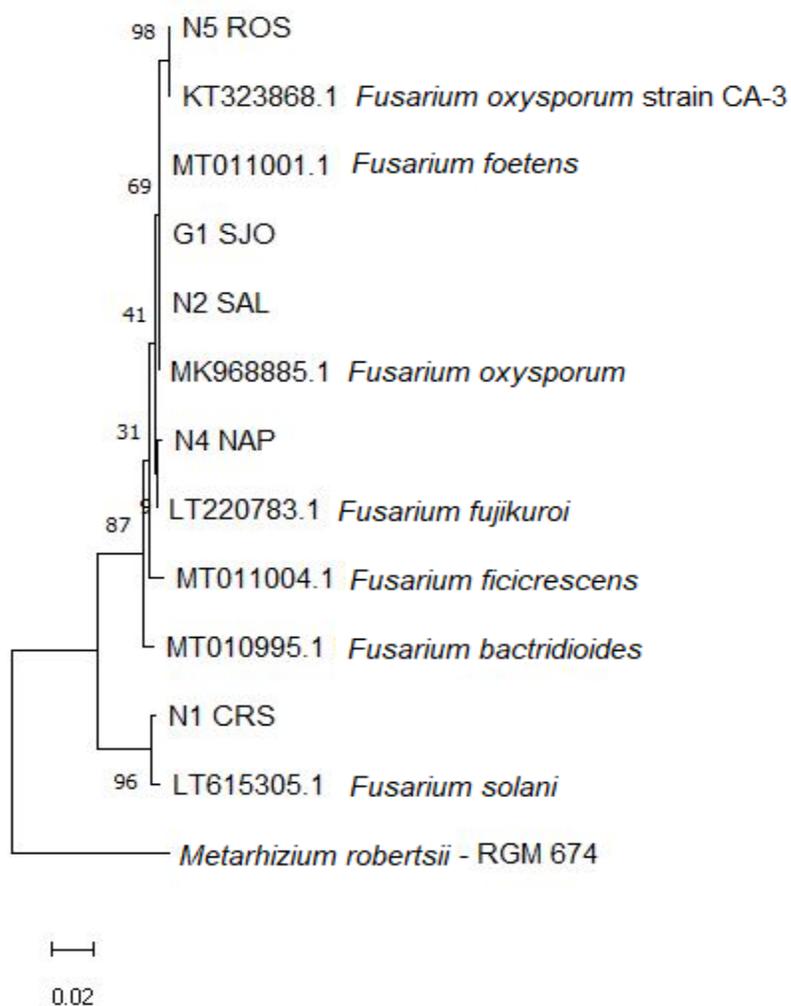
*Identificación de los aislados mediante BLAST en NCBI.*

<b>Código de la muestra</b>	<b>Especie Material Tipo</b>	<b>Porcentaje de identidad</b>	<b>Número de accesión</b>	<b>Especie Material Tipo</b>	<b>Porcentaje de identidad</b>	<b>Número de accesión</b>
<b>G1_SJO</b>	<i>Fusarium foetens</i>	99.77 %	MT01100	<i>Fusarium foetens</i>	99.88 %	MK96888
			1.1	<i>oxysporum</i>		5.1
<b>N1_CRS</b>	<i>Fusarium ficicrescens</i>	95.33 %	MT01100	<i>Fusarium solani</i>	99.22 %	LT615305.
			4.1			1
<b>N2_SAL</b>	<i>Fusarium foetens</i>	99.78 %	MT01100	<i>Fusarium oxysporum</i>	99.89 %	MK96888
			1.1			5.1
<b>N4_NAP</b>	<i>Fusarium bactridioides</i>	99.18 %	MT01099	<i>Fusarium fujikuroi</i>	99.46 %	LT220783.
			5.1			1
<b>N5_ROS</b>	<i>Fusarium foetens</i>	99.36 %	MT01100	<i>Fusarium oxysporum</i>	99.89 %	KT323868
			1.1			.1

*Nota:* Diferentes porcentajes de identificación para las muestras de aislados de *Fusarium*.

### Figura 6

Árbol filogenético desarrollado con las secuencias obtenidas del estudio e incluyendo las más cercanas comparadas a través de la búsqueda de BLAST con la base de datos del GENBANK.



Nota: Árbol filogenético desarrollado con las secuencias obtenidas del estudio e incluyendo las más cercanas comparadas a través de la búsqueda de BLAST con la base de datos del GENBANK, el grupo externo utilizado fue de otro género de la misma familia; la especie *Metarhizium robertsii*. Se utilizó el método de máxima verosimilitud con el modelo de Tamura-Nei + distribución gamma, se realizaron 1000 bootstraps.

## Capítulo V: Discusión

La presencia de estas especies de *Fusarium* en las plantaciones de granadilla y naranjilla puede tener un impacto negativo en la producción y calidad de los cultivos. Diversos estudios han demostrado que las especies de *Fusarium* pueden causar daños en los tejidos de las plantas, afectando su crecimiento y desarrollo (Boutigny, 2011). La presencia de *F. solani* en la zona de El Cristal y *F. ficicrescens* y *F. bactridioides* en Nápoles puede ser de particular preocupación, ya que estas especies se han reportado como patógenos importantes en otros cultivos como la papaya y el plátano (A, 1987; Khodakaramian G, 2018), además *F. solani* también ha sido reportado como un patógeno que afecta a los frutos de la granadilla (Balcázar GA, 2007). La identificación de *F. fujikuroi* en la comuna de San Alberto también es preocupante, ya que esta especie es un patógeno conocido de la naranjilla (Gondim-Júnior MG de C, 2004).

*F. ficicrescens* y *F. bactridioides* fueron relacionados con la especie de *Fusarium* identificada en una plantación de naranjilla en la comuna de Nápoles. Se ha demostrado que *F. ficiscens* ha sido implicado en la marchitez de la hoja de higuera (*Ficus carica*) (Mohammadi, 2015), mientras que *F. bactridioides* ha sido asociado con la enfermedad de la fruta de la palma datilera (*Phoenix dactylifera*) (Al-Hazmi, 2016).

La dispersión de *F. oxysporum* puede ser influenciada por una variedad de factores como la migración de insectos vectores, la distribución de semillas contaminadas, el movimiento de suelos y la propagación por humanos. Con base en estudio realizado por González (2021) en México se encontró que la dispersión de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, una forma patógena que afecta a los tomates, se relaciona con la distancia geográfica entre las parcelas de cultivo y la cantidad de plantas infectadas. Además, también encontraron que la dispersión es mayor durante la temporada de lluvias.

En otro estudio realizado por Medina (2017) en Chile, se encontró que la propagación de *F. oxysporum* en cultivos de tomate fue principalmente a través de semillas contaminadas.

También se encontró que la propagación del patógeno fue mayor en suelos con bajos niveles de nutrientes y materia orgánica. También se ha encontrado que *Fusarium* puede dispersarse por diversos medios, incluyendo el viento, el agua y a través de insectos y otros organismos. En particular, el estudio de O'Donnell (2010) encontró que ciertos tipos de *F. solani* pueden viajar largas distancias a través de las corrientes de viento, llegando incluso a otros continentes. Además, el estudio de Li W. H. (2019), encontró que el agua puede ser un medio importante de dispersión de *Fusarium*, particularmente en el caso de especies que son capaces de sobrevivir y crecer en ambientes acuáticos. En cuanto a la dispersión a través de insectos y otros organismos, Lee (2015), encontró que ciertas especies de *Fusarium* pueden ser transportadas por moscas de la fruta, mientras que Schroeder (2013) ,encontró que las hormigas pueden actuar como vectores de dispersión para *Fusarium* en los bosques tropicales ya que observaron mayor presencia de *Fusarium* en las colonias de hormigas que se encuentran en áreas afectadas por la actividad de los escarabajos del pino, que son conocidos vectores de *Fusarium*.

A la especie de *Fusarium* encontrada en San Joaquín también se la relaciona con *F. foetens* el cuál es un hongo fitopatógeno que ha sido reportado en varios cultivos, incluyendo el aguacate, plátano, papa y tomate (Mwamburi, 2014; Raad, 2019).

La presencia de *F. foetens* en cultivos puede tener graves consecuencias económicas y sociales, ya que esta especie puede causar la pudrición de la raíz, el marchitamiento y la muerte de las plantas, lo que reduce la producción y la calidad de los frutos (Abdullah, 2017). Además, se ha informado que este hongo puede producir compuestos tóxicos como la beauvericina y la eniatina, que pueden representar un riesgo para la salud humana y animal (Khatib, 2018). La producción de micotoxinas por parte de *F. fusicrescens* y *F. bactridioides* no ha sido ampliamente investigada, pero se ha demostrado que algunas especies de *Fusarium* son capaces de producir una variedad de micotoxinas como la fumonisina, el deoxinivalenol y la zearalenona (Astoreca, 2019), el FSEC puede producir una amplia variedad de micotoxinas,

entre ellas se encuentran las toxinas T-2 y HT-2, las fumonisinas, la diacetoxiscirpenol (DAS), la zearalenona (ZEA) y la enniatina (ENN) (Oliveira M. Z., 2018; Zhang, 2019). Por otro lado, el complejo de especies de *Fusarium fujikuroi* (FFEC) puede producir la fumonisina B1 (FB1), la fumonisina B2 (FB2), la beauvericina, la enniatina A (ENNA) y la bikaverina (Waalwijk, 2018). Estas micotoxinas pueden tener efectos negativos en la salud humana y animal, incluyendo la inducción de enfermedades crónicas, trastornos del sistema inmunológico y reproductivo, así como efectos tóxicos agudos (Wu, 2019; Wang, 2020). Es importante destacar que la producción de micotoxinas por *Fusarium* spp. puede ser influenciada por factores ambientales, como la temperatura y la humedad, así como por la interacción con otros microorganismos en el suelo y en las plantas hospederas (Wu, 2019). Las micotoxinas producidas por las especies de *Fusarium* pueden introducirse en los humanos a través de la ingesta de alimentos contaminados por estas toxinas. Estos alimentos pueden incluir granos, frutas, verduras, carne y productos lácteos (Pleadin, 2019). Las micotoxinas pueden ingresar en la cadena alimenticia de varias formas, incluyendo la contaminación de semillas y cultivos durante el crecimiento y la cosecha, así como la producción de micotoxinas durante el almacenamiento y el procesamiento de alimentos (Tangni, 2018). Las micotoxinas de *Fusarium* spp. son particularmente preocupantes debido a su capacidad para causar problemas en la salud de los humanos. El desoxinivalenol (DON), producido por miembros de FSEC es una de las micotoxinas más comunes y potencialmente peligrosas (EFSA, 2017), la ingestión de alimentos contaminados con DON puede causar efectos tóxicos en los humanos, como náuseas, vómitos y diarrea, así como efectos a largo plazo en la salud, como daño renal y hepático (Pleadin, 2019). La fumonisina producida por miembros del FFEC, y que puede encontrarse en diferentes alimentos contaminados como maíz o arroz ha sido relacionada con la enfermedad del esófago de Barratt, una enfermedad precursora del cáncer de esófago (Tangni, 2018). Es importante tomar medidas para prevenir la contaminación de los alimentos con micotoxinas de *Fusarium*, incluyendo el uso de prácticas agrícolas seguras y el control adecuado del almacenamiento y

procesamiento de alimentos (Pleadin, 2019). Además, la identificación temprana de la presencia de *Fusarium* en los cultivos y la eliminación de los cultivos afectados puede también ser efectiva para reducir la exposición humana a estas micotoxinas (EFSA, 2017).

Existen diversas estrategias para contrarrestar los efectos de las especies de *Fusarium* en los cultivos, especialmente en aquellos que son altamente susceptibles como la granadilla y la naranjilla. Una de las alternativas más eficaces es la utilización de técnicas de producción orgánica modernas, que permiten reducir la incidencia de enfermedades y aumentar la calidad y productividad de los cultivos, entre estas técnicas podemos destacar la rotación de cultivos, esto ayuda a reducir la incidencia de enfermedades y plagas en los cultivos. En el caso de *Fusarium*, se ha demostrado que la rotación de cultivos puede reducir la presencia de esta enfermedad en los cultivos de granadilla y naranjilla (Zuluaga-Montero, 2021). Los biocontroladores son microorganismos que se utilizan para controlar enfermedades y plagas en los cultivos y en el caso de *Fusarium* se han identificado diferentes especies de hongos antagonistas que pueden ser utilizados como biocontroladores, entre estos están *Trichoderma harzianum*, *T. virens* y *Bacillus subtilis* (Herrera, 2017). Existen también diferentes productos naturales que pueden ser utilizados para controlar la presencia de *Fusarium* en los cultivos. Por ejemplo, el aceite esencial de ajo ha demostrado tener propiedades antifúngicas contra *F. oxysporum* (Asgarpanah, 2013). Otros productos naturales que han demostrado tener efectos antifúngicos contra *Fusarium* son el extracto de semillas de moringa, el aceite esencial de canela y el extracto de hojas de neem (Abdel-Monaim, 2020; Castillo, 2019; Naeem, 2018). La identificación molecular de patógenos es una herramienta útil en la gestión de enfermedades en las plantaciones. Por ejemplo, en un estudio realizado en Colombia, se utilizó esta técnica para identificar la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* en plantas de granadilla infectadas en diferentes regiones del país (Restrepo, 2012). Esta técnica permitió una identificación precisa de la especie y la variedad del patógeno, lo que puede ayudar a mejorar las estrategias de control y prevención de enfermedades. Además, un estudio realizado en

Brasil utilizó la identificación molecular para identificar la presencia de *Fusarium* spp. en muestras de suelo y raíces de plantas de naranjilla, los resultados evidenciaron la presencia de diferentes especies de *Fusarium* en las muestras analizadas, lo que sugiere la necesidad de un manejo integrado de enfermedades que incluya la selección de variedades resistentes y el uso de medidas preventivas y correctivas (Oliveira J. P., 2019).

La presencia de diferentes especies de *Fusarium* en las comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje puede deberse a una variedad de factores, incluyendo la diversidad de plantas cultivadas, las condiciones climáticas y del suelo, y la presencia de patógenos en la zona. Un estudio realizado por Li X. L. (2018), encontró que la diversidad de plantas cultivadas en una zona puede afectar a la composición de las comunidades microbianas en el suelo, y, por lo tanto, la presencia de patógenos. Otros estudios también han encontrado que las condiciones climáticas, como la temperatura y la humedad, pueden influir en la presencia y actividad de patógenos en el suelo, incluyendo *Fusarium* (Alves-Santos, 2002; Chen X. L., 2021). Además, se ha encontrado que la dispersión de patógenos entre plantaciones cercanas puede contribuir a la propagación de enfermedades en las comunidades agrícolas (Akinsanmi, 2017). En el caso de El Rosario y San Joaquín que, a pesar de ser diferentes tipos de cultivos, donde se encontraron variedades de *F. oxysporum*, la presencia de patógenos en ambas plantaciones puede ser el resultado de la dispersión de esporas o de la transferencia de patógenos a través del suelo o del agua.

En general, la identificación molecular de patógenos en las comunidades agrícolas puede ser una herramienta valiosa para el control y prevención de enfermedades en los cultivos. Al identificar las especies de *Fusarium* presentes en las plantaciones, los agricultores pueden seleccionar variedades de plantas resistentes a enfermedades y aplicar tratamientos específicos para controlar los patógenos identificados (Gómez-Carabalí, 2018).

## Conclusiones

Se logró el aislamiento de *Fusarium* spp. a partir de muestras de 5 comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, 4 provinieron de plantaciones de naranjilla y una provino de una plantación de granadilla.

La identificación molecular permitió conocer las especies de *Fusarium* presentes en las muestras estudiadas, los resultados obtenidos fueron analizados filogenéticamente, lo que permitió establecer la relación evolutiva entre los aislados obtenidos y otros hongos del género *Fusarium*.

Se identificaron varias especies de *Fusarium* en plantaciones de granadilla y naranjilla en la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, la presencia de las mismas puede tener un impacto negativo en la producción y calidad de los cultivos, ya que las especies de *Fusarium* pueden causar daños en los tejidos de las plantas, afectando su crecimiento y desarrollo. Se encontraron especies preocupantes como integrantes del FSEC, de FFEC, así como de FOEC que han sido reportados como patógenos importantes en otros cultivos y de alta importancia para los cultivos de granadilla y naranjilla.

El estudio proporciona información valiosa sobre la diversidad y distribución de las especies de *Fusarium* en cultivos de granadilla y naranjilla en la parroquia Seis de Julio de Cuellaje. Los resultados pueden ser útiles para implementar medidas de control de plagas y enfermedades en estas plantaciones y para futuros estudios relacionados con la biología y ecología de estos hongos fitopatógenos.

## Recomendaciones

Implementar prácticas de manejo integrado de plagas: Dado que las especies de *Fusarium* pueden causar enfermedades en las plantas, es importante implementar prácticas de manejo integrado de plagas para reducir su impacto. Esto puede incluir el uso de fungicidas, rotación de cultivos y mejora de las condiciones de cultivo.

Se sugiere realizar estudios más amplios que incluyan más áreas geográficas y especies de plantas, con el fin de conocer la diversidad y distribución de las especies de *Fusarium* en la región. Asimismo, se recomienda evaluar la virulencia de las especies identificadas en plantas hospederas y la resistencia de las plantas a la infección por *Fusarium*.

Realizar monitoreo regular de las plantas: El monitoreo regular de las plantas puede ayudar a detectar tempranamente la presencia de enfermedades y plagas, lo que puede evitar la propagación de enfermedades.

Promover la diversidad de cultivos: La promoción de la diversidad de cultivos puede ayudar a reducir la propagación de enfermedades y plagas al reducir la concentración de plantas susceptibles en un área determinada.

Continuar la investigación: Es importante continuar la investigación para entender mejor la ecología y el comportamiento de las especies de *Fusarium*, así como para desarrollar estrategias de manejo de plagas más efectivas.

Educar a los agricultores: Es importante educar a los agricultores sobre las enfermedades y plagas que pueden afectar sus cultivos, así como sobre las mejores prácticas para prevenir y controlar estas enfermedades y plagas. Esto puede ayudar a reducir el impacto de las enfermedades y plagas en los cultivos y mejorar los rendimientos.

### Bibliografía

- A, O. (1987). Ecology and Pathogenicity of Anamorphic Soilborne Fungi. . *Amsterdam: Elsevier*.
- Abdel-Monaim, M. F. (2020). Evaluation of neem seed extract and gamma radiation in suppressing *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and improving growth and productivity of tomato plants. *Plant Pathology Journal*, 36(6), 574-585.
- Abdullah M.S. Al-Hatmi, M. M.-O. (2015). DNA barcoding, MALDI-TOF and AFLP data support *Fusarium ficicrescens* as a distinct species within the *F. fujikuroi* species complex. *Fungal Biology*, 43.
- Abdullah, S. K.-S.-K. (2017). Characterization and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium foetens* isolated from date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 8(2), 386.
- AGROCALIDAD. (2013). *FAO*. Retrieved from Plan Nacional de Contingencia para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc R4T):  
[www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/Docs\\_Resources\\_2015/PLAN-DE-CONTINGENCIA-COMPLETO-REVISION-11.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/Docs_Resources_2015/PLAN-DE-CONTINGENCIA-COMPLETO-REVISION-11.pdf)
- AGROCALIDAD. (2017). *Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Retrieved from MEDIDAS FITOSANITARIAS DE PREVENCIÓN PARA PLAGAS EMERGENTES EN ECUADOR: *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Foc R4T):  
[https://www.ippc.int/static/media/files/publication/es/2017/09/5.2.2.a.\\_Foc\\_R4T.\\_Ecuador.pdf](https://www.ippc.int/static/media/files/publication/es/2017/09/5.2.2.a._Foc_R4T._Ecuador.pdf)
- Ahmed M. Abdel-Azeem, M. A.-A. (2019). *Fusarium: Biodiversity, Ecological Significances, and Industrial Applications*. *Springer Nature Switzerland AG* , 201-261.
- Akinsanmi, O. D. (2017). Management of soilborne fungal diseases in subtropical agriculture: A review. *Crop Protection* , 6, 1-11.

- Al-Hazmi, A. A.-N.-K.-M. (2016). First report of *Fusarium bactridioides* causing fruit rot disease of date palm (*Phoenix dactylifera*) in Saudi Arabia. *Journal of Plant Pathology*, 98(2), 443-443.
- Altschul, S. G. (2011). BLAST. *Basic Local Alignment Search Tool*. .
- Alves-Santos, F. B.-M. (2002). Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. . *Mycological Research*, 106, 213-223.
- Ananya Tupaki-Sreepurna, A. J. (2018). *Fusarium*: The Versatile Pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 36:8-17.
- Anne-Laure Boutigny, A. G. (2019). Metabarcoding targeting the EF1 alpha region to assess *Fusarium* diversity on cereals. *PLoS ONE*, 14(1): e0207988.
- Asgarpanah, J. &. (2013). Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Allium cepa* Linn.: A review. . *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 3(1), 1-8.
- Astoreca, A. M. (2019). Fungi and mycotoxins in silage: an overview. . *Journal of Applied Microbiology*, 127(6), 1541-1556.
- Balcázar GA, Z.-B. T. (2007). Evaluación de la pudrición radical y muerte de plantas de curuba (*Passiflora mollissima*) ocasionada por *Fusarium solani*. *Agron Colomb.*, 25(2):312–318.
- Boutigny, A. W. (2011). Analysis of the *Fusarium graminearum* species complex from wheat, barley and maize in South Africa provides evidence of species-specific differences in host preference. . *Fungal Genetics and Biology*, 48(8), 914-920.
- Canencio, H. E. (2007). *EFFECTO DEL AGENTE CAUSAL DE LA MARCHITEZ VASCULAR DE LA UCHUVA (Physalis peruviana L.) EL HONGO Fusarium oxysporum SCHLECHT, SOBRE ALGUNAS SOLANÁCEAS Y OTRAS ESPECIES CULTIVADAS AFECTADAS POR FORMAS ESPECIALES DEL MICROORGANISMO*. Retrieved from PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA:  
<https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis293.pdf>

- Castillo, N. R. (2019). Chemical composition and antifungal activity of essential oils from cinnamon (*Cinnamomum verum* J. Presl) and oregano (*Origanum vulgare* L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* , 10(3), 605-616.
- Chen, X. L. (2021). Microbial communities and functional genes in tomato rhizosphere soil under different plant densities and irrigation regimes. *Environmental Science and Pollution Research* , 28, 22450-22463.
- Chen, Y. Z.-F. (2014). Genetic diversity and aggressiveness of *Fusarium* spp. isolated from canola in Alberta, Canada. *Plant Disease*, 98: 727-738.
- Coleman, J. J. (2015). The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Molecular Plant Pathology*, Volume 17, Issue 2 p. 146-158.
- CUELLAJE, GADP. (2020). *GADCUELLAJE*. Retrieved from Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial:  
<http://www.gadcuellaje.gob.ec/pdot/1/#:~:text=PDOT%20PDOT%202019%2D2023,-EI%20GAD%20CUELLAJE&text=Orienta%20y%20determina%20las%20acciones,las%20%C3%A1reas%20urbanas%20y%20rurales.>
- Dmitry A. Nikitin, E. A. (2023). Diversity, Ecological Characteristics and Identification of Some Problematic Phytopathogenic *Fusarium* in Soil: A Review. *Diversity* , 15, 49.
- EFSA. (2017). Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed. *EFSA Journal*, 15(9), 4718.
- Elke Nitschke, M. N. (2009). Differentiation of Eleven *Fusarium* spp. Isolated from Sugar Beet, Using Restriction Fragment Analysis of a Polymerase Chain Reaction Amplified Translation Elongation Factor 1 $\alpha$  Gene Fragment . *Mycology*, Vol. 99, No. 8.
- Geiser, D. J.-G. (2004). *Fusarium*-ID v. 1.0: A DNA sequence for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5-6), 473-479.

- GENEIOUS PRIME. (2023.2). GENEIOUS. <https://www.geneious.com>.
- Gilberto Manzo Sánchez, B. C. (2005). Hongos patógenos: enemigos versátiles. *Ciencia*, 71-75.
- Gómez-Carabalí, A. D. (2018). Molecular identification and antifungal susceptibility of *Fusarium* species isolated from patients with onychomycosis in Colombia. . *Revista Iberoamericana de Micología*, 35, 64-68.
- Gondim-Júnior MG de C, G. V. (2004). Avaliação de progênies de laranja-doce em área endêmica de declínio. *Pesqui Agropecu Bras*, 39(10):961–966.
- González, M. A.-P.-C. (2021). Spatial analysis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen dispersion in tomato crops in Nayarit, Mexico. *Tropical Plant Pathology*, 46(2), 106-113.
- Herrera, M. C. (2017). Efecto de hongos antagónicos en la reducción de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en plántulas de banano. . *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(2), 378-387.
- INIAP. (2011). *Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuaria*. Retrieved from Tecnologías para mejorar la productividad y la calidad de la fruta: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2771>
- Irina Vorob'eva, a. E. (2020). Fungi ecological niches of the genus *Fusarium* Link. *International Conferences "Plant Diversity: Status, Trends, Conservation Concept"* , 1-7.
- J. Montealegre, S. D. (2003). IDENTIFICACION DE *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. COMO AGENTE CAUSAL DE LA PODREDUMBRE DEL PIE DE TOMATE. *Boletín Micológico*, Vol. 18: 53-55.
- Joan E. Rodríguez-Grimaldo, G. M. (2022). *CIENCIAUANL*. Retrieved from FUSARIUM: UN FITOPATÓGENO QUE AMENAZA LA SALUD HUMANA : <https://cienciauanl.uanl.mx/?p=11832>
- Khatib, M. E. (2018). Beauvericin and enniatins: Emerging toxins produced by *Fusarium* and *Aspergillus*. . *Frontiers in Microbiology*, 9, 26.

- Khodakaramian G, S. E.-T. (2018). First Report of *Fusarium bactridioides* Causing Fusarium Wilt of Banana in Iran. *Plant Dis.* , 102(10):2055–2055.
- Koichiro Tamura, G. S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. . *Molecular Biology and Evolution*, 38:3022-3027.
- L. Lombard, N. v. (2014). Generic concepts in Nectriaceae. *STUDIES IN MYCOLOGY*, 80: 189–245.
- Lee, J. M. (2015). Infection of *Drosophila suzukii* by the entomopathogenic fungus *Fusarium*. *PLoS ONE*, 10(6): e0127550.
- Li, W. H. (2019). *Fusarium* species causing root rot of *Panax notoginseng* in China: diversity, pathogenicity, virulence and genetic differentiation. *Plant Pathology*, 68(5): 909-919.
- Li, X. L. (2018). Plant diversity enhances the diversity and activity of soil microbial communities in a maize cropping system. *Soil Biology and Biochemistry*, 126, 57-64.
- Llano, M. S. (2023). *Aislamiento e identificación molecular de Fusarium spp. a partir de muestras defincas ubicadas en comunidades de la parroquia 6 de Julio de Cuellaje, Cantón Cotacachi, Provincia de Imbabura*. Sanqolguí: ESPE - Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura.
- Lobo, A. P. (2012). La rizosfera: un "criptoecosistema" vital. Aspectos básicos y aplicados. *CONGRESO NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE CONAMA2012.*, (p. 17). Madrid.
- Mamta Joshi, R. S. (2013). Isolation and characterization of *Fusarium oxysporum*, a wilt causing fungus, for its pathogenic and non-pathogenic nature in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Applied and Natural Science*, 5 (1): 108 - 117.
- Medina, C. D. (2017). Detección de *Fusarium oxysporum* en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en la región de O'Higgins, Chile. *Idesia*, 35(4), 105-112.
- Mohammadi, M. F.-V. (2015). First report of *Fusarium ficicrescens* causing Figura (*Ficus carica*) leaf blight in Iran. *Plant Disease* , 99(5), 719-719.

- Mwamburi, L. A. (2014). Evaluation of resistance in avocado rootstocks and cultivars against *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora cinnamomi* and *Pythium ultimum*. . *Journal of Agricultural Science*, 6(8), 49.
- N. Yilmaz, M. S.-D. (2021). Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex . *Persoonia*, 46.
- Naeem, M. U. (2018). Antifungal activity of methanol extract of *Moringa oleifera* seeds against *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 30(1), 73-80.
- Nelson M. Lopera-Barrero, J. A. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Cien. Inv. Agr*, 35(1): 77-86.
- O'Donnell, K. K. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. . *Proceedings of the National Academy of Sciences*,, 95, 2044-2049. .
- O'Donnell, K. C. (1998). Molecular phylogenetic, morphological, and mycotoxin data support reidentification of the Quorn mycoprotein fungus as *Fusarium venenatum*. *Fungal Genetics and Biology*, 23: 57–67.
- O'Donnell, K. W. (2015). DNA sequence-based identification of *Fusarium*: current status and future directions. *Phytoparasitica*, 43, 583–595.
- O'Donnell, K. S. (2010). Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. *Journal of Clinical Microbiology* , 48(4): 1070-1080.
- Oliveira, J. P. (2019). Identification of *Fusarium* spp. associated with root rot disease in Rangpur lime (*Citrus limonia* Osbeck) and naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.). . *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(2), e-704.

- Oliveira, M. Z. (2018). Phylogenetic diversity, toxigenic potential and fungicide sensitivity of Fusarium isolates causing crown rot in soybeans. *Int J Food Microbiol*, 272, 33-42.
- Organization, European and Mediterranean Plant Protection. (2013). *Wiley Online Library*. Retrieved from PM 7/111 (1) Fusarium foetens:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epp.12021>
- OSORIO, G. A. (2009). *PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA*. Retrieved from ESTUDIO DE Fusarium foetens ASOCIADO A LA PUDRICIÓN BASAL EN CLAVEL (Dianthus caryophyllus L.) VARIEDAD NELSON:  
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8563/tesis528.pdf?sequence=1>
- Palacios, P. A. (2019). *UDLA*. Retrieved from MODELOS DE LOS PATRONES DE CONSUMO DE FRUTAS NO TRADICIONALES MARACUYÁ (Passiflora edulis) Y PITAHAYA AMARILLA (Selenicereus grandiflorus) EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/10717/1/UDLA-EC-TIAG-2019-13.pdf>
- Peter K. Maina, S. O. (2009). IMPACT OF LAND USE ON DISTRIBUTION AND DIVERSITY OF Fusarium species IN TAITA TAVETA, KENYA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 11: 323 - 335.
- Peter M. Henry, D. D.-H. (2021). Horizontal chromosome transfer and independent evolution drive diversification in Fusarium oxysporum f. sp. fragariae. *New Phytologist*, 230: 327 - 340.
- Pleadin, J. K. (2019). Fungal toxins in food. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 70(3), 169-177.
- Promega. (2021). Retrieved from <https://worldwide.promega.com/products/pcr/taq-polymerase/gotaq-master-mixes/?catNum=M7122>
- Raad, M. E. (2019). Fusarium spp. Associated with wilt disease in potato crops in Lebanon. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 10(6), 510.

- Restrepo, S. e. (2012). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* on yellow passion fruit in Colombia. *Plant Disease*, 96(5), 769.
- Ricardo Santillán Mendoza, G. R. (2017). Micotoxinas: ¿Qué son y cómo afectan a la salud pública? *Revista Digital Universitaria UNAM*, Vol. 18, Núm 6.
- Schroeder, R. A. (2013). Fungal community shifts associated with bark beetle-induced forest disturbance: implications for future beetle outbreaks. *Agricultural and Forest Entomology*, 15(1): 66-74.
- Smith, S. N. (2007). An Overview of Ecological and Habitat Aspects in the Genus *Fusarium* with Special Emphasis on the Soil Borne Pathogenic Forms. *Plant Pathology Bulletin*, 16: 97 - 120.
- Tangni, E. K. (2018). Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence, and health implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 965-986.
- Tudela, A. M. (2012). *INFECCIONES CAUSADAS POR EL GÉNERO Fusarium*. Retrieved from SEIMC: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Vaca, E. (2018). *PUCE*. Retrieved from ESTRATEGIAS DE RESTAURACIÓN AMBIENTAL EN ECOSISTEMAS FRAGMENTADOS EN LA PARROQUIA 6 DE JULIO - CUELLAJE, CANTÓN COTACACHI: <https://dspace.pucesi.edu.ec/handle/11010/260>
- Vignassa, M., Meile, J.-C., Chiroleu, F., Soria, C., Leneveu-Jenvrin, C., Schorr-Galindo, S., & Chillet, M. (2021). Pineapple Mycobiome Related to Fruitlet Core Rot Occurrence and the Influence of Fungal Species Dispersion Patterns. *Fungi*, 7, 175.
- Waalwijk, C. d. (2018). Quantitative real-time PCR detection of *Fusarium* species and their mycotoxins in plant hosts. *Pest Manag Sci*, 74(7), 1497-1508.
- Wang, J. L. (2020). Accumulation and health risk assessment of mycotoxins in wheat grains from China. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 13(1), 12-20.

- Wu, F. M. (2019). Worldwide Mycotoxin Exposure in Pig Feed: A Review. *J Agric Food Chem*, 67(48), 13429-13439.
- Yli-Mattila, T. (2010). ECOLOGY AND EVOLUTION OF TOXIGENIC FUSARIUM SPECIES IN CEREALS IN NORTHERN EUROPE AND ASIA. *Journal of Plant Pathology*, 92 (1),7-18.
- Zhang, J. W. (2019). Diversity and toxigenicity of *Fusarium* species isolated from maize in China. . *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 36(10), 1559-1571.
- Zuluaga-Montero, A. R.-G.-H. (2021). Effect of crop rotation on *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* incidence and soil microbiota in passion fruit orchards. *Crop Protection*, 149, 105759.

## Apéndices