

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO PARASITOLOGÍA



Identificación de Especies de *Fusarium* Asociadas a Semillas de Ajo Provenientes de Zacatecas, México

Por

FLORENCIO RODRÍGUEZ FLORES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Identificación de Especies de *Fusarium* Asociadas a Semillas de Ajo Provenientes
de Zacatecas, México

Por

FLORENCIO RODRIGUEZ FLORES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada:

Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Asesor Principal

Ing. Manuel Reveles Hernández
Coasesor

Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Junio 2013

DEDICATORIA

Este proyecto va dedicado a mi familia porque es la forma más sincera que encontré para agradecer su apoyo, compañía, cariño, amistad y confianza que me han brindado a lo largo de cada etapa de mi vida y por supuesto en esta aventura que comenzó hace cuatro años y medio que hoy rinde frutos. Esto no es el final de una etapa sino el comienzo de algo que podre contar y compartir con todos ustedes de todo corazón les digo gracias familia por el apoyo. Y quiero que sean parte de este logro, también este proyecto va dedicado a mi madre que con cariño, amor y sacrificio me hizo un hombre de bien en donde quieras que este mamá te dedico esto porque sé que siempre me cuidas y velas por mi y por cada miembro de la familia se que estas orgullosa de toda la familia.

Gracias.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo y colaboración de diversas personas que forman parte de mi Alma Terra Mater, a quien agradezco mi estadía y formación como profesionista. Quiero hacer un especial reconocimiento de gratitud a la Dra. Yisa María Fuentes Ochoa, Ing. Juan Carlos Delgado Ortiz, Ing. Manuel Reveles Hernández y al Dr. Gabriel Gallegos Morales por su paciencia, conocimiento y cooperación en el cumplimiento de este proyecto.

Realmente es larga la lista de las personas que quiero agradecer el termino de esta etapa de mi vida, que va desde mi familia hasta todas las personas que integran y alguna vez formaron parte de mi maravillosa universidad que van desde maestros, compañeros y amigos.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN.....	vi
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II	3
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Origen del Ajo	3
2.1.1 Importancia Económica del Ajo	3
2.1.2 Importancia social del Ajo.....	4
2.1.3 Valor Nutricional y Medicinal	4
2.1.4 Producción Mundial de Ajo	5
2.1.5 Producción Nacional del Ajo.....	6
2.2 Principales Plagas Presentes en el Ajo.....	7
2.2.1 Principales Plagas en el Cultivo	8
2.2.2 Trips.....	8
2.2.3 Ácaro del ajo.....	9
2.2.4 Pudrición por Nematodos	9
2.3 Sanidad.....	9
2.4 Enfermedades Virales en el Cultivo de Ajo	10
2.5 Pudrición blanca.....	11
2.5.1 Síntomas de la enfermedad.....	11
2.5.2 Moho Azul.....	12
2.5.3 Pudrición por <i>Botrytis</i>	13
2.5.4 Mancha púrpura	13
2.6 Generalidades del género <i>Fusarium</i>	14
2.6.1 <i>Fusarium</i>	14

CAPÍTULO III	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1 Etapa experimental I: Obtención del patógeno a partir de dientes de ajo en Papa Dextrosa Agar.....	17
3.1.1 Material vegetal.....	17
3.1.2 Desinfección de la semilla de ajo.....	17
3.1.3 Siembra de la semilla de ajo con síntomas de <i>Fusarium</i>	18
3.2 Etapa experimental II: Aislamiento del patógeno.....	18
3.2.1 Incremento del inóculo por siembra directa.....	18
3.2.2 Cultivo monospórico.....	18
3.3 Etapa experimental III: Caracterización morfológica.....	19
3.3.1 Preparación del carnation leaf agar.....	19
3.4 Etapa experimental IV: Identificación de las especies de <i>Fusarium</i> presentes en los dientes de ajo.....	19
CAPÍTULO IV	21
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
4.1 Etapa experimental I: Obtención del patógeno a partir de dientes de ajo en Papa Dextrosa Agar.....	21
4.1.1 Siembra de la semilla de ajo con síntomas de <i>Fusarium</i>	21
4.2 Etapa experimental II: Aislamiento del patógeno.....	21
4.2.1 Incremento del inóculo por siembra directa.....	21
4.3 Identificación de Especies de <i>Fusarium</i>	23
CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFIA	29

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Principales países productores de ajo en el año 2010	5
Cuadro 2.- Producción en México de ajo periodo 2007-2011	6
Cuadro 3. Producción agrícola ciclo otoño-invierno 2011, modalidad riego + temporal de ajo. Fuente SIAP, 2011	7
Cuadro 4. Purificación del patógeno de las diferentes variedades de ajo	21

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diferentes coloraciones presentes en la purificación de las colonias expresadas en medio PDA	22
Figura. 2. Morfología de aislamiento de semillas de ajo en clavel agar A: monofialides y microconidias; B: monofialides in situ; C: microconidios; D: macroconidios, E y F: clamidosporas <i>Fusarium oxysporum</i>	24
Figura. 3 Morfología de aislamiento de semillas de ajo en clavel agar A y B monofialides in situ en forma verticilada; C microconidios y fiálides; D microconidios en cadena in situ. <i>Fusarium verticillioides</i>	25
Figura. 4. Morfología de aislamiento de semillas de ajo en clavel agar A: microconidios y polifialides; B monofialides; C y D Polifialides y monofiálide. E y F: macroconidias <i>Fusarium proliferatum</i>	26

RESUMEN

El interés por conocer e identificar las diferentes especies de *Fusarium* presentes en semillas de ajo, ha sido con la finalidad mantener la sanidad de las mismas y así saber qué medidas de control tomar en cuenta para evitar pérdidas económicas del cultivo, así mismo, por la importancia respecto a la producción de micotoxinas que algunas especies de *Fusarium* producen y son dañinas para el hombre causando enfermedades degenerativas. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar morfológicamente especies de *Fusarium* encontradas en semillas de ajo del estado de Zacatecas, México. Estado en el que se concentra el 50.4% de la producción nacional de dicha hortaliza. En esta investigación se aislaron e identificaron tres especies de *Fusarium* presentes en ocho variedades (Chino, Jaspeado, Coreano, Perla, Cezac 06, Zacatecano, Ensenada y Blanco) de ajo (*Allium sativum*) mediante técnicas tradicionales y uso de claves taxonómicas para su identificación hasta especie. Dichas especies fueron: *Fusarium oxysporum*, *F. verticillioides* y *F. proliferatum*, la caracterización microscópica se llevó a cabo en cultivos crecidos sobre medio de cultivo CLA, y se basó en las características morfológicas de cada especie. En el caso de *F. oxysporum* Schlechtend se observó la producción de microconidias ovoides o en forma de riñón naciendo de monofialides laterales, cortas y anchas, afiladas hacia la punta. Las microconidias formaron masas pero nunca cadenas, las macroconidias presentaron de uno a cinco septos, en forma de luna ligeramente curvada. De célula apical afilada y basal en forma de pie. Se formaron abundantes clamiosporas grandes, hialinas, observándose aisladas o en parejas, intercalares o terminales; *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg formó cadenas largas de microconidios, monofialides. En tanto que *Fusarium proliferatum* formó microconidios en mono y polifialides con la presencia de macroconidios en forma de canoa con una célula apical de 3 a 5 septos, formando una sola célula con microconidias abundantes con apariencia de una pera con arreglo de cadenas y falsas cabezas.

Palabras claves: Identificación, especies *Fusarium*, semillas, ajo.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El ajo (*Allium sativum* L.) tiene su origen en Asia Central, la llegada a América de esta hortaliza fue en el segundo viaje de Cristóbal Colón (García, 1998; Heredia y Delgadillo, 2000). En México el ajo es considerado como una de las hortalizas más rentables, con un área sembrada de 5,539 ha (FAO, 2011), y con una producción nacional reportada para el año 2011 de 56,692 ton. Los estados que reúnen el 89% de la producción son Zacatecas, Guanajuato, Baja California, Aguascalientes, Sonora y Puebla. Zacatecas en el 2011 contribuyó con una superficie cosechada de 2,209 ha y con una producción de 28,557 ton, con un valor de 654,516 pesos (SIAP, 2011). Las plantas de ajo se reproducen asexualmente por lo que su única vía de propagación es mediante bulbillos o dientes, por lo cual es muy susceptible al ataque de plagas y enfermedades que provocan grandes pérdidas en su rendimiento (Vázquez, 2012). Dentro de los hongos fitopatógenos del ajo podemos mencionar a Pudrición blanca ocasionada por *Sclerotium cepivorum*, moho azul por *Penicillium* spp. y a *Fusarium* spp. Este último afectan al ajo desde su estado de plántula (Quiroz *et al.*, 2008; Sanabria *et al.*, 2002). *Fusarium* spp. ya ha sido reportado afectando a plantas de ajo en México con anterioridad en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Aguascalientes. En tanto un reporte de una nueva sintomatología de este patógeno fue reportado en Aguascalientes afectando a plantas de ajo (Velásquez y Medina, 2004a). Entre los hongos de suelo que provocan enfermedades en el cultivo de cebolla y ajo se encuentran diversas especies de *Fusarium*, ampliamente distribuido a nivel mundial, que ocasionan la producción basal del bulbo de cebolla (*Fusarium oxysporum* f. s.p. *cepae*) y del ajo (*Fusarium culmorum*). Los daños causados por este género pueden alcanzar el 40% de reducción de rendimientos (Schwartz y Krishna, 1995). En Guanajuato se ha mencionado a *F. oxysporum* como agente causal de pudrición del bulbo. Esta enfermedad ha sido reportada en todas las áreas productoras de ajo en el mundo; en México su presencia se ha indicado previamente en los estados de Puebla y Guanajuato afectando a plantas de ajo (Delgadillo, 2000; Alvarado, 1987). *F. proliferatum* se encontró afectado al cultivo de ajo en el noreste de los Estados

Unidos, (Dugan *et al.*, 2007), Egipto (Galal *et al.*, 2002), Polonia, Serbia (Stankovic *et al.*, 2007; Stepien *et al.*, 2011) y recientemente en la India (Ravi-Sankar, 2012), España (Palmero *et al.*, 2012) y en México (Ochoa *et al.*, 2013). También es posible que este patógeno puede afectar a plantas de ajo durante su crecimiento en campo (Stankovic *et al.*, 2007). Sin embargo nuevos reportes de *F. verticillioides*, *F. oxysporum* y *F. proliferatum* afectando a semillas de ajo en Aguascalientes (Ochoa *et al.*, 2012).

La correcta identificación de las especies de *Fusarium* requiere de una observación detallada del cultivo, ya que el género se caracteriza por una gran variabilidad morfológica bajo diferentes condiciones de cultivo y tiende a degenerarse rápidamente (Seifert *et al.*, 2000). Por lo anterior el presente trabajo tiene como objetivo aislar e identificar morfológicamente especies de *Fusarium* encontradas en semillas de ajo del estado de Zacatecas, México.

CAPÍTULO II

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen del Ajo

El ajo *Allium sativum* L., al igual que la cebolla *Allium cepa* L., es una planta que tuvo su origen en Asia Central donde el antecesor directo del ajo fue *Allium longicuspis* Regel, es una especie endémica sus propiedades terapéuticas y sus usos se conocen desde hace más de 3000 años, aunque algunos autores remiten su uso desde 4000 años antes de Cristo (García, 1998; Heredia y Delgadillo, 2000). El ajo fue introducido a lo que sería América Latina en los últimos años del siglo XIV, durante el segundo viaje de Cristóbal Colón (Reveles y Rubio, 2006; FAO, 1988).

La introducción a América se remonta a la época de la conquista española, quienes lo introdujeron a Cuba y de ahí al resto de las colonias. En México se reportan superficies sembradas de esta hortaliza a principios del Siglo XX en la región del Bajío, adquiriendo mayor importancia económica hasta mediados de siglo, en donde se tienen registradas las primeras exportaciones de ajo, como resultado de la ventaja comparativa que implica su posibilidad de cosecha en la época del año en la que se registra regularmente una oferta mundial baja (Espinosa *et al.*, 2003; Macías *et al.*, 2010).

2.1.1 Importancia Económica del Ajo

La producción mundial de ajo y el comercio internacional han venido experimentando un sostenido aumento, como consecuencia del cambio de los hábitos de consumo hacia una alimentación más saludable y del reconocimiento de sus propiedades terapéuticas (Burba, 2006; Chávez *et al.*, 2008).

El cultivo de ajo es de gran importancia socioeconómica para el estado de Zacatecas ya que se desarrolla en el campo durante otoño-invierno cuando existen pocas alternativas para el empleo en el medio rural pero las actividades de limpieza,

selección y empacado continúan durante el resto del año. La importancia socioeconómica de ésta hortaliza en Zacatecas se ve reflejada en el hecho de generar alrededor de 412,300 jornales por ciclo de cultivo (Reveles y Rubio, 2006; Velázquez *et al.*, 2010 y Mena, 2006).

2.1.2 Importancia social del Ajo

El uso principalmente del ajo es como condimento, particularmente en los platillos de la cocina asiática, latinoamericana, en algunos países de Europa y últimamente en los Estados Unidos. Las presentaciones requeridas por los consumidores son diversas, desde el bulbo del ajo en fresco o seco, en conserva y deshidratado. En México se tiene un consumo aproximado de 500 gramos por persona al año, de los cuales una cifra cercana al 82% se consume en fresco y el 18% a través de diferentes productos derivados de procesos industriales como aceite, polvo, medicamentos, extractos (Velázquez, 2011; Espinosa *et al.*, 2003).

2.1.3 Valor Nutricional y Medicinal

El ajo no sólo es importante por el uso culinario, sino también por su valor nutricional y medicinal. Este en estado verde contiene sodio, azúcares, proteínas crudas, celulosas, cenizas y vitaminas. En los bulbos maduros contiene aceite esencial y en estado seco contiene insulina, la cual es desdoblada por el organismo en fructosa. También, es portador de una sustancia bacteriana denominada fitocida, la cual detiene el desarrollo de las bacterias que causan la tuberculosis, disentería, difteria, cólera y otras enfermedades. Se usa en tratamientos preventivos de la alta presión arterial, arteriosclerosis, catarros, asma y para enfermedades causadas por parásitos intestinales, es expectorante, vermífugo, tónico para los pulmones y la pituitaria. Además, en las secreciones de las raíces del ajo se han descubierto sustancias fitocidas que protegen otras plantas contra algunas enfermedades, como lo son: el tizón tardío de la papa y la bacteriosis en el repollo (Anónimo, 1; Pal y Platt, 1995; Cabrera y Elliot, 1996).

2.1.4 Producción Mundial de Ajo

En el año 2010 los principales países productores de ajo fueron: China, India, Republica de Corea y Egipto con una producción de 18,558669, 833,970, 271,560 y 244626 ton respectivamente, tal como se visualiza en el cuadro 1(FAOSTAT, 2010).

Posición	País	Valor de miles de pesos	Producción (T)	Símbolo
1	China	9768169*	18558669	F
2	India	438951	833970	
3	Republica de Corea	142932	271560	
4	Egipto	128756	244626	
5	Federación Rusa	112363	213480	
6	Myanmar	97846	185900	F
7	Etiopía	94899	180300	F
8	Estados Unidos de América	89577	170190	
9	Bangladesh	86526	164392	
10	Ucrania	82845	157400	
11	España	71582	136000	
12	Argentina	67845	128900	F
13	Brasil	52055	104126	
14	República Popular Democrática de Corea	40528	77000	F
15	Turquía	40494	76936	
16	Argelia	37212	70700	F
17	Tailandia	35848	68108	
18	Rumania	35377	67215	
19	Irán	34738	66000	F
20	Pakistán	30121	57229	

* :Cifras no oficiales

F: Estimación FAO

Cuadro 1. Principales países productores de ajo en el año 2010

2.1.5 Producción Nacional del Ajo

De acuerdo con FAOSTAT (2010) en México en el período 2007-2011 se produjeron un promedio de 53,719.2 ton, Cuadro 2. Pero en 2011 México produjo 56,692 ton de ajo como se observa en el Cuadro 3. Siendo la región centro-norte con mayor producción oscilando aproximadamente en 50,884.67 ton esto equivalente a 89% de la producción anual de 2011 en México (SIAP, 2011).

Año	Área cosechada ha	Producción ton
2007	5491	56999
2008	5035	50015
2009	5674	56088
2010	4909	47429
2011	5675	58065

Cuadro 2.- Producción en México de ajo período 2007-2011 (Fao, 2011)

La principal área productora de ajo en México se localiza en la parte centro norte del país en la que destacan los estados de Zacatecas, Guanajuato y Aguascalientes como se puede observar en el Cuadro 3, siendo el estado de Zacatecas el principal estado productor de ajo de México con una superficie de 2,209 ha y una producción de 28,557 ton en el año 2011 (SIAP, 2011).

Estadística	Sup. Cosechada	Sup. Cosechada	Producción	Valor Producción
	(ha)	(ha)	(ha)	(Miles de Pesos)
Zacatecas	2,209.00	2,209.00	28,557.10	652,672.63
Guanajuato	945.5	945.5	9,292.18	185,566.74
Sonora	502	502	2,680.80	39,452.77
Baja California	377	377	4,269.99	197,057.68
Puebla	331	331	2,210.50	18,8894.65
Aguascalientes	286	286	3,874.00	48,156.00
Oaxaca	253.15	253.15	1,541.96	19,581.28
Queretaro	157	157	1,285.50	11,971.45
Guerrero	143	143	602.2	7,793.92
Chihuahua	109.5	93.5	308.5	7,222.50
Nuevo León	104	104	1,179.00	24,464.00
Baja California Sur	38.25	38.25	403.52	7,306.15
San Luis Potosí	36	36	253.12	2,485.22
Hidalgo	25	25	175	1,487.50
Tlaxcala	9	9	8.93	58.04
Jalisco	7	7	32	367.4
Michoacán	3	3	9	180
Coahuila	2	0	0	0
Durango	1.5	1.5	9	405
Total	5,538.90	5,520.90	56,692.30	1,225,112.94

Cuadro 3. Producción agrícola ciclo otoño-invierno 2011, modalidad riego + temporal de ajo.
Fuente SIAP, 2011

2.2 Principales Plagas Presentes en el Ajo

A nivel mundial la presencia de hongos, bacterias, virus y nematodos en los sistemas de producción de ajo ocasionan una serie de enfermedades, que dependiendo de la severidad con que se presente y de la parte de la planta que afecta, tienen un amplio impacto en pérdidas económicas y pueden ocasionar la afectación en la inocuidad de los productos por la presencia directa de estos organismos o bien por la contaminación con agroquímicos (Everhart *et al.*, 2003; Izquierdo, 2006).

En tanto esta hortaliza, al igual que otros cultivos, se ve afectada por la incidencia de enfermedades que reducen el rendimiento y calidad de la cosecha. Aunque se conocen la presencia de enfermedades foliares como la denominada mancha púrpura y virosis. Las enfermedades causadas por patógenos que viven en el suelo son las más importantes en la región, reportándose como enfermedades del

bulbo y de la raíz las causadas por *S. cepivorum* Berk., *Penicillium* y *Fusarium* sp., (Mendoza, 1999; Velásquez y Medina, 2004b; Arévalo *et al.*, 2002).

2.2.1 Principales Plagas en el Cultivo

En México, en las regiones de Zacatecas, Aguascalientes y Guanajuato (con mayor potencial productivo de ajo), los principales problemas con plagas en el cultivo son: trips (*Thrips tabaci*, *Frankliniella occidentalis*), ácaros (*Rhizoglyphus* sp.) y el nematodo (*Ditylenchus dipsac*) (Mendoza, 1999 y Arévalo *et al.*, 2002).

2.2.2 Trips

En las parcelas comerciales de ajo en Zacatecas se ha encontrado al trips de la cebolla (*Thrips tabaci* L.) y al trips occidental de las flores (*Frankliniella occidentalis* P.), miden entre 1.3-1.5 mm, de largo. Poseen un cuerpo blanco o amarillo muy pálido; el daño mecánico que estos ocasionan consiste en inyectar su propia saliva para disolver los tejidos de la planta y de esta manera poder ingerirlos. El crecimiento de las plantas se detiene al ser afectadas severamente, las hojas pueden morir; además estas heridas pueden servir como puerta de entrada para otros patógenos. El trips de la cebolla puede actuar como vector del virus de la mancha amarilla de la cebolla que puede afectar a las plantas de ajo mientras que el trips occidental de las flores es capaz de transmitir un virus que afecta a las plantas de jitomate y chile (Heredia y Delgadillo, 2000; Mena, 2006)

Esta plaga tanto en estado de ninfa como adulto se alimenta principalmente en la base de las plantas, dentro del cogollo; sin embargo, el daño es más severo durante la formación y el llenado del bulbo, por lo que esta es la época en que deben controlarse para evitar que alcancen niveles incontrolables. El umbral es de 30 trips por planta a mitad del desarrollo del cultivo. El manejo de esta plaga es complicado pero en cebolla se ha encontrado que evitando la sequia en el suelo se evitar el incremento de las poblaciones de esta plaga, los insecticidas recomendados son Diazinon CE 25%, L-Cyhalotrina CE 07%, Malation CE 49% y Paration metílico CE 47% (García, 1998; Bujanos y Marín, 2000; Grageola, 1995).

2.2.3 Ácaro del ajo

Produce afectaciones en el cultivo y en campo haciéndose difícil su combate, por la forma en que se aloja en la planta. Durante el almacenamiento los ácaros se mantienen dentro de los bulbos dañando los dientes, los que son fuente de infestación. En las plantaciones puede detectarse la presencia de ácaros por la aparición de síntomas característicos donde las hojas más jóvenes no emergen y hace, con la anterior, una forma de arpa o aparece rizada en forma de zarcillo; hojas con bandas longitudinales cloróticas o con las observación de ellos, con una lupa de 10X, a lo largo del nervio central de las hojas intermedias de la planta. A partir de 25 a 70 días de brotado el cultivo se producen los incrementos y se convierte en un problema grave si no se realizó la desinfección de la semilla. En estos casos se recomienda la aplicación de Azufre, la fumigación al suelo con Metam Sodio a la presiembra (Arévalo *et al.*, 2002).

2.2.4 Pudrición por Nematodos

La pudrición de bulbos es la principal característica del ataque del nematodo conocido como *Ditylenchus dipsaci* Kuhn, que también pueden afectar severamente a la cebolla. Las hojas de las plantas afectadas toman un color amarillento que al avanzar el ataque toma una coloración café; el tallo se engrosa, las raíces se destruyen y el bulbo se deforma. Esta pudrición va acompañada de un aroma desagradable originado en la pudrición bacteriana que suele acompañar al ataque de nematodos. El control químico para este nematodo es la aplicación de Nematicur, Furadan (Pérez *et al.*, 2002; González, 1979; Thorne, 1968).

2.3 Sanidad

Reveles *et al.* 2009 indican que la sanidad de la semilla es definitivamente el criterio más importante en la selección de semilla puesto que patógenos como los que causan la pudrición blanca y otras enfermedades se transmiten a través de la semilla. Probablemente el uso de semilla proveniente de parcelas con problemas sanitarios, ha sido la vía de diseminación más importante de enfermedades.

Otra anomalía de la semilla es la deformación de bulbos causada por nematodos o la presencia de dientes brotados conocidos como “escobeteados”. Los bulbos con poca consistencia, livianos o marchitos deben descartarse ya que seguramente se encuentran enfermos (Reveles *et al.*, 2009).

2.4 Enfermedades Virales en el Cultivo de Ajo

La presencia de virus en regiones productoras de ajo en el mundo como Argentina, Australia, Brasil y Francia, entre otros, han sido mencionados por diferentes autores (Conci *et al.*, 2003; Fajardo *et al.*, 2001; Lot *et al.*, 1998; Sward y Brennan, 1994). Globalmente los principales virus detectados afectando a plantas de ajo son los Potyvirus *Onion yellow dwarf virus* y *Leek yellow stripe virus* mientras que los Carlavirus se han mencionado al *Shallot latent virus* y al *Garlic common latent virus* (Koch *et al.*, 1995; Takaichi *et al.*, 2001; Fajardo *et al.*, 2001; Cabrera y Elliot, 1996).

En México se ha descrito la incidencia y efecto de las enfermedades provocadas por virus en las parcelas comerciales y experimentales de ajo en el estado de Guanajuato (Pérez *et al.*, 2007; Pérez *et al.*, 2008). Los Potyvirus como el mosaico del pepino (*Cucumer mosaic virus*) y el virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*) comunes en pepino (*Cucumis sativus* L.) ó chile (*Capsicum annum* L.) también han sido reportados afectando al cultivo de ajo (Pérez y Rico, 2004). En Zacatecas, México se han identificado cinco virus afectando plantas de diferentes variedades de ajo en parcelas comerciales y experimentales; los virus identificados fueron el *Onion yellow dwarf virus* (virus del enanismo de la cebolla, ODYV), *Garlic common latent* (virus latente común de ajo, GarCLV), *Leek yellow stripe virus* (virus del rayado amarillo del puerro, LYSV), *Shallot latent virus* (virus latente del Shallot, SLV) y *Tobacco etch virus* (virus del jaspeado del tabaco, TEV), (Velásquez *et al.*, 2010).

Los síntomas asociados con estos virus incluyen franjas o manchas blanquecinas a amarillas en las hojas, deformaciones de las venas o del escapo floral, entre los más frecuentes. El principal medio de diseminación de estas

enfermedades es la propia semilla aunque algunos vectores como los pulgones también son capaces de transmitirlos. El manejo sustentable de estas enfermedades se vuelve crítico para técnicos y productores; dentro de este manejo es necesario un conocimiento de las enfermedades, sus agentes causales, sintomatología, epidemiología y métodos de control (Velázquez *et al.*, 2009).

2.5 Pudrición blanca

La enfermedad conocida como pudrición blanca representa la principal amenaza para los cultivos de ajo y cebolla en los estados de Zacatecas y Aguascalientes. De acuerdo con algunos reportes la enfermedad se reportó en Zacatecas desde inicios de la década de 1990 (Olvera *et al.*, 1991), la pudrición blanca, afecta solamente a las especies de *Allium* desarrollando estructuras de resistencia que tienen capacidad de sobrevivir en el suelo por más de 20 años. La pudrición blanca afecta directamente al producto comercial (bulbo), causando pérdidas que pueden llegar al 100% (Delgadillo, 2000; Conles *et al.*, 2010). La pudrición blanca es causada por el hongo llamado *S. cepivorum* Berk. cuya principal característica es la producción de pequeñas esferas negras llamadas esclerocios sobre la superficie de los bulbos de plantas de ajo o cebolla. Estas estructuras, que regularmente miden entre 0.3 y 0.6 mm de diámetro, se pueden encontrar entre el algodoncillo blanco o micelio que cubre los bulbos de las plantas enfermas. La función de los esclerocios es la de sobrevivir en el suelo por periodos prolongados, siendo capaz de sobrevivir hasta 40 años, aún sin la presencia de plantas de ajo o cebolla (Davis *et al.*, 2007).

2.5.1 Síntomas de la enfermedad

Las hojas más viejas de las plantas de ajo o cebolla que se infectan con este hongo toman una coloración café y van muriendo hasta que solo quedan vivas las hojas más jóvenes de la planta que muestran una coloración verde opaco. En este punto las envolturas externas del bulbo de la plantas enfermas han sido colonizadas por el micelio del hongo y los esclerocios que se produjeron entre el algodoncillo se encuentran listos para ser liberados en el suelo donde podrán permanecer viables

hasta por 40 años aún cuando no se planten ajos o cebollas durante ese tiempo. El manejo de la enfermedad, la incorporación de materia orgánica al suelo (Pereira *et al.*, 1996; Ulacio *et al.*, 2003), la rotación de cultivos tales como crucíferas, como el brócoli, aplicación de antagonistas como *Trichoderma* (Zavaleta, 1999; Rojas *et al.*, 2010).

2.5.2 Moho Azul

El ataque de esta enfermedad puede originar una reducida emergencia de plántulas en la parcela así como pudriciones de los bulbos durante el período de almacenaje, donde puede contaminar hasta el 90% de los bulbos (Hernández *et al.*, 2006). Bajo condiciones experimentales, la enfermedad puede destruir el 50% de los “dientes” antes de la emergencia (APS, 1995). Además de conocerse su presencia afectando ajo, se ha mencionado su incidencia en almácigos y bajo condiciones de campo en el cultivo de cebolla en el estado de Morelos, México (Montes *et al.*, 2003).

Se ha reportado a *Penicillium hirsutum* Dierckx como el responsable de la pudrición del “diente” de ajo, pero otras especies del mismo hongo pueden estar involucradas como *Penicillium corymbiferum* (Westling) en Argentina (APS, 1995; Rivas, 1999). Recientemente, Hernández *et al* (2006) reportaron la patogenicidad de *Penicillium citrinum* Thom. sobre “dientes” de ajo. Los síntomas de la enfermedad en el campo incluyen una pudrición de la “semilla” después de la plantación, lo que resulta en plantas marchitas, cloróticas, débiles o achaparradas, a esta enfermedad se la ha denominado “pérdida de vigor” en otras áreas productoras de ajo como el bajío. En Aguascalientes y Zacatecas la enfermedad parece asociada con los “dientes” que germinan tardíamente. La característica distintiva de la enfermedad es el desarrollo de micelio de color verde azul sobre el “diente” o sus restos. (Velásquez y Medina 2004b; Chávez, 2010).

2.5.3 Pudrición por *Botrytis*

La presencia de esta enfermedad ha sido registrada en Noruega, Finlandia, Bulgaria, Hungría, Alemania, Inglaterra, Brasil, Nueva Zelandia, Estados Unidos de América y Canadá. Se ha reportado también que las pérdidas causadas en el cultivo de ajo pueden ser del 30% o mayores (APS, 1995).

El organismo responsable de esta enfermedad es el hongo *Botrytis porri* Buchw., (APS, 1995; Somerville *et al.*, 1984). Los síntomas foliares asociados con este patógeno se manifiestan inicialmente en las hojas más viejas tomando una coloración amarilla o café eventualmente las hojas más jóvenes también se secan y solamente las hojas emergentes conservan su color verde. En California se ha mencionado que las plantas de ajo afectadas por éste patógeno son también achaparradas y se advierte marchitez del follaje; los bulbos presentan un aspecto “chupado” y son muy ligeros (Somerville *et al.*, 1984). Frecuentemente la enfermedad prosigue su desarrollo después de la cosecha. La característica distintiva de la enfermedad es la presencia de esclerocios en los bulbos (APS, 1995; Velásquez y Medina, 2004b).

2.5.4 Mancha púrpura

Esta enfermedad, ocurre muy esporádicamente en Aguascalientes y Zacatecas aunque los productores de ajo de esa región realizan aspersiones de fungicidas destinadas a “prevenir” la incidencia de la mancha púrpura. En México se le ha reportado previamente en Morelos, San Luís Potosí, Sinaloa, Sonora, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas y Zacatecas (Mendoza y Pinto, 1985; Mendoza, 1999). El hongo responsable de esta enfermedad es *Alternaria porri* Ellis Ciferri, en cuanto a los síntomas aparecen en esta enfermedad es un gran número de pequeños puntos blanquecinos que se desarrollan concéntricamente. Después de dos a cuatro días estos puntos concéntricos se tornan de color rojo vino hasta que finalmente aparece una coloración púrpura en su parte central y amarillenta o rojiza en el borde de la lesión. Sobre estas manchas se forman las conidias del hongo; sí las condiciones favorecen la epidemia, las manchas en las hojas se unen provocando la defoliación, mientras que las lesiones en los tallos pueden estrangularlos. Las escamas llegan a oscurecerse y se desecan (Delgadillo, 2001; Mendoza, 1996).

2.6 Generalidades del género *Fusarium*

El género *Fusarium* es el agente causal del marchitamiento vascular, enfermedad que afecta a una gran variedad de cultivos tales como: ajo, algodón, arveja, banano, brócoli, calabacita, cebolla, chile, fresa, linaza, melón, ornamentales, clavel, crisantemo, gladiolos, tulipanes, repollo, tomate económicamente importantes alrededor de todo el mundo (Ortodena, *et al.*, 2004; Groenewald, 2006). Las especies de *Fusarium* están ampliamente distribuidas en los suelos y sustratos orgánicos, por ejemplo, han sido aislados desde el permafrost en el Ártico hasta de las arenas de Sahara (Calle, 2005). El gran número de especies y poblaciones no identificadas en este género se debe al alto grado de variación en sus características morfológicas y fisiológicas, y esto explica la capacidad que tiene *Fusarium* para colonizar variados nichos ecológicos en distintas áreas geográficas (Díaz de Castro *et al.*, 2007).

2.6.1 *Fusarium*

Fusarium crece rápidamente en agar papa dextrosa a 25 ° C, produciendo un micelio algodonoso e incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o amarillo pálido, rojo o púrpura (Díaz de Castro *et al.*, 2007). Este patógeno produce un micelio septado hialino que produce tres tipos diferentes de esporas asexuales. Los microconidios son producidos en el micelio aéreo solo o en cadenas, tiene de una a dos células y son las esporas que el hongo produce con mayor frecuencia y abundancia en todas las condiciones. Estas esporas son las que el hongo forma con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas infectadas (Díaz de Castro *et al.*, 2007). El género *Fusarium* puede desarrollar tres formas conidiales: microconidias, generalmente fialosporas, macroconidios septados, así como clamidosporas globosas con paredes gruesas, solitarias o en cadena (Holliday, 1980).

Los reportes de *Fusarium* spp, afectando a plantas ha sido mencionado en gran parte del mundo, perturbando a una gran variedad de cultivos como algodón, ajo, arveja, banano, brócoli, calabacita, cebolla, chile, fresa, linaza, melón, ornamentales, clavel, crisantemo, gladiolos, tulipanes, repollo, tomate.

Económicamente este patógeno es importante alrededor de todo el mundo (Ortodena *et al.*, 2004; Groenewald, 2006; Sanabria *et al.*, 2002; Agrios, 2005). Las pérdidas provocadas por la enfermedad llamada pudrición basal causada por el patógeno *Fusarium* spp pueden alcanzar hasta el 40% en condiciones específicas. El hongo puede causar la pudrición de la semilla aunque en plantas adultas los primeros síntomas pueden observarse como deformaciones, amarillamiento y necrosis de las hojas (Velásquez, 2004; Amador, 2009). Este patógeno ya ha sido reportado afectando a plantas de ajo en México con anterioridad en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Aguascalientes. En tanto se reportó una nueva sintomatología de este patógeno en Aguascalientes afectando el cultivo de ajo (Velásquez y Medina, 2004a).

En Guanajuato se a mencionado *F. oxysporum* como agente causal de pudrición del bulbo. Esta enfermedad ha sido reportada en todas las áreas productoras de ajo en el mundo; en México su presencia se ha indicado previamente en los estados de Puebla y Guanajuato (Delgadillo, 2000; Alvarado, 1987). *F. oxysporum* puede ser transportado por la semilla, partículas del suelo, restos infectados del cultivo así como el agua excedente del riego. Las plantas afectadas por la enfermedad se pueden encontrar formando manchones bien definidos en el campo, amarillamiento y muerte regresiva de las puntas de las hojas, mostrando raíces de color café o rosa oscuro con crecimiento de micelio blanco en la base de los bulbos. Se sabe que las razas de este patógeno que atacan al ajo no son capaces de dañar a las plantas de cebolla; sin embargo sí son capaces de afectar a cultivos de cereales. El hongo se transmite por diente-semilla de ajo; en el suelo sobrevive indefinidamente en forma de clamidospora. La temperatura óptima para su desarrollo va de 25 a 28°C. (Velásquez y Medina, 2005; Delgadillo, 2000).

Además se ha observado que los bulbos de las plantas afectadas, no alcanzan a diferenciar completamente sus “dientes” aun cuando los bulbos alcanzan un tamaño normal. Al ser presionados con la mano, los bulbos afectados tienen una consistencia esponjosa, por lo que se les conoce como “ajos de hule”. En Aguascalientes, este síntoma se ha observado con mayor frecuencia hacia la época de cosecha (Velásquez y Medina, 2004b).

F. proliferatum ha causado enormes pérdidas en la agricultura debido a su amplia variedad de hospederos. Este patógeno tiene importancia económica ya que se ha encontrado afectando a cultivos como el arroz, maíz, plátano, sorgo, espárrago, pinos, palmeras, cebolla (Leslie y Summerell, 2006; Galván *et al.*, 2008). Este patógeno se encontró afectando el ajo en el noreste de los Estados Unidos, (Dugan *et al.*, 2007), Egipto (Galand *et al.*, 2002), Polonia, Serbia (Stankovic *et al.*, 2007; Stepien *et al.*, 2011) y recientemente en India (Ravi-Sankar, 2012), España (Palmero *et al.*, 2012) y en México (Ochoa *et al.*, 2013). También es posible que este patógeno puede afectar a plantas de ajo durante su crecimiento en campo (Stankovic *et al.*, 2007).

Aunque se han logrado avances en la identificación de muchos hongos, aún existen dificultades para el adecuado reconocimiento de ciertos géneros y especies de este grupo de organismos. En Aguascalientes, México zona productora importante de ajo se han logrado identificar tres especies de *Fusarium* afectando a semillas de ajo, reportando a *F. verticillioides*, *F. oxysporum* y *F. proliferatum* este último es el primer reporte que se registra en México ya que este patógeno se ha encontrado afectando al género *Allium* en otras partes del mundo (Ochoa *et al.*, 2012; Ochoa *et al.*, 2013). Para *F. verticillioides* es más frecuente la afectación en cereales aunque en Aguascalientes, México se reporta a este patógeno en semillas de ajo (Ochoa *et al.*, 2012)

Seefelder *et al.* (2002) indican la producción de micotoxinas en bulbos de ajo en Alemania. Se atribuye ser el principal origen de fumonisis en alimentos y sus derivados debido a la presencia de *F. verticillioides* y *F. proliferatum*.

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la UAAAN, en el laboratorio de fitopatología del Departamento de Parasitología.

3.1 Etapa experimental I: Obtención del patógeno a partir de dientes de ajo en Papa Dextrosa Agar

3.1.1 Material vegetal

Ocho variedades (Chino, Jaspeado, Coreano, Perla, Cezac 06, Zacatecano, Ensenada y Blanco) de ajo (*Allium sativum* L.) fueron adquiridas en el Campo Experimental Zacatecas Calera, México: proporcionadas por el Ing. Manuel Reveles Hernández. Las cuales fueron almacenadas en bolsas de plástico de 2 kg. de capacidad a temperatura ambiente en un lugar seco.

3.1.2 Desinfección de la semilla de ajo

Se pelaron de 4 dientes de ajo por cada variedad, los dientes tenían que mostrar síntomas de *Fusarium* o sin síntomas. Enseguida en condiciones totalmente asépticas y bajo una cámara de flujo laminar se realizaron cortes del tejido enfermo, se colocaron en cloro al 2% por 1 minuto a 1 y medio, enseguida se sumergieron en agua destilada estéril durante medio minuto para eliminar los excesos del desinfectante; posteriormente, los trozos se tomaron con pinzas y se colocaron sobre papel destroza aséptico para que secan por 24 h.

3.1.3 Siembra de la semilla de ajo con síntomas de *Fusarium*

Concluidas las 24 h, se colocaron asépticamente cuatro trozos por placa colocados sobre el medio de cultivo papa-dextrosa agar (PDA), para ser incubados durante cinco días a una temperatura de 22 °C. Cada placa quedo identificada con la variedad de ajo a la que pertenece y fecha de siembra.

3.2 Etapa experimental II: Aislamiento del patógeno

3.2.1 Incremento del inóculo por siembra directa

Finalmente, se procedió a separar las diferentes colonias de las especies fúngicas. Para realizar la purificación del hongo y el incremento del inóculo, se tomó un explante de cada cepa de referencia con un sacabocados estéril, se sembró en el PDA y se dejó incubando durante ocho días a una temperatura aproximada de 22°C.

3.2.2 Cultivo monospórico

De las colonias obtenidas se hizo una suspensión de conidios, las diluciones se hicieron con 9 mL de agua destilada estéril más un explante de cada colonia en tubos de ensaye; enseguida se agitaron con la ayuda de un vortex (Genie mixer, Modelo K-550-G) hasta obtener una solución homogénea. Partiendo de cada solución se tomó 0.1 ml de cada tubo hasta obtener una concentración de 10^6 conidios/ml; para obtener cultivos monospóricos en cajas petri con medio de cultivo PDA. Se dejaron incubar durante 24 h para posteriormente poder observar en crecimiento de los conidios con ayuda de un microscopio (Olympus, Modelo CKCX415F) para su posterior transferencia a medio agar.

3.3 Etapa experimental III: Caracterización morfológica

3.3.1 Preparación del carnation leaf agar

En cuanto a la preparación de carnation leaf agar (CLA), se cortaron trozos pequeños de las hojas de clavel, posteriormente se esterilizaron las hojas de clavel con ayuda de los rayos uv de la cámara de flujo laminar durante 72 horas. Transcurridas las 72 horas se preparó medio litro de agar bacteriológico (BDBioxon[®]) a razón de 15 mL por placa, al momento de colocar el agar bacteriológico en las placas se depositaron las hojas estériles de clavel, se dejó reposar durante 24 horas. La siembra en (CLA) se realizó a partir de un cultivo monospórico, de donde fueron tomados 4 explantes que se transfirieron a las placas que contenían CLA. Las cuales se incubaron a 27 ± 2 °C durante 7 días.

3.4 Etapa experimental IV: Identificación de las especies de *Fusarium* presentes en los dientes de ajo

La identificación morfológica, una vez obtenidos los aislamientos puros del patógeno se indujo a la formación de fiálides, microconidios, macroconidios y clamidiosporas. Esto consistió en colocar explantes en CLA y/o colocar las placas de PDA a periodos largos y cortos de frío, luz, obscuridad y calor. Se hicieron montajes con cubre y portaobjetos utilizando un estereoscopio y un microscopio. Para poder observar las características distintivas de cada especie. Con ayuda de claves de Leslie and Summerell (2006) se pudo determinar las especies de *Fusarium* presentes en cada placa.

Para la identificación a especie de las cepas de *Fusarium* se observó al estereoscopio (Carl Zeiss) cada cepa ya sea las de PDA o CLA (para la toma de muestra de la esporulación sobre las hojas de clavel), posteriormente se tomó con una aguja estéril una pequeña parte de micelio aéreo y se colocó en una gota de lactofenol sobre un portaobjetos (Corning) después se observó al microscopio compuesto (Olympus) a 10x, y 40x y así observar las estructuras como fiálides, conidios siguiendo las claves de Leslie and Summerell (2006). Finalmente se selló la

muestra y se etiquetó. Para después con ayuda de una cámara (Sony, Formato Carl Zeiss, Modelo DSC-W630) montada en el microscopio (Olympus, Modelo CKCX41SF) se tomó la fotografía y se documentó la imagen.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Etapa experimental I: Obtención del patógeno a partir de dientes de ajo en Papa Dextrosa Agar

4.1.1 Siembra de la semilla de ajo con síntomas de *Fusarium*

Al realizar la siembra de la semilla de ajo en PDA se obtuvo un 63% de crecimiento en las placas, de *Fusarium* y el resto de ellas fue crecimiento bacteriano así como la presencia de otros hongos. El género *Fusarium* es el agente causal del marchitamiento vascular, enfermedad que afecta a una gran variedad de cultivos ajo, algodón, arveja, banano, brócoli, calabacita, cebolla, chile, fresa, linaza, melón, ornamentales, clavel, crisantemo, gladiolos, tulipanes, repollo, tomate. Económicamente importantes alrededor de todo el mundo (Ortodena, *et al.*, 2004; Groenewald, 2006).

4.2 Etapa experimental II: Aislamiento del patógeno

4.2.1 Incremento del inóculo por siembra directa

Los resultados de la purificación de colonias fúngicas, al paso de siete a diez días a una temperatura de 25 °C. se pudo ver que las colonias aparte de presentar micelio aéreo también presentaban coloraciones muy diferentes entre sí, iban desde morados, violetas, rojizos y amarillos. Tal como se muestra en la Cuadro 4 y en la Figura 1.

Variedad de ajo	Coloración de la cepa				Presencia de <i>Fusarium</i> sp.	Número de cepa
	Morada	Violeta	Amarilla	Rojiza		
Cezac 06	X	X	X	X	<i>Fusarium</i> sp.	4
Perla	X	X	X		<i>Fusarium</i> sp.	2
Blanco	X	X	X	X	<i>Fusarium</i> sp.	3
Chino	X	X	X		<i>Fusarium</i> sp.	3
Ensenada	X	X	X	X	<i>Fusarium</i> sp.	4
Jaspeado	X				<i>Fusarium</i> sp.	1
Zacatecano			X	X	<i>Fusarium</i> sp.	1
Coreano					Crecimiento bacteriano	0

Cuadro 4. Purificación del patógeno de las diferentes variedades de ajo

En el Cuadro 3. Se observó la presencia de *Fusarium* sp., las coloraciones que se presentaron en esta investigación. De acuerdo con lo que cita Díaz de Castro *et al.*, (2007) *Fusarium* sp. crece rápidamente en agar papa dextrosa a 25 ° C, produciendo un micelio algodonoso e incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o amarillo pálido, rojo o púrpura.

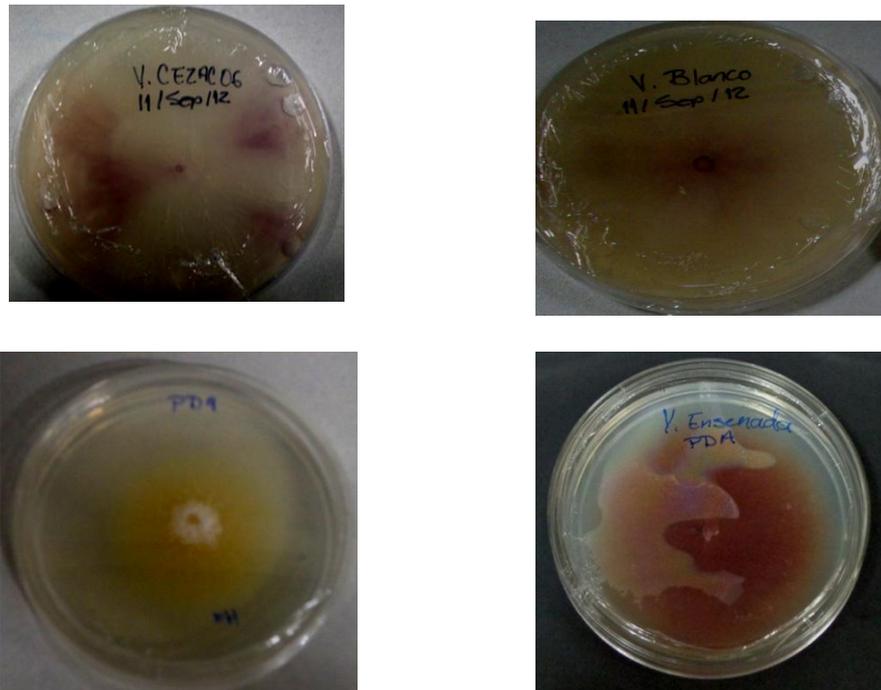


Figura 1. Diferentes coloraciones presentes en la purificación de las colonias expresadas en medio PDA

Seifert (2001) cita que las colonias de los distintos *Fusarios* que crecen moderada a profusamente, tienen diversos colores (blanco, rosado pálido, rojo, anaranjado, púrpura, celeste, verde aceituna o pardo), especialmente en el reverso de la colonia, excepto pardo oscuro o negro. El micelio es ralo o denso, ya sea algodonoso, como un fieltro o con una zona central de funículos, pero en algunos casos es limoso. Hay *Fusarios* con pionotos de color anaranjado. Los pigmentos que difunden en el agar suelen variar de color o tono con el pH. Algunas especies presentan zonas concéntricas de distinta morfología macroscópica debido a la secuencia luz – oscuridad.

4.3 Identificación de Especies de *Fusarium*

A partir de semillas de ocho variedades de ajo provenientes de Zacatecas, principal zona productora de ajo en México, se logró identificar tres especies: *Fusarium oxysporum*, *F. verticillioides* y *F. proliferatum*, la caracterización microscópica se llevó a cabo en cultivos crecidos sobre medio de cultivo CLA, y se basó en las características morfológicas de cada especie. En el caso de *F. oxysporum* Schlechtend se observó la producción de microconidias ovoides o en forma de riñón naciendo de monofialides laterales, cortas y anchas, afiladas hacia la punta. Las microconidias formaron masas pero nunca cadenas, las macroconidias tiene de uno a cinco septos, en forma de luna ligeramente curveada. De célula apical afilada y basal en forma de pie. La formación de clamiosporas estuvo presente con abundancia estas fueron grandes, hialinas, observándose aisladas o en parejas, intercalares o terminales tal como se observa en la Figura 2, *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nireberg el cual formó cadenas largas de microconidios, monofialides Figura 3. En tanto *Fusarium proliferatum* formó microconidios en mono y polifialides con la presencia de macroconidios en forma de canoa con una célula apical de 3 a 5 septos, formando una sola célula con microconidias abundantes con apariencia de una pera con arreglo de cadenas y falsas cabezas Figura 4.

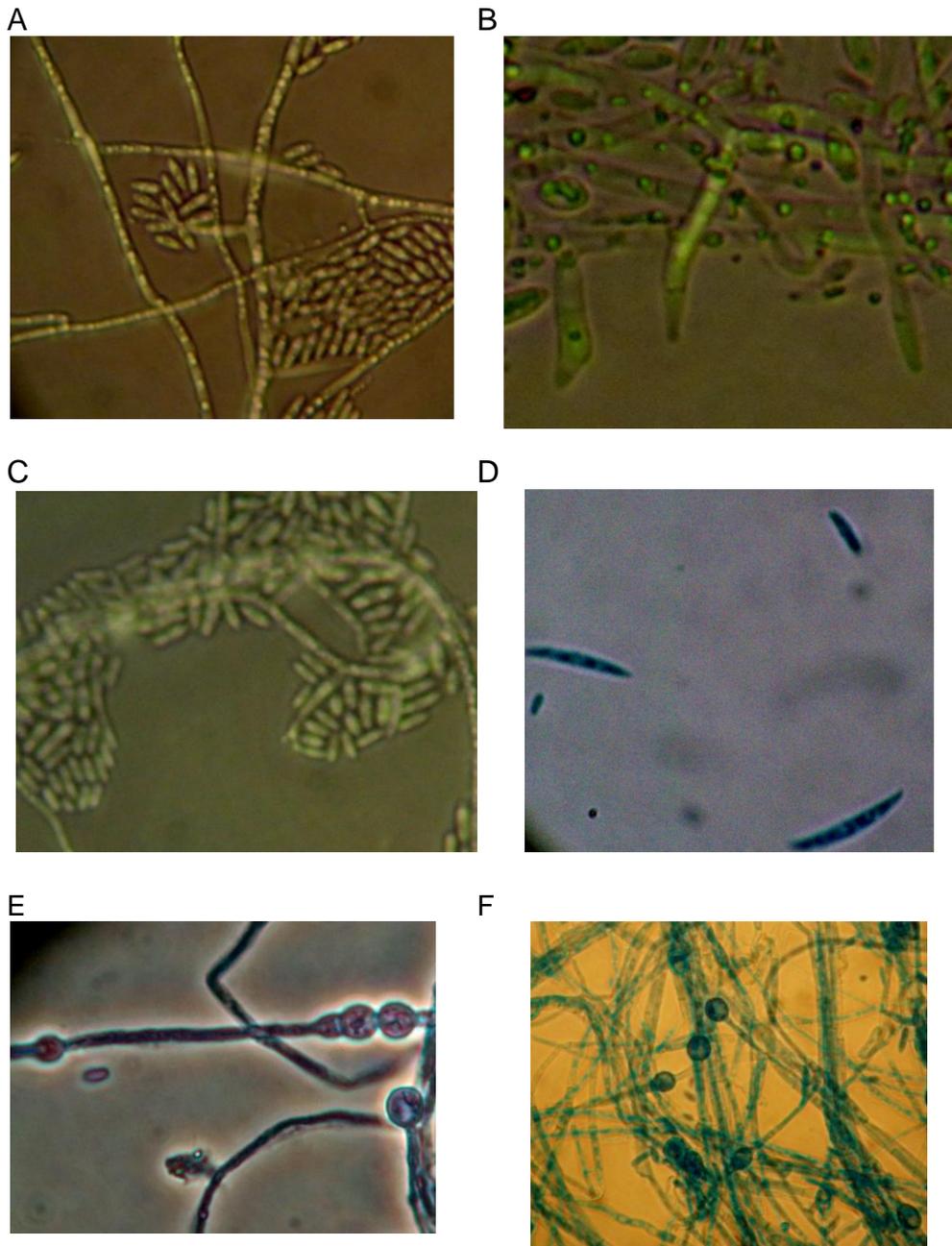


Figura. 2. Morfología de aislamiento de semillas de ajo en clavel agar A: monofialides y microconidias; B: monofialides in situ; C: microconidios; D: macroconidios, E y F: clamidosporas *Fusarium oxysporum*.

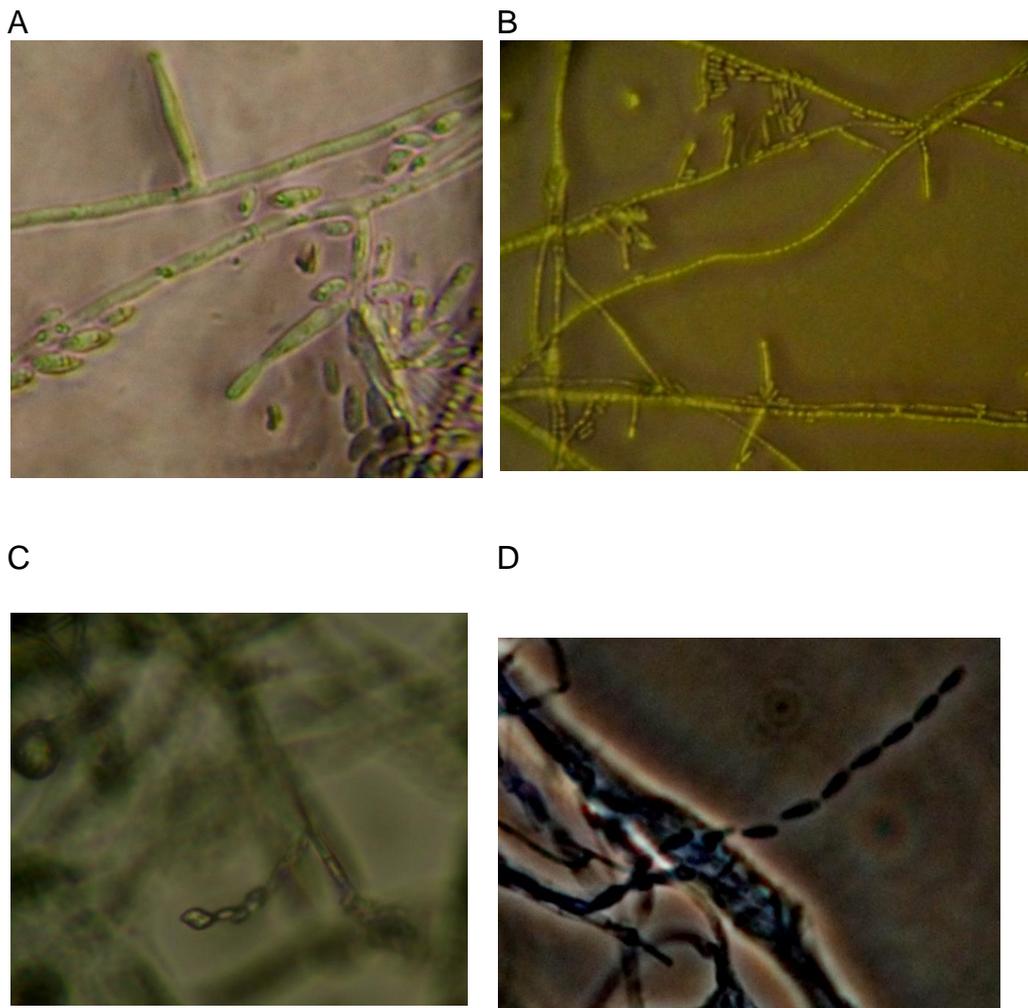


Figura. 3 Morfología de aislamiento de semillas de ajo en clavel agar A y B monofialides in situ en forma verticilada; C microconidios y fiálides; D microconidios en cadena in situ. *Fusarium verticillioides*.

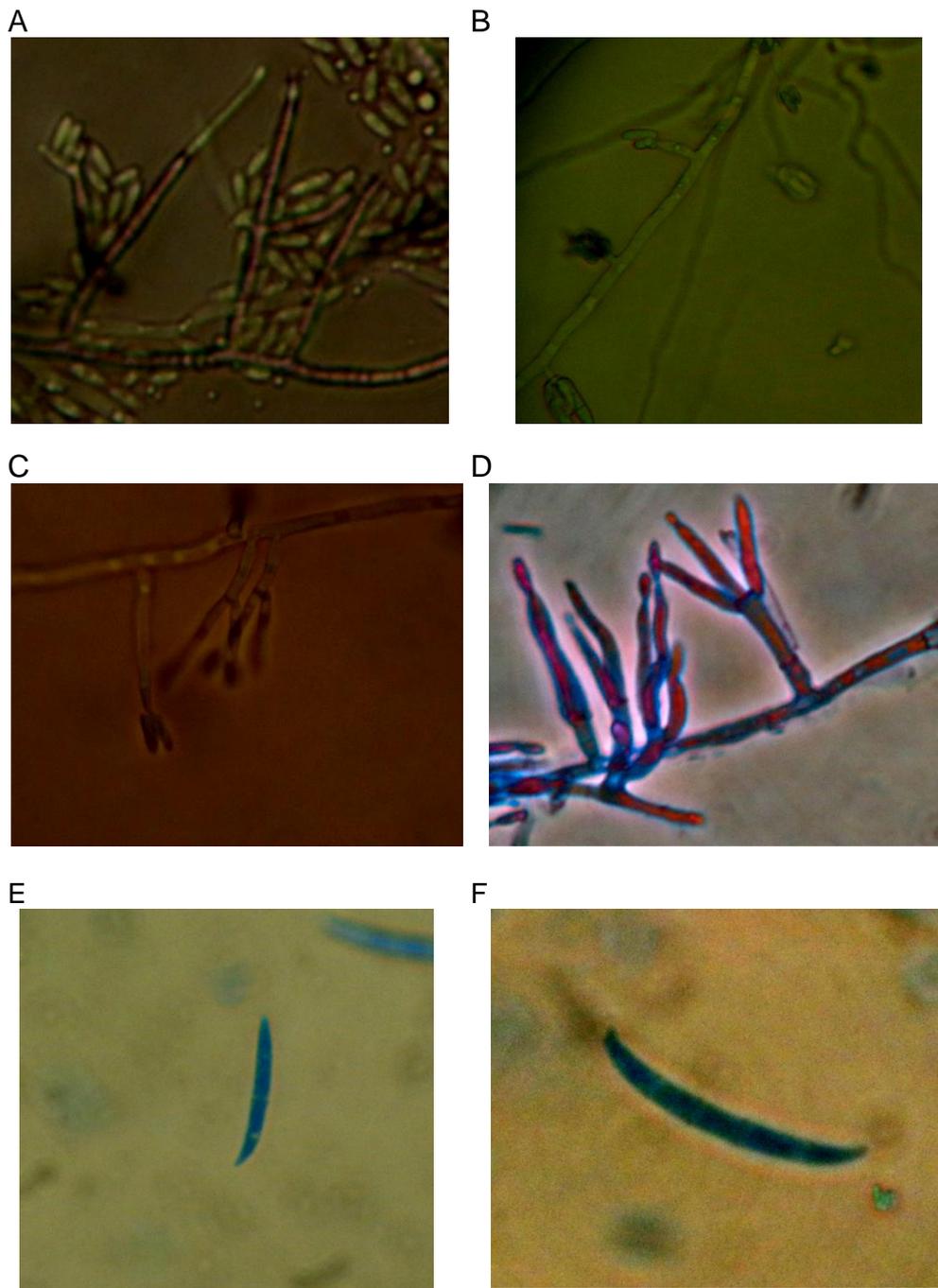


Figura. 4. Morfología de aislamiento de semillas de ajo en clavel agar A: microconidios y polifialides; B monofialides; C y D Polifialides y monofiálide. E y F: macroconidias *Fusarium proliferatum*

En trabajos previos a esta investigación se coincide con lo que mencionan Velásquez, 2004 y Amador, 2009 la presencia de *Fusarium* spp. como agente causal de la enfermedad pudrición basal en ajo. Sin embargo *F. oxysporum* es un hongo común en el ajo está presente en diferentes zonas productoras de ajo tanto en México como en el mundo (Delgadillo 2000; Alvarado, 1987), afectando a plantas de ajo en campo. La presencia de *F. oxysporum* en semilla lo señalan Velásquez y Medina, 2005, Delgadillo, 2000 y Velásquez y Medina 2004. El aislamiento e identificación a especie de este patógeno en semillas de ajo y su presencia está documentada en Aguascalientes México (Ochoa 2012).

La presencia del patógeno *F. proliferatum* presente en semillas de ajo se a reportado en muchas partes del mundo tales como: Estados Unidos, Egipto, Polonia, Serbia e India (Dugan, Galand, Stankovic, Stepien, Ravi-Sankar). En España y México son los reportes más recientes que se tienen con la presencia de *F. proliferatum* en semillas de ajo indicado por Palmero y Ochoa La posibilidad que este patógeno provoque perdidas en campo y producción de toxinas dañinas para el ser humano (Seefelder y Stankovic). El resultado de la identificación de *F. proliferatum* aisladas de semillas de ajo coincide con un trabajo que se hizo en Aguascalientes, México, en dicho trabajo se describe a este patógeno morfológicamente (Ochoa, 2013). Ochoa menciona la presencia de *F. verticillioides* en semillas de ajo en tanto este patógeno es más común afectando a cereales son los reportes que se tiene en gran parte de países productores de cereales.

CONCLUSIONES

Se logró identificar tres especies de *Fusarium*: *F. oxysporum*, *F. verticillioides* y *F. proliferatum* en semillas de ajo provenientes de Zacatecas, México.

Por primera vez se logró en el estado de Zacatecas, México la identificación de especies de *Fusarium* afectando a semillas de ajo.

BIBLIOGRAFIA

Agrios, G. 2005. Plant pathology. Fifth Edition. Amsterdam. Elsevier Academic Press. P 992.

Alvarado, M. S. 1987. Estudio de las enfermedades fungosas del ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatlán, Puebla. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 53 p.

American Phytopathological Society. 1995. Compendium of onion and garlic diseases. H. F. Schwartz and S. K. Mohan (Eds.). The APS Press. St. Paul, MN, USA. 54 p.

ANÓNIMO. 1. Tomado de “Cadena Agroalimentaria de ajo, Republica Dominicana”. Disponible en: <http://www.iicard.org/PDF/cadenasagroa/Cadena%20%20de%20Ajo>. (28/08/12).

Arévalo V. A., Montes P.H., Narro S.J. y Redondo J. E. 2002. Los patógenos y su efecto en la reducción del potencial de rendimiento y calidad del ajo. CEBAJ-INIFAP. 2003. Gto. México. Pp.73.

Burba J. L. 2006 Producción de semilla de sanidad controlada en hortalizas de propagación agamica. Curso Taller en tecnología de producción de semillas Hortícolas para pequeños agricultores. FAO-INTA. P 245-250.

Bujanos, M. R. y Marín, J. A. 2000. Plagas: descripción, daños y control. El ajo en México. Origen, mejoramiento genético, tecnología de producción. Libro Técnico Núm. 3. División Agrícola. INIFAP. León, Guanajuato, México. P. 64 – 67.

Cabrera, C. y P. Elliot. 1996. La cabeza que solo tiene dientes. Primer Encuentro sobre agricultura urbana y su impacto en la alimentación de la comunidad. Se puede 1(5); 22-23.

Calle B. J. 2005. Caracterización Morfológica y Molecular de Hongos Fitopatogenos de Suelo e Identificación de Bacterias Foliarens en el Cultivo de la Cebolla. Tesis de Maestría. UPRM. Mayagüez, Puerto Rico. P. 6. Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez.

Chávez C.M. 2010. Ajo. Guía técnica para el área de influencia del Campo Experimental Costa de Hermosillo. P. 97-112.

Chávez, C. M., P. Valenzuela C., G. A. Fierros. L., L. A. Maldonado N. 2008. Efectos de métodos y densidades de siembra en la producción de dos variedades de ajo jaspeado en la sierra de Sonora. XI congreso Internacional en Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Baja California. P. 381-385.

Conci, V., Lunello, P., Canavelli, A., Nome, S., Bracamonte, R., Alochis, P. y Perotto, C. 2003. Incidencia de los virus en la producción de ajo y su control. *Idia XXI*:55-60.

Conles M.Y., Cragolini C.I., Yossen V.E., Balzarini M. y Macchiavelli R.E. 2011. Estimación de curvas de progreso de la incidencia de podredumbre blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) en cultivos de ajo mediante un modelo no lineal mixto. *Agriscientia*. Vol.XXVII:61-74.

Davis, R. M., Hao, J. J., Romberg, M. K., Nunez, J. J., and Smith, R. F. 2007. Efficacy of germination stimulants of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for management of white rot garlic. *Plant Disease* 91:204-208.

Delgadillo, S. F. 2000. Enfermedades: descripción y tratamiento. El ajo en México. Origen, mejoramiento genético, tecnología de producción. Libro Técnico Núm. 3. Comps. E. Heredia G. y F. Delgadillo S. Campo Experimental Bajío-INIFAP. León, Gto., Méx. P 102.

Díaz de Castro, F. J.; Restrepo, M. A.; Rojas, W. 2007. Microbiología de las infecciones en plantas. Primera edición. Corporación para las investigaciones Biológicas. Medellín Colombia P 102-105.

Dugan F.M., B.C Hellier and S.L. Lupien, 2007. Pathogenic Fungi in Garlic Seed Cloves from the United States and China, and Efficacy of Fungicides against Pathogens in Garlic Germplasm in Washington State. *Journal of Phytopathology* 155 437–445.

Espinosa, P. M., Enríquez, R. S., González, C. M., Ramos, N. J.M. 2003. Cadena Agroalimentaria de Ajo. Pp 12-15.

Everhart E., Haynes C. y Jauron R.2003.Guia de Horticultural de Iowa State University. Traducción. Pp. 2.

Fajardo, T. V. M., Nishijima, M., Buso, J. A., Torres, A. C., Avila, A. C. & Resende, R. O. 2001. Garlic viral complex: identification of Potyviruses and Carlavirus in Central Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 26:619-626.

FAO. 1988. Intercambio y manejo de germoplasma in vitro de ajo.- Santiago de Chile: FAO-INIA, Estación Experimental “La Platina”, p.9.

FOASTAT. 2010. Producción Mundial de Ajo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#VISUALIZE. 23/09/12.

FOASTAT. 2011. Producción Mundial de Ajo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#DOWNLOAD. 23/09/12.

Galal A.A., T.I. Abdel-Gawad and A.A. El Bana, 2002. Postharvest decay of garlic cloves caused by *Bacillus polymyxa* and *Fusarium moniliforme*. *Egyptian Journal of Microbiology* 3 71–88.

Galvan G.A., C.F.S. Koning-Bouxorin, W.J.M. Koopman, K. Burger-Meijer, P.H. González, C. Waalwijk, C. Kik and O.E. Scholten, 2008. Genetic variation among *Fusarium* isolates from onion and resistance to *Fusarium* basal rot in related *Allium* species. *European Journal of Plant Pathology* 12 499–512.

García A. C. R. 1998. El Ajo. Ed. Mundi Prensa Edición Barcelona España. P. 158.

González V. S. E. 1979. Efectos comparativos de cuatro nematicidas para el control del nematodo de bulbos y tallos *Ditylenchus dipsaci* Kuhn, en ajo (*Allium sativum* L.). Tesis profesional. Instituto tecnológico y de estudios superiores de Monterrey, división de ciencias agropecuarias y marítimas. 43 p.

Groenewald, S. 2006. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. Trabajo de grado de maestría. Universidad of Pretoria. Sudamérica. P. 23-24.

Heredia G. E. y F. Delgadillo S. 2000. El ajo en México: origen, mejoramiento genético y tecnología de producción. Libro Técnico Núm. 3, Celaya Gto., México. SAGAR, INIFAP, Campo Experimental Bajío. 102 p.

Hernández A. A. M., Juárez L. G., Fucikovsky Z. L., Zavaleta M. E. y González H. V. A. 2006. Impacto del almacenamiento en la brotación de bulbos de ajo y especies patogénicas de *Penicillium* y *Erwinia* asociadas. Revista Fitotecnia Mexicana 29:283-290.

Holliday, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Dover Publications, Inc. New York, USA. P. 607.

Izquierdo O. H. 2006. Instructivo Técnico para la producción de Ajo-Semilla de Alta Calidad Fitosanitaria Mediante el empleo de Técnicas Biotecnológicas. Temas de Ciencia y Tecnología. 10: 63.

Koch, M., Ta'anami, Levi, S., and Salomon, R. 1995. Testing garlic gloves and bulbets for onion yellow dwarf virus by ACP – ELISA. Phytoparasitica 23:27-29.

Leslie J.F. and B.A. Summerell (eds.), 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. P. 212-264.

Lot, H., Chovelon, V., Souche, S., and Delecalle, B. 1998. Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses and yield loss of three French garlic cultivars. *Plant Disease* 82:1381-1385.

Macías V. M., F. J. Robles, E. y R. Velásquez V. 2000. Guía para que los productores de ajo seleccionen su semilla. Folleto para productores Núm. 27. Campo Experimental Pabellón –INIFAP. Aguascalientes, Ags., México. 12 p.

Mena C. J. 2006. Manejo integrado de plagas: una propuesta para el cultivo de ajo. Programa y Memorias. II Foro Nacional de Ajo. Zacatecas, México. 124 p.

Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México. 85.

Mendoza, Z. C. 1999b. Enfermedades fungosas de hortalizas y fresa. p. 25-63. In: Hortalizas. Plagas y enfermedades. Ed. Trillas. México, D. F. 544.

Mendoza, Z. C. y Pinto, C. B. 1985c. Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Imprenta Universitaria, Chapingo, México. 311.

Montes B. R., Nava J. R. A., Flores M. H. E. y Mundo O. M. 2003. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:300-304.

Ochoa F. Y. M., Cerna C. E., Gallegos M. G., Landeros F. J., Delgado O. J. C., Hernández C. S., Rodríguez G. R. y Olalde P. V. 2012. Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Micología*. 36: 27-31.

Ochoa F. Y. M., Delgado O. J. C., Cerna C. E. Hernández C. F. D., Flores O. A., Gallegos M. G., Vázquez M. O., y Rodríguez G. R. 2013. The first report of *Fusarium proliferatum* causing garlic bulb rots in Mexico. *African Journal of Agricultural Research*. 8: 570-573.

Olvera J.G., Sánchez R. R., Ochoa B. R., Rodríguez C. F., Roque Z J., Ortega R. C., Palacios F.M. y Carrillo T. L. A. 1991. Más allá de nuestro campo. Claridades Agropecuarias. México. P 32.

Ortodena, M.; Guarro, J.; Madrid, M.; Caracuel, Z.; Ronchero, M. I.; Mayayo, E.; 2004. *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. *Infection and Immunity* 72: 1760-1766.

Pal, S. T. y M.W. Platt. 1995. Antifungal effects of *Allium sativum* (garlic) extract against the *Aspergillus* sp. Involved in otomycosis. *Lett Appl. Microbiol.* 20:14-18.

Palmero D., M. De Cara, C. Iglesias, M.M. Moreno, N. González and J.C. Tello, 2012. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in Spain. *Plant Disease* 94, 277.

Pereira J.C., Chávez G.M., Zambolim K.L., Acuna R.S. y DoVale F.X.1996. Control de *Sclerotium cepivorum* con el Uso de Vermicomposta, Solarización y *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*. *Summa-Phytopalogica.* 22: 228-234.

Pérez M.H., Arévalo V.A y Narro S. J.2002. Evolución de la Efectividad Biológica de Nematicidas para el Control del Nematodo (*Ditylenchus dipsaci* Kuhn) Filipjev en Ajo. CEBAJ-INIFAP. P 83-101.

Pérez, M. L. y Rico, J. E. 2004 Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato. Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad de Guanajuato. México, D. F. 143 p.

Pérez-Moreno, L., Córdova-Rosales, Z. V., Rico-Jaramillo, E., Ramírez-Malagón, R., Barboza-Corona, E., Zuñiga-Zuñiga, J., Ruiz-Castro, S. y Silva-Rosales, L. 2007. Identificación de virus fitopatógenos en ajo (*Allium sativum* L.) en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:11-17.

Pérez M. L., Santiago G. D., Rico J. E., Ramírez M. R. y Mendoza C. B. 2008. Efecto de virus fitopatógenos sobre características agronómicas y calidad del ajo

(*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. Revista Mexicana de Fitopatología 26:40-48.

Quiroz S. V. F., C. R. Ferrera, A. Alarcón, H. M. E. Lara, 2008. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. Revista Mexicana de Micología 26: 27-34.

Ravi Sankar N. 2012. First Report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs (*Allium sativum*) in India. Plant Disease 9 290.

Reveles, H. M. y Rubio, D. S. 2006. Panorámica del ajo y su cultivo en Zacatecas (primera parte). Zacatecas en la producción 1:Pp. 3-5.

Reveles H. M., Velásquez V. R. y Bravo L. A. G. 2009. Tecnología para cultivar ajo en Zacatecas. Libro Técnico No. 11. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas, México. P. 272.

Rivas J. C. 1999. Efecto genotipo-ambiente sobre la infección natural de moho azul *Penicillium corymbiferum* (Westling) en ajo "colorado". VI Curso/Taller sobre producción, comercialización e industrialización de ajo. INTA. Mendoza, Argentina. 71-72.

Rojas V., Ulacio D., Jiménez M.A., Perdomo W. y Pardo A.2010. Análisis epidemiológico y control de *Sclerotium cepivorum* Berk. Y la Pudrición Blanca en Ajo. Bioagro.22: 185-192.

Sanabria, N.; Guadarrama, A.; Romero, H.; 2002. Caracterización de especies de *Fusarium* mediante patrones electroforéticos de proteínas. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia. 28:161-173.

Seefelder A., M. Gossman and H.U. Humpf, 2002. Analysis of Fumonisin B1 in *Fusarium proliferatum*-infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by liquid chromatography- electrospray ionization mass spectrometry. Journal of Agricultural Food Chemical 5: 2778–2781.

Seifert K.; Summerell B., Cooke M.; Lightfoot D. & Sundheim L. Fuskey- Growing Fusarium. <http://res.agr.ca/brd/fusarium/growth.html> consultada. 02/02/13.

SIAP, 2011. Producción de ajo en México por estado productor Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx> 16/10/2012.

Sommerville P. A., Hall, D. H., and Greathead, A. S. 1984. Dry rot of garlic caused by *Botrytis porri* Buchw. *Phytopathology* .74:829.

Schwartz H. F. y Krishna M. S.1995. Compendium of onion and garlic diseases. American Phytopathological Society. 54 p.

Stankovic S., J. Levic, T. Petrovic, A. Logrieco and A. Moretti, 2007. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *Plant Pathology* 11: 165–172.

Stepien L., G. Koczyk and A. Waskiewicz, 2011. Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. *Journal of Applied Genetics* 5: 487–496.

Sward, R. J. and Brennan, A. P. 1994. Diagnosis and control of *Allium* virus diseases in Victoria, Australia. *Acta Horticulturae* 358:295-298.

Takaichi, M., Nagakubo, T., and Oeda, K. 2001. Mixed virus infections of garlic determined by a multivalent antiserum and virus effects on disease symptoms. *Plant Disease* 85:71-75.

Thorne, G. 1968. Principles of Nematology. McGraw Hill Book Co. Inc. New York, cap. 6:115-158.

Ulacio D., Zavaleta E., García R., Delgadillo F., Pedroza A. y Martínez. 2003 Materia orgánica y microorganismos antagonistas como estrategias de un manejo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su impacto en el en el progreso de la pudrición blanca en ajo (*Allium sativum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*.21: 346-354.

Vázquez A. B. 2012. Desinfección de dientes de ajo. De Riego: Protección y Nutrición de Hortalizas y Frutas. 63: 46- 48

Velásquez, V. R. y Amador, R. M. D. 2009. Enfermedades bióticas de ajo y chile en Aguascalientes y Zacatecas. Libro Técnico No. 9. Campo Experimental Zacatecas CIRNOC-INIFAP. P. 187.

Velásquez V. R., Chew M.I.Y., Amador R.D.M. y Reveles H.M. 2010- Presencia de Virus en el Cultivo de Ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatecas, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 28:135-143.

Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2005. Epidemia de mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*) de chile (*Capsicum annuum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas. Memorias. Segunda Convención Mundial del Chile. Pp. 39-43.

Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2004a. Características Vegetativas de Variedades de Ajo (*Allium sativum* L.) Infeccionadas por *Fusarium* spp. Revista Mexicana de Fitopatología. 22: 436-437.

Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2004b. Guía para conocer y manejar las enfermedades más comunes de la raíz del ajo en Aguascalientes y Zacatecas. Folleto para Productores Núm. 34. Campo Experimental Pabellón. INIFAP. Aguascalientes, Ags., México. P. 18.

Velásquez, V. R., Chew, M. I. Y., Reveles, H. M. y Amador, R. M. D. 2010. Enfermedades provocadas por virus en el cultivo de ajo en el norte centro de México. Folleto Técnico No. 22. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP. P. 62.

Zavaleta E.1999.Alternativas de Manejo de Enfermedades de las Plantas. Terra.17: 202-220.