

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS



Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culiacán, Sinaloa, México.

TESIS

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Fusarium*
PRESENTES EN EL CULTIVO DEL MAÍZ EN REGIONES
DE SINALOA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA
NALLELY VALDEZ RUBIO

DIRECTOR DE TESIS
DR. LEOPOLDO PARTIDA RUVALCABA

CO-DIRECTOR DE TESIS
M. C. SIXTO VELARDE FÉLIX

CULIACÁN, SINALOA, ABRIL DE 2013

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR NALLELY VALDEZ RUBIO, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS



Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culiacán, Sinaloa, México.

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR

DR. LEOPOLDO PARTIDA RUVALCABA

CO-DIRECTOR

M. C. SIXTO VELARDE FÉLIX

ASESOR

DR. JOSÉ ANTONIO GARZÓN TIZNADO

ASESOR

DRA. TERESA DE JESÚS VELÁZQUEZ ALCARÁZ

CULIACÁN, SINALOA, ABRIL DE 2013

DEDICATORIA

A mis padres

Rosa María Rubio Tejada y Efraín Valdez Ortega, quienes tuvieron que dejar su vida en el rancho para sacarnos adelante a mis hermanos y a mí, lo cual nunca dejaré de agradecerles, ya que por esa decisión yo he llegado a este peldaño de mi vida. Gracias por el regalo más preciado que es haberme traído al mundo y por todo lo que me han enseñado, porque por ustedes soy lo que soy. Los amo.

A mis hermanos

Por compartir una vida juntos y por todas las alegrías vividas. Efraín y Rafa los quiero mucho.

A mi esposo

Que nunca a dejado de estar junto a mí, diciéndome tú puedes. Que gracias a su compañía y apoyo he logrado muchas cosas, y con el que he compartido momentos muy hermosos de mi vida. Octavio... Te amo.

A mi hijo

Por haber sido el motor que me impulsó para seguir adelante, ya que todo lo que hago y lo que me queda por hacer es por él. Ever, eres lo más importante en mi vida, te amo hijo.

A Sixto Velarde Félix

Que ni con todas las palabras del mundo podré agradecerle todo lo que me ha enseñado, a quien además de ver como un amigo, veo con el respeto y el cariño de un padre. Sixto te quiero mucho.



Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culliacán, Sinaloa, México.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de existir y formar parte de una familia maravillosa que me apoya siempre.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS), por abrirme sus puertas y ser hoy un espacio en mí formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por proporcionarme el apoyo económico para la realización de mis estudios de maestría.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Campo Experimental Valle de Culiacán, por las facilidades para la realización de este trabajo en la Unidad de Biotecnología, el cual formó parte del proyecto Distribución y Caracterización Molecular de *Fusarium* spp. en el Centro Sur de Sinaloa y Respuesta de Variedades de Maíz al Ataque de éste Patógeno, financiado por Fundación Produce Sinaloa, A. C. durante el periodo 2010-2012.

Al Dr. José Antonio Garzón Tiznado, por todo el apoyo brindado durante la realización de este trabajo, por sus enseñanzas y consejos.

Al Dr. Leopoldo Partida Ruvalcaba, por todas sus atenciones y el apoyo brindado durante la maestría.

Al M. C. Blas Galván Piña, por su valiosa aportación en este trabajo de tesis.

A mis compis de laboratorio y amigos..., por los grandes momentos que hemos vivido juntos, Lore, Ramón, Frank y Sixto, no me queda más que agradecerles su compañía y su amistad, y todo el apoyo brindado durante la realización de esta tesis.

A toda mi familia, por estar al pendiente de lo que hago y celebrar mis logros.

A mis amigos, porque son parte de mí familia.



**Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culiacán, Sinaloa, México.**

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS-----	i
ÍNDICE DE FIGURAS-----	ii
ÍNDICE DE ANEXOS-----	iii
RESUMEN-----	iv
ABSTRACT-----	v
I. INTRODUCCIÓN-----	1
II. ANTECEDENTES-----	3
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	4
IV. HIPOTESIS-----	4
V. OBJETIVOS-----	4
VI. REVISIÓN DE LITERATURA-----	5
6.1. Importancia del maíz-----	5
6.2. Enfermedades en maíz-----	5
6.2.1. Enfermedades en maíz causadas por hongos-----	6
6.2.2. Enfermedades en maíz causadas por <i>Fusarium</i> -----	7
6.2.2.1. Pudrición de la raíz-----	7
6.2.2.2. Pudrición de tallo-----	7
6.2.2.3. Pudrición de mazorca-----	8
6.3. El género <i>Fusarium</i> -----	8
6.3.1. Taxonomía y clasificación-----	9
6.3.2. Caracteres morfológicos-----	10

6.3.3. Especies que infectan maíz-----	11
6.3.4. Producción de micotoxinas-----	11
6.3.5. Ecología-----	12
6.3.6. Caracterización molecular-----	13
6.3.6.1. Marcadores moleculares-----	14
6.3.6.1.1. Gen del Factor de Elongación EF-1 α -----	15
6.3.6.1.2. β -Tubulina-----	16
6.3.6.1.3. Calmodulina-----	17
6.3.6.1.4. Histona H3-----	17
6.3.6.1.5. ITS (Espaciadores Internos Transcriptos)-----	17
6.4. Técnicas de biología molecular-----	18
6.4.1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)-----	18
6.4.2. Clonación-----	19
6.4.3. Secuenciación-----	19
VII. MATERIALES Y MÉTODOS-----	21
7.1. Diseño de muestreo-----	21
7.2. Aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.-----	23
7.3. Identificación morfológica-----	23
7.4. Cultivos monospóricos del hongo <i>Fusarium</i> y conservación-----	23
7.5. Identificación molecular de <i>Fusarium</i> spp.-----	24
7.5.1. Extracción de ADN-----	24
7.5.2. Amplificación mediante PCR y análisis electroforético del ADN---	24
7.5.2.1. Amplificación a nivel especie-----	25

7.5.2.2. Amplificación a nivel género mediante el marcador EF-1 α -----	26
7.6. Purificación de fragmentos amplificados a nivel género-----	27
7.7. Secuenciación de los aislados identificados a nivel género-----	28
7.8. Análisis y agrupación de las secuencias de ADN-----	28
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	29
8.1. Proporción de plantas con <i>Fusarium</i> -----	29
8.2. Identificación morfológica-----	29
8.3. Identificación molecular de <i>Fusarium</i> spp.-----	30
8.3.1. Amplificación mediante PCR específica para <i>F. oxysporum</i> -----	30
8.3.2. Amplificación mediante PCR específica para <i>F. verticillioides</i> -----	31
8.3.3. Amplificación mediante PCR específica para <i>F. subglutinans</i> -----	32
8.3.4 Amplificación mediante PCR a nivel de género-----	32
8.4. Secuenciación de los aislados identificados a nivel género-----	33
8.5. Análisis de las secuencias obtenidas-----	33
8.6. Árbol filogenético-----	34
8.7. Porcentaje de incidencia de especies aisladas-----	35
IX. CONCLUSIONES-----	37
X. LITERATURA CITADA-----	38
ANEXOS-----	45



Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culiacán, Sinaloa, México.

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

EF-1 α : Gen codificador del Factor de Elongación 1 α

SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera

EEA: Estación Experimental Agrícola

ICA: Instituto Colombiano Agropecuario

CIMMYT: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo

RNA: Ácido ribonucleico

PDA: Papa dextrosa agar

pb: Pares de bases

ADNr: ADN ribosomal

GPS: Sistema de posicionamiento global

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

CTAB: Bromuro de hexadeciltrimelamonio

V: Voltios

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Sitios de recolección de las muestras de plántula, planta adulta y mazorca en el Estado de Sinaloa -----	21
Cuadro 2. Estimadores de parámetros -----	22
Cuadro 3. Secuencias de iniciadores y temperatura de alineamiento para las especies de <i>F. verticillioides</i> , <i>F. subglutinans</i> y <i>F. oxysporum</i> -----	26
Cuadro 4. Secuencias de iniciadores y temperatura de alineamiento para el marcador EF-1 α -----	27
Cuadro 5. Número de muestras colectadas de maíz en los municipios de Ahome, Culiacán y Elota del Estado de Sinaloa -----	29
Cuadro 6. Relación del número de muestra y especie correspondiente de <i>Fusarium</i> -----	34



Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culiacán, Sinaloa, México.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema de la secuencia parcial del gen del factor de elongación (EF-1 α) en <i>Fusarium</i> -----	16
Figura 2. Morfología del aislamiento: a) Microconidios b) Macroconidios c) Micelio -----	30
Figura 3. Cepa obtenida por cultivo monospórico de <i>Fusarium</i> spp.-----	30
Figura 4. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 340 pb con los iniciadores FO-1 y FO-2 mediante PCR para la identificación de <i>Fusarium oxysporum</i> -----	31
Figura 5. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 578 pb con los iniciadores VER-1 y VER-2 mediante PCR para la identificación de <i>Fusarium verticillioides</i> -----	31
Figura 6. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 631 pb con los iniciadores SUB-1 y SUB-2 mediante PCR para la identificación de <i>Fusarium subglutinans</i> -----	32
Figura 7. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 700 pb con los iniciadores EF-1 y EF-2 mediante PCR del marcador EF-1 α -----	33
Figura 8. Árbol filogenético de las secuencias EF-1 α de los diferentes aislados de <i>Fusarium</i> spp.-----	35
Figura 9. Porcentaje de especies aisladas -----	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Aislamientos de <i>Fusarium</i> obtenidos de maíz -----	45
Anexo 2. Coordenadas geográficas de lotes muestreados -----	57
Anexo 3. Total de especies aisladas -----	58
Anexo 4. Aislados identificados mediante PCR especie-específica -----	59

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue identificar morfológica y molecularmente las especies del género *Fusarium* que están presentes en el maíz en Sinaloa. Se realizaron muestreos en diferentes localidades de los municipios Ahome, Culiacán y Elota, de los cuales se obtuvo un total de 797 aislados fúngicos, que incluyeron muestras aisladas de plántula, planta adulta y mazorca durante los ciclos agrícolas 2010-2011 y 2011-2012. Para aislar al hongo se colocaron pequeños trozos de cada uno de los diferentes estadios en medio de cultivo PDA en el que se adicionó PCNB y cloranfenicol, a 25 °C durante siete días, una vez crecidos los aislados, se indujo la formación de fiálides, microconidios y macroconidios creciendo el hongo en cajas Petri con medio de cultivo CLA y con aquellos pertenecientes al género *Fusarium*, se obtuvo un cultivo monospórico mediante diluciones seriadas. A partir de éstos se realizó la extracción del ADN para una posterior prueba de PCR especie-específica, y aquellas cepas que no fueron identificados mediante esta técnica, la identificación molecular se obtuvo mediante secuenciación enzimática, haciendo uso de un par de iniciadores generados del gen EF-1 α y comparación con la base de datos del NCBI. Las especies identificadas fueron *Fusarium oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. nygamai*, *F. equiseti*, *F. incarnatum* y *F. andiyazi*, de las cuales predominaron *F. oxysporum* y *F. verticillioides*.

ABSTRACT

The objective of this study was to characterize molecularly species of *Fusarium* that are present in corn in Sinaloa. Samples were taken at different locations of the municipalities Ahome, Culiacan and Elota which yielded a total of 797 fungal isolates, which included isolates from seedling and adult plant and ear during the 2010-2011 and 2011-2012 cycle, to isolate the fungus were placed bits of each of the different stages in PDA medium supplemented with PCNB and chloramphenicol, and developed to 25°C during 1 week and to obtain monosporic culture were realized serial dilutions, from these samples were obtained the DNA for subsequent PCR species-specific. The isolates not identified by this test, molecular characterization were obtained by enzymatic sequencing using a pair of primers generated from the EF-1 α gene and compared in the NCBI database. The species found were *Fusarium oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. nygamai*, *F. equiseti*, *F. incarnatum* and *F. andiyazi*. The dominant species were *F. oxysporum* and *F. verticillioides*.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo de gran relevancia a nivel mundial, en especial para México, considerado como centro de origen y su diversidad; cultivo que ha estado prácticamente en toda la historia y desarrollo del país (Bedoya y Chávez, 2010). Desde el punto de vista alimentario, económico y social, el maíz es el cultivo agrícola más importante de México, siendo éste el quinto productor en el mundo, pero también un importante consumidor del mismo (SIAP, 2006).

Del grano de maíz se pueden generar una gran cantidad de productos finales como son: tortillas, forraje para animales, almidones, glucosa, fructosa, dextrosa, aceites, botanas, etanol para bebidas, o como insumo en la producción de biocombustible, entre otros (SIAP, 2006).

La producción de este grano se lleva a cabo en todo el territorio mexicano, sin embargo, Sinaloa es el mayor productor a nivel nacional, ya que en el año 2011, en él se obtuvo el 16.6 % de la producción total (SIAP, 2012).

El Estado de Sinaloa es una zona con alto potencial de producción, y cuenta con un suelo y clima adecuado para este cultivo; sin embargo, como en todas las regiones productoras de maíz, una de las limitantes que afectan el rendimiento y la calidad del grano son las enfermedades causadas por fitopatógenos, aunado a otros factores, como son el uso de variedades susceptibles, cantidad elevada de inóculo de patógenos y condiciones ambientales adecuadas para la presencia de enfermedades (Fundación produce Sinaloa A. C., 2009; García y Martínez, 2010).

Entre las enfermedades comúnmente encontradas son: manchas foliares, tizones, royas y pudriciones del tallo y la mazorca. Otras enfermedades observadas en menor escala son los carbones y virus (EEA, 2009).

II. ANTECEDENTES

El género *Fusarium* fue documentado por Link en 1809, y a casi tres siglos de su introducción se considera un género que contiene alta diversidad de patógenos de plantas. Los miembros de este género, pueden provocar directamente enfermedades en plantas, animales domésticos y humanos. *Fusarium* spp. produce un grupo de metabolitos secundarios que están asociados con las enfermedades de las plantas, así como con cáncer y otros defectos de crecimiento en humanos y animales domésticos. Es un género con diversidad de especies, formas especiales y razas, aunado a metabolitos de gran importancia para la ciencia y la agricultura (Leslie y Summerell, 2006).

Las enfermedades en plantas por *Fusarium*, han tenido gran impacto sobre los principales cultivos, tanto que la mayoría de ellos presenta una enfermedad asociada a su presencia. Una revisión reciente de la lista de enfermedades gestionadas por la Sociedad Americana de Fitopatología (APS), reveló que más de 81 de las 101 plantas de importancia económica en la lista, presentan al menos una enfermedad asociada a *Fusarium*. Los tipos de enfermedades inducidas son muy variadas, así como su gravedad, y pueden incluir pudrición de tallo y raíz, chancros, marchitez, pudrición de fruto o semilla y enfermedades de las hojas, por tanto, la identificación de las cepas de *Fusarium* presentes en plantas enfermas ha sido, y sigue siendo, una tarea importante en los laboratorios de diagnóstico (Leslie y Summerell, 2006).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Sinaloa no se tiene antecedentes sobre la diversidad de especies de *Fusarium* que están presentes en maíz, por lo que generar conocimiento al respecto será fundamental para el manejo integrado de la fusariosis, así como para la ciencia de maíz.

IV. HIPÓTESIS

En el cultivo del maíz están presentes más de una especie del hongo del género *Fusarium*, en los diversos sistemas de producción en el Estado de Sinaloa.

V. OBJETIVOS

- a) Identificar las especies de *Fusarium* que están presentes en el maíz cultivado en el Estado de Sinaloa.
- b) Determinar la o las especies de *Fusarium* predominantes en el cultivo de maíz en Sinaloa.



Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culiacán, Sinaloa, México.

VI. REVISIÓN DE LITERATURA

6.1. Importancia del maíz

El maíz es uno de los tres cereales más importantes del mundo (Rodríguez y De León, 2008). Durante miles de años fue seleccionado por los pueblos indígenas en diferentes áreas geográficas de América, lo que resultó en un gran número de variedades (White, 2004).

En México, el maíz por su diversidad en formas y usos, tiene un significado e importancia histórica, sobre todo en el medio rural, que se ha calificado a los mexicanos como “gente de maíz”. Sin embargo, además de esta diversidad, el maíz ha resultado ser, por sus especiales rutas metabólicas, una verdadera fábrica de productos industriales, por lo que, sobre todo en países considerados desarrollados, adquiere otro sentido más utilitario. De una u otra forma, el maíz está presente en la vida diaria de las personas en el mundo (Kato *et al.*, 2009).

México y la región mesoamericana, son el centro de origen del maíz y de su diversificación en las más de 50 razas nativas reconocidas en nuestro territorio. Dónde, cuándo y cómo se originó el maíz en México, son preguntas que no se pueden contestar con precisión (Kato *et al.*, 2009).

6.2. Enfermedades en maíz

El maíz es susceptible a varias enfermedades, que en alguna forma afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas. Estas son favorecidas por las condiciones ambientales, el tipo de suelo, la susceptibilidad de los materiales y, en el caso de las enfermedades de origen viral, por las condiciones que favorezcan la migración, establecimiento y supervivencia de los insectos vectores.

Las principales enfermedades que afectan el cultivo del maíz son de origen fungoso, las cuales se encuentran diseminadas en todo el país, y su aparición está sujeta a las condiciones ambientales que favorecen la infección y el desarrollo del patógeno, así como la fuente de inóculo y la susceptibilidad de los genotipos (ICA, 2007).

6.2.1. Enfermedades en maíz causadas por hongos

La mayoría de las enfermedades reportadas en maíz, que afectan raíz, tallo, mazorca y granos, son ocasionadas por hongos. La infección por hongos fitopatógenos depende de varios factores: por lo general se requieren la presencia de agua libre en la superficie de la planta hospedera, sensibilidad de la planta, cantidad de inóculo y temperatura ambiental apropiada. Algunos hongos atacan sólo a una o algunas especies hospederas, pero otros infectan a diversas plantas. Los síntomas y el desarrollo de la enfermedad dependen de la interacción entre el patógeno y el hospedante. Pueden ser similares o distintos según los hongos involucrados y, en consecuencia, una identificación categórica de éstos debe basarse en su morfología.

Los hongos se propagan en distintas formas: pueden ser transmitidos por semillas o el suelo, viento, agua (lluvia, agua de riego), insectos, animales y el hombre.

Entre las enfermedades de mayor importancia en este cultivo son las causadas por hongos, como los tizones (*Exserohilum turcicum*, *Bipolaris maidys*, *Helminthosporium carbonum*), royas (*Puccinia* spp., *Physopella zae*) y pudrición de tallo y mazorca por el hongo *Fusarium*. Entre estas enfermedades, la pudrición de la mazorca es una de las más importantes (Morales *et al.*, 2007).

6.2.2. Enfermedades en maíz causadas por *Fusarium*

6.2.2.1. Pudrición de la raíz

La podredumbre de las raíces se encuentra entre las enfermedades menos estudiadas y menos comprendidas del maíz. Los investigadores están de acuerdo que la podredumbre de las raíces es una enfermedad compleja que implica a diversos hongos, los que aparecen en las raíces, difieren dependiendo de la fase de crecimiento del hospedero, condiciones ambientales, genotipo y cultivos anteriores, estos también varían en su capacidad para causar la enfermedad. Algunas especies de *Fusarium* causan podredumbre en la raíz, las más comúnmente encontradas son: *Fusarium oxysporum* y *F. solani*, otras incluyen a *F. graminearum*, *F. acuminatum*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans*, que suelen producir la enfermedad en plantas jóvenes (White, 2004).

6.2.2.2. Pudrición de tallo

Dos especies de *Fusarium* causan pudriciones del tallo en el maíz: *Fusarium verticillioides* es más común en climas secos y cálidos, y particularmente dañina si comienza antes de la floración. *Fusarium graminearum* es más común en regiones frías, y es uno de los agentes más perjudiciales por causar pudrición del tallo.

Los síntomas producidos por estos patógenos semejan aquellos causados por *Stenocarpella* o *Cephalosporium*, y no se les puede distinguir hasta que son visibles las estructuras que producen las esporas.

Las plantas marchitas permanecen erectas cuando se secan y aparecen lesiones pequeñas de color café oscuro en los entrenudos inferiores. Al partirlos verticalmente, se observa que el floema de los tallos infectados es café oscuro y

que hay un oscurecimiento conspicuo general de los tejidos. En las etapas finales de la infección, la médula es destruida y los tejidos adyacentes pierden su color (CIMMYT, 2004).

6.2.2.3. Pudrición de mazorca

Los primeros signos de la infección son la formación de micelios blancos, que van descendiendo desde la punta de la mazorca y dan una coloración rojiza y rosada a los granos infectados. La pudrición por *Fusarium verticillioides*, es probablemente el patógeno más común de la mazorca de maíz en todo el mundo. A diferencia de *F. graminearum*, el daño que causa *F. verticillioides* se manifiesta principalmente en granos individuales o en ciertas áreas de la mazorca. Los granos infectados desarrollan un moho algodonoso o rayas blancas en el pericarpio y germinan estando aún en el olote. Por lo general, las mazorcas invadidas por barrenadores del tallo son infectadas por *F. verticillioides*. Otras especies que causan esta enfermedad son *Fusarium proliferatum* y *Fusarium subglutinans* (Desjardins *et al.*, 2006).

6.3. El género *Fusarium*

Las especies del género *Fusarium* constituyen un grupo cosmopolita de hongos filamentosos que están ampliamente distribuidas en el suelo, y que colonizan las partes aéreas y subterráneas de las plantas, así como residuos vegetales y otros substratos orgánicos. Se considera un género de hongos fitopatógenos, ya que son capaces de infectar especies vegetales y producir enfermedades, aunque también pueden vivir de manera saprófita sobre residuos de éstas o en productos derivados de ellas. Son responsables de marchitamientos, podredumbres de la

raíz y chancros en una amplia variedad de plantas de cultivo, como por ejemplo los cereales. Por ello, provocan grandes pérdidas económicas en la agricultura y en la industria de procesado y transformación en alimentos y piensos, debido a la disminución de su calidad (Marín, 2010).

6.3.1. Taxonomía y clasificación

La taxonomía del género ha estado afectada por los cambios de concepto de las especies. Link en 1809 creó el género *Fusarium*; Wollenweber y Reinking (1935) dividieron el género en 16 secciones y 65 especies; Snyder y Hansen (1940), reconocieron 10 especies y propusieron que todas las formas de la sección *Elegans* pertenecen a *F. oxysporum*; Booth (1971) reconoció 14 especies y Gerlach y Nirenberg (1982) 21 especies; Leslie y Summerell (2006) reconocen 70 especies siguiendo criterios morfológicos, biológicos y filogenéticos.

Los tres conceptos básicos utilizados en la taxonomía de las especies de *Fusarium* son: a) morfológicos: en agar hojas de clavel o en sustrato natural: la forma y tamaño de los macro y microconidios; presencia de conidióforos mono o polifialídicos; presencia o no y abundancia de clamidosporas; en PDA: la tasa de crecimiento y el color del micelio y pigmentos. b) biológicos: rango de hospedantes, fertilidad en cruzamientos sexuales, los VCGs (Grupos de Compatibilidad Vegetativa); c) filogenéticos secuenciación de: β -tubulina (*tub-2*), el gen del factor de elongación (*EF-1 α*), histona H3, porciones de la región de codificación del RNA nuclear o mitocondrial, los espacios intergénicos IGS; los espacios ITS (Pérez, 2010).

Según Leslie y Summerell (2006), la clasificación de *Fusarium* se ubica en:

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Fusarium*

Especies: *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *oxysporum*, *nygamai*, *andiyazi*, *F. equiseti* y *F. graminearum*.

Algunas especies tienen un estado sexual reconocido dentro de la familia *Nectriaceae*, y pertenecen al género *Gibberella* o *Nectria*.

6.3.2. Caracteres morfológicos

El género *Fusarium* se caracteriza por poseer macroconidios y microconidios como estructuras de propagación. Los macroconidios pueden producirse tanto en esporodoquios como en el micelio aéreo, mientras que los microconidios sólo se producen en el micelio aéreo. Dependiendo de la especie, los macro y microconidios que crecen en el micelio aéreo pueden diferenciarse a partir de las células conidiógenas monofialídicas o polifialídicas, mientras que los macroconidios que crecen en esporodoquios, sólo se producen a partir de monofialídes (Velluti, 2002).

Algunas especies forman clamidosporas como estructuras de resistencia y de propagación. Éstas pueden presentarse solitarias, en cadenas, o en grupos, y también formarse en los conidios. De todas las estructuras mencionadas, la

morfología de los conidios es la principal característica utilizada para la identificación de especies de *Fusarium* (Velluti, 2002).

6.3.3. Especies que infectan maíz

Las especies reportadas por Leslie y Summerell (2006) como huéspedes de maíz son: *Fusarium oxysporum*, Schlechtendahl emend. (Snyder y Hansen); *Fusarium globosum* (Rheeder, Marasas y Nelson); *Fusarium graminearum* (Schwabe); *Fusarium nygamai* (Burgess y Trimboli); *Fusarium proliferatum*, (Matsushima) Nirenberg; *Fusarium pseudoanthophilum* (Nirenberg, O'Donnell y Mubatanhema); *Fusarium sacchari*, (E. J. Butler) W. Gams; *Fusarium subglutinans*, (Wollenweber y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *Fusarium verticillioides*, (Saccardo) Nirenberg.

6.3.4. Producción de micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos producidos por un amplio grupo de hongos, entre los que se encuentran los pertenecientes al género *Fusarium* (Gómez, 2008). Son producidas como consecuencia del metabolismo secundario de hongos filamentosos que pueden crecer sobre diversos tipos de vegetales, como los cereales (Marín, 2010). Se han detectado como contaminantes naturales, en mayor o en menor grado, en un gran número de productos agrícolas y manufacturados, y si llegan a ser consumidas pueden causar una gran variedad de efectos tóxicos en humanos y animales (Gómez, 2008). Su toxicidad es muy variada, dependiendo de la toxina, y puede afectar al sistema nervioso central, a los sistemas cardiovascular, pulmonar y el tracto digestivo (riñones e hígado). Además, algunas también pueden actuar como agentes cancerígenos,

mutagénicos, teratógenos e inmunodepresores. Dentro de los cereales, el maíz es uno de los más vulnerables a la colonización por especies del género *Fusarium* y, por consiguiente, a la contaminación por las micotoxinas que produce dicho género (Marín, 2010).

Entre las micotoxinas que pueden afectar al grano de maíz, cabe destacar las fumonisinas (B1 y B2), producidas principalmente por *Fusarium moniliforme* (sinónimo *F. verticillioides*); y el deoxinivalenol (DON) y la zearalenona (ZEN), producidas mayoritariamente por *Fusarium graminearum*. Los factores que favorecen su presencia son diversos; las condiciones climatológicas, presencia de taladros, fecha de recolección, sensibilidad varietal, estrés hídrico y gestión de los restos del cultivo anterior, son algunos factores que permiten su producción (GENVCE, 2006).

6.3.5. Ecología

A pesar de haberse descrito como mohos de campo, *Fusarium* spp. puede desarrollarse en almacén, cuando la humedad es alta y la temperatura baja. Son importantes como patógenos de cereales, que causan lesiones en tallo y raíces, así como infecciones en las espigas (Velluti, 2002).

Las especies de *Fusarium* están ampliamente distribuidas en el suelo, particularmente en cultivos, y son activos en la descomposición de las partes celulósicas de las plantas. Son la principal causa del deterioro de frutas y vegetales, y están comúnmente asociados a legumbres y cereales, a los cuales invaden generalmente antes de la cosecha (Pitt y Hocking, 1977. Citado en: Velluti, 2002). Antes de la cosecha, como en el almacén, el crecimiento fúngico

viene determinado por el entorno, especialmente por la disponibilidad de agua, temperatura, composición gaseosa, interacción con otros microorganismos y por las medidas adoptadas para su control (Lacey, 1989. Citado en: Velluti, 2002).

6.3.6. Caracterización molecular

La caracterización o tipificación molecular, consiste en diferenciar individuos de interés según sus variaciones o polimorfismos en el ADN. Estos polimorfismos pueden darse principalmente debido a dos tipos de cambios: por adición, transición, translocación o delección, de las bases nitrogenadas; y por reorganizaciones en la secuencia del ADN (Valadez y Kahl, 2000; Robles *et al.*, 2004). Estos cambios generalmente son localizados en un sitio específico de la molécula de ADN.

En la práctica, la caracterización se realiza generalmente empleando oligonucleótidos (cebadores o iniciadores) de secuencia conocida, que sirvan como punto de partida y/o término de la síntesis de fragmentos complementarios a la banda de ADN en estudio, y con éllo, mediante la detección de variaciones en los tamaños o secuencias nucleotídicas de los productos amplificados durante la PCR o hibridación por Southern Blot, diferenciar entre géneros, especies y hasta menores grados de clasificación, según la técnica empleada y el tipo de organismo (Alberts *et al.*, 1996; Valadez y Kahl, 2000; Claros, 2005; Caetano y Gresshoff, 1997. Citado en: Echeverría, 2006).

6.3.6.1. Marcadores moleculares

Existen dos clases de marcadores genéticos: los morfológicos y los moleculares (Tanksley, 1983). Gracias a los avances en la biología molecular, se han desarrollado métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares, que superan, en la gran mayoría de los casos, las limitaciones de los métodos tradicionales. Dentro de los marcadores moleculares se menciona la existencia de dos tipos: las proteínas (principalmente las isoenzimas) y los marcadores de ADN.

Los marcadores moleculares han sido definidos como cualquier diferencia no típica controlada genéticamente. Se puede considerar que cualquier molécula, orgánica o inorgánica, que sea característica de un organismo o proceso, es un marcador. Los marcadores idóneos son los de ADN, siendo válido cualquier fragmento que se encuentre muy cerca del gen o de la secuencia de interés, y que lógicamente no afecte al carácter en estudio (SIDTA, 1999. Citado en: Azofeifa, 2006). Para Valadez y Kahl (2000), un marcador se refiere a cualquier molécula de proteína, ARN o ADN de tamaño o peso molecular conocido, que sirve para monitorear o calibrar la separación de las mismas, utilizando electroforesis o cromatografía y un marcador genético como cualquier gen, cuya expresión permite un efecto fenotípico que puede ser detectado fácilmente (por ejemplo, un gen que ocasiona resistencia para algún antibiótico (Azofeifa, 2006).

Los marcadores del ADN se basan fundamentalmente en el análisis de las diferencias en pequeñas secuencias del ADN entre individuos. Las técnicas empleadas para éllo son muy diversas, y dan el nombre a los distintos tipos de

marcadores, los cuales pueden ser de carácter dominante o codominante (Karp y Edwards, 1998).

6.3.6.1.1. Gen del Factor de Elongación EF-1 α

El gen del factor de elongación 1 alfa (EF-1 α o TEF), el cual codifica una parte esencial de maquinaria de traducción proteínica, tiene una gran utilidad filogenética, ya que es altamente conservado a nivel de especie dentro del género *Fusarium*, y se han desarrollado cebadores o iniciadores universales que funcionan a través del género (Geiser *et al.*, 2004; Roger *et al.*, 1999), esto debido a que presenta una sola copia no ortóloga para este género. Este gen fue utilizado por primera vez como marcador filogenético para inferir las especies y nivel de género entre los lepidópteros (Cho *et al.*, 1995). Para el caso de *Fusarium*, estos cebadores fueron desarrollados para investigar linajes dentro del complejo *Fusarium oxysporum* (O'Donnell *et al.*, 1998a). Estos iniciadores amplifican una región de ~700 pb del gen EF, flanqueando 3 intrones que constituyen la mitad de la longitud del amplificado en todos los *Fusarium* conocidos. Este gen es encontrado consistentemente en copia simple en *Fusarium*, y tiene un alto nivel de polimorfismo, aún cuando es comparado con las porciones ricas en intrones de los genes que codifican proteínas, como la calmodulina, β -tubulina e histona 3 (H3). Por estas razones EF se ha convertido en el marcador de elección, como herramienta para la identificación de *Fusarium* spp. (Geiser *et al.*, 2004).

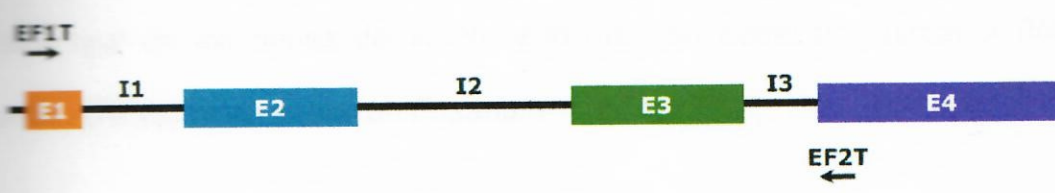


Figura 1. Esquema de la secuencia parcial del gen del factor de elongación (EF-1 α) en *Fusarium*. Adaptado de O'Donnell *et al.* (1998a).

6.3.6.1.2. β -Tubulina

La tubulina es una proteína globular que se constituye como uno de los mayores componentes de microtúbulos de las células eucariotas. Los microtúbulos están involucrados en todos los movimientos a nivel del citosol de todas las células, el cual juega un papel fundamental durante la mitosis, ya que son los encargados de la división y desplazamiento del material celular, y además determinan el crecimiento celular. Para los análisis moleculares, esta proteína se utiliza por su carácter altamente conservado y común a todos los eucariotas, y porque al conocerse los aminoácidos que la componen en diferentes especies eucariotas, es posible establecer comparaciones entre organismos diferentes, incluso entre miembros de una misma especie, ya que se hace posible distinguir entre organismos que poseen alelos diferentes para β -tubulina, mediante evaluación de intrones del gen que codifica para ésta proteína (Cruz, 2003).

Generalmente el gen β -tubulina se expresa en niveles altos durante el crecimiento celular y su secuencia nucleotídica, la cual muy frecuentemente ha sido usada en los análisis filogenéticos, para distinguir entre diferentes especies y/o diferentes subgrupos dentro de una especie (Amrani y Corio, 2006). O'Donnell *et al.* (1998a)

reportó que hay 3.5 veces más información filogenética en los genes de la β -tubulina que en los genes del ADNr, y lo propuso como un marcador útil para estudiar relaciones cercanas en *Fusarium*.

6.3.6.1.3. Calmodulina

La calmodulina es la proteína de unión a calcio que mejor caracteriza, y es el prototipo de la familia EF-hand. Es reconocida como el sensor primario de calcio en la célula; es una proteína intracelular pequeña (148 aa), de carácter ácido, estable al calor, que se encuentra presente en todos los organismos eucariotas. Además, es altamente conservada a nivel secuencia (Chin y Means, 2000).

6.3.6.1.4. Histona H3

Las histonas son el principal componente de la cromatina; conforman una familia de proteínas básicas, de baja masa molecular, muy conservadas evolutivamente entre los eucariotas. Las cinco histonas mayoritarias, denominadas H1, H2A, H2B, H3 y H4, son proteínas ricas en aminoácidos (aa) básicos cargados positivamente, los cuales son capaces de interactuar con los grupos fosfatos del ADN, los cuales se encuentran cargados negativamente. La mayoría de los organismos eucariotas expresan una variante de H3 específica de centrómeros (cenH3), la cual se encuentra evolutivamente muy conservada en su parte globular, pero no en su región N-terminal (Malik y Henikoff, 2003).

6.3.6.1.5. ITS (Espaciadores Internos Transcriptos)

El ADNr puede encontrarse en mitocondrias, cloroplasto y núcleo. Contiene la información para el ARN que conforma los ribosomas, por lo que es información

que se transcribe pero no se traduce. El ADNr se presenta en repeticiones tándem y está formado por tres subunidades altamente conservadas (18 ADNr, 5.8 ADNr y 23S ADNr), separadas por dos espaciadores con elevadas tasas de sustitución (ITS1 e ITS2). Estas repeticiones en tándem se encuentran conservadas a lo largo de todo un genoma y evolucionan concertadamente, lo que se atribuye a eventos recombinatorios, como entrecruzamiento desigual y conversión génica. Estas secuencias, por la baja tasa de sustitución que presentan, son extremadamente útiles en el planteamiento de hipótesis de relaciones filogenéticas de taxa, con tiempos de divergencia muy antiguos (Hills *et al.*, 1991).

6.4. Técnicas de biología molecular

6.4.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

En 1985 Kary Mullis desarrolló una nueva técnica de laboratorio que ha tenido gran repercusión en el mundo de la genética: la reacción en cadena de la polimerasa, conocida por sus siglas en inglés PCR (Polymerase Chain Reaction).

La técnica consiste en una reacción *in vitro* que permite la amplificación de regiones específicas de ADN a gran escala, de manera simple y rápida. Se basa en la síntesis de una hebra complementaria de ADN a partir de una cadena simple que utiliza como molde, por medio de la sucesión de ciclos de diferentes temperaturas. Emplea secuencias nucleotídicas cortas como iniciadores de la síntesis (cebadores o primers) que se unen específicamente a las secuencias que flanquean la región a amplificar (región blanco). Además, esta reacción se desarrolla en presencia de una enzima ADN polimerasa bacteriana termoestable y cuatro deoxinucleótidos (dNTPs). El proceso requiere tres pasos básicos: 1)

desnaturalización o separación de las cadenas del ADN; 2) hibridación o alineamiento de los iniciadores a sus secuencias complementarias; y 3) síntesis de la hebra complementaria a partir de cada iniciador. Cuando este ciclo se repite sucesivas veces, se produce un incremento exponencial de la región amplificada. Luego los productos de la reacción de PCR son analizados por electroforesis en un gel de agarosa o acrilamida (Krivokapich y Molina, 2005). Otra manera de analizar el producto de PCR, es por PCR en tiempo real, en esta prueba el producto de PCR se mide al final de cada ciclo. Los datos pueden ser analizados mediante un software informático (Heid *et al.*, 1996).

6.4.2. Clonación

La clonación del ADN es la piedra angular de la biología molecular. Su poder es tal que sin ella una gran parte de la ciencia biológica moderna no sería posible. Un clon se puede definir como una copia idéntica. La clonación implica la unión o ligadura del ADN con un vector que permita la construcción resultante a ser introducido en una célula, se replica y se transmite a células hijas. El resultado es una población de células que contienen los clones del ADN original. Después de que el ADN se immortaliza, las células pueden ser cultivadas a fin de extraer el ADN para un estudio o manipulación adicional (Andrew, 2005).

6.4.3. Secuenciación

Existen diferentes técnicas de secuenciación, pero sin ninguna duda la desarrollada en la década de 1970 por Frederick Sanger, un bioquímico inglés, fue la que permitió la secuenciación a gran escala. Sanger, quien logró la secuencia completa de la molécula de insulina, y demostró que las proteínas tienen una

estructura específica, desarrolló un método de secuenciación en 1975 (que le valió un segundo Premio Nobel en 1980).

El genoma o secuencia completa de ADN de un organismo, constituye la información genética heredable del núcleo celular, plásmidos, mitocondrias y cloroplastos. Secuenciar, es determinar el orden en que se enlazan las bases de dicha secuencia. Los avances de las técnicas de secuenciación del ADN permiten actualmente leer el ADN a gran velocidad, lo que ha llevado a abordar proyectos a gran escala, como el Proyecto Genoma Humano. Pero además, ya se dispone de la secuencia completa de ADN de diversos genomas de animales (lagarto: *Anolis carolinensis*, caballo: *Equus caballus*) plantas (melón: *Cucumis melo*, plátano: malayo *Musa acuminata*) y microorganismos (*Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenza*) (Ávila et al., 1995).

Para la selección y toma de las muestras a analizar, se empleó el muestreo simple aleatorio sin reemplazo, para estimar la proporción de plantas con *Fusarium* (Bastidas *et al.*, 2009). Se consideró como población objetivo por localidad seleccionada, la densidad de 100,000 plantas de maíz por hectárea.

Con los datos resultantes del análisis de las muestras, se calcularon los siguientes estimadores de parámetros poblacionales:

Cuadro 2. Estimadores de parámetros

Estimadores de parámetros	Cálculo
Proporción de individuos enfermos/sanos	$p_n = X_n = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n};$ <p>Cuando x_i toma valores de 0 y 1, <i>Fusarium</i>: 0 = ausente, 1 = presente y $q_n = 1 - p_n$</p> <p>p_n = Proporción de plantas con <i>Fusarium</i>. q_n = Proporción de plantas sin <i>Fusarium</i>.</p>
Varianza de las observaciones	$S_n^2 = p_n q_n$
Varianza del estimador (Proporción de plantas con <i>Fusarium</i>)	$S_{p_n}^2 = \frac{(p_n q_n)}{n} \left(1 - \frac{n}{N}\right)$
Estimación por intervalo	$p_n \pm Z_{\alpha/2} S_{p_n}$
Tamaño de muestra	$n = \frac{(NZ_{\alpha/2}^2 p_n q_n)}{(Nd^2 + Z_{\alpha/2}^2 p_n q_n)}$

7.2. Aislamientos de *Fusarium* spp.

Se colectaron 797 muestras de plantas de maíz de las cuales 311 correspondieron a plántula, 249 a planta adulta y 237 a mazorca las cuales se obtuvieron en diferentes localidades de los municipios Ahome, Culiacán y Elota durante los ciclos 2011-2012 (Anexo 1), los sitios de muestreo fueron georeferenciados (Anexo 2).

De cada muestra colectada se cortaron pequeños trozos longitudinales de plántula y planta adulta y 3 semillas de cada mazorca, los cuales se colocaron en placas de Petri con medio PDA (papa-dextrosa-agar) suplementado con PCNB (pentacloro-nitro-benceno, $750 \mu\text{L L}^{-1}$) y cloranfenicol (600 mg L^{-1}) a 25°C durante 7 días.

7.3. Identificación morfológica

Una vez crecidos los aislados, se indujo la formación de fiálides, microconidios y macroconidios por crecimiento del hongo en cajas Petri con medio de cultivo CLA (Carnation Leaf Agar), a una temperatura de $22\text{-}24^\circ\text{C}$ por 24 días (Morales *et al.*, 2007) posteriormente se hizo una observación a través del microscopio para identificar los hongos del género *Fusarium*, según los criterios propuestos por Leslie y Summerell (2006).

7.4. Cultivos monospóricos del hongo *Fusarium* y conservación.

Con los aislados pertenecientes al género *Fusarium*, se obtuvo un cultivo monospórico. Para ello se tomó de la placa una parte de micelio con una asa estéril, el cual se depositó en un tubo Eppendorf 1.5 mL con 1 mL de agua destilada estéril, y de este se hicieron diluciones seriadas, las cuales crecieron bajo las mismas condiciones y el mismo medio. Posteriormente se tomó parte del

la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) por su elevada sensibilidad, especificidad y rapidez. Mediante esta técnica se ha llevado a cabo la identificación a nivel género y especie de los aislados de *Fusarium* spp. Una vez terminada la reacción, los productos amplificados se separaron electroforéticamente en geles de agarosa al 1%, teñidos con el colorante Gel Red 3X (www.biotium.com) y corridos a 150 V durante 30 min. Como amortiguador de corrida se usó una solución a base de NaOH-Borato 1X (SB) (Brody y Scott, 2004). Cuando el producto amplificado se separó, el gel de agarosa se expuso a una cámara de luz UV (UVP), y las imágenes se capturaron y digitalizaron mediante el programa Launch Doc-ItLS (UVP).

7.5.2.1. Amplificación a nivel especie

La identificación de especies de *F. verticillioides* y *F. subglutinans* se realizó con base al protocolo de PCR descrito por Mulé *et al.* (2004), mientras que para *F. oxysporum* se usó el de Mishra *et al.* (2003). Para ambos protocolos se tomaron en cuenta, tanto las condiciones de temperatura de amplificación, como secuencias de iniciadores específicos para cada especie (Cuadro 3).

Cuadro 3. Secuencias de iniciadores y temperatura de alineamiento para las especies de *F. verticilliodes*, *F. subglutinans* y *F. oxysporum*.

Nombre del iniciador	Secuencias de iniciadores 5'→3'	Temperatura de Alineamiento	Tamaño del fragmento	Especie
SUB 1 (D)	CTGTCGCTAAACCTCTTTATCCA	56 °C	631 pb	<i>Fusarium subglutinans</i> ^a
SUB 2 (R)	CAGTATGGACGTTGGTATTATATCTAA			
VER 1 (D)	CTTCCTGCGATGTTTCTCC	56 °C	578 pb	<i>Fusarium verticilliodes</i> ^a
VER 2 (R)	AATTGGCCATTGGTATTATATATCTA			
FO 1(D)	ACATACCACTTGTTGCCTCG	53°C	340 pb	<i>Fusarium oxysporum</i> ^b
FO 2(R)	CGCCAATCAATTTGAGGAACG			

a Mulé, *et al.* (2004); b Mishra *et al.* (2003)

7.5.2.2. Amplificación a nivel género mediante el marcador EF-1 α

La identificación a nivel género se efectuó mediante el método de secuenciación molecular (Sanger *et al.*, 1977), realizándose una amplificación mediante PCR con el empleo de los iniciadores EF-1 y EF-2, que detectan y amplifican un fragmento de 700 pb del gen EF-1 α (codificador del Factor de Elongación 1- α , específico para las especies del género *Fusarium*). Esta evaluación se hizo para aquellos aislados no identificados a nivel especie. Las condiciones de amplificación y las secuencias de iniciadores usados fueron propuestas por (O'Donnell *et al.*, 1998) indicadas en el Cuadro 4. Una vez amplificados los fragmentos, se procedió a purificarlos mediante columnas de sílica (Bio-Basic, Inc.) para su secuenciación.

Cuadro 4. Secuencias de iniciadores y temperatura de alineamiento para el marcador EF-1 α .

Nombre del iniciador	Secuencias de iniciadores 5'→3'	Temperatura de Alineamiento	Tamaño del fragmento	Especie
EF 1 (D)	ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC	53 °C	700 pb	Todas las especies del género
EF 2 (R)	GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT			<i>Fusarium</i> ^a

a O'Donell *et al.* (1998)

7.6. Purificación de fragmentos amplificados a nivel género

Para llevar a cabo este proceso, se utilizó un protocolo a base de columnas de sílica (EZ-10 Spin Column DNA Gel Extraction Kit BS354, Bio Basic Inc.) el cual consistió en lo siguiente:

Cortar el fragmento de PCR visualizado en el gel y transferir a un tubo Eppendorf de 1.5 mL. Agregar 500 μ L de la solución de unión (Binding Buffer II) e incubarlo a 60 °C por 10 minutos. (Agitarlo manualmente cada 3 minutos para favorecer que la agarosa se disuelva en esta solución). La solución anterior se transfiere a una columna de sílica (EZ-10 column) y se deja en contacto por 2 minutos a temperatura ambiente. Centrifugar la muestra a 10,000 rpm por 2 minutos. Pasar la columna a un tubo nuevo y agregar 750 μ L de la solución de lavado (Wash Solution). Centrifugar la muestra a 10,000 rpm por 2 min. Desechar la solución del tubo y transferir la columna a un tubo nuevo y agregar 30 μ L de la solución de elución (Elution Buffer), y dejarlo en contacto a temperatura ambiente por 2 minutos, y finalmente centrifugar la muestra a 10,000 rpm por 2 minutos. La

calidad y la cantidad de ADN purificado se observó mediante un gel de agarosa al 1 %.

7.7. Secuenciación de los aislados identificados a nivel género

Una vez obtenido el fragmento de PCR purificado, se procedió a enviar estas muestras a secuenciar al LANGEBIO (CINVESTAV).

7.8. Análisis y agrupación de las secuencias de ADN

Una vez obtenidos los resultados de las secuencias, estas se compararon mediante un análisis de homología por alineación en el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (National Center for Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Esto sirvió para identificar molecularmente las cepas para designar la especie de *Fusarium*.



Universidad Autónoma
de Sinaloa
FACULTAD DE AGRONOMIA
Coordinación de Posgrado
Culiacán, Sinaloa, México.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Proporción de plantas con *Fusarium*

Se analizaron 797 muestras (Cuadro 5), de las cuales en 748 de ellas se observó la presencia de *Fusarium*.

Cuadro 5. Número de muestras colectadas de maíz en los municipios de Ahome, Culiacán y Elota del Estado de Sinaloa.

Municipio	Estadio		
	Plántula	Planta adulta	Mazorca
Ahome	38	128	76
Culiacán	148	78	131
Elota	125	43	30
Total	311	249	237

La proporción de plantas con *Fusarium* fue de $p_n = 0.93$, es decir, el 93%, y la de plantas sin fusariosis $q_n = 0.07 = 7\%$; intervalo de confianza de $0.9042 \leq P \leq 0.9558$, que indica que la proporción poblacional se localiza entre 90.42% y 95.58%, con 95% de confianza. Para un 5% de precisión ($\pm 4.65\%$), el tamaño de la muestra fue de $n = 100$ por localidad.

8.2. Identificación morfológica

En la Figura 2 se pueden observar las estructuras del micelio y la forma de los micro y macroconidios que formaron los hongos en el medio de cultivo, lo cual permitió determinar que corresponden al género *Fusarium* (Leslie y Summerell, 2006). La morfología del hongo se puede observar en la Figura 3.

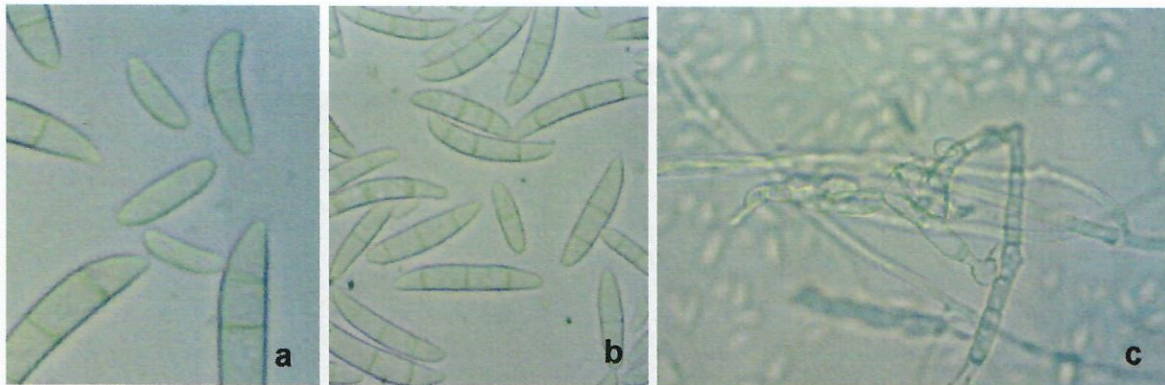


Figura 2. Morfología del hongo: a) Microconidios b) Macroconidios c) Micelio.



Figura 3. Cepa obtenida por cultivo monospórico de *Fusarium* spp.

8.3. Identificación molecular de *Fusarium* spp.

Se analizaron un total de 748 ADN's extraídos de cada cepa, a cada uno se le realizaron pruebas de PCR para la identificación de las especies *F. oxysporum*, *F. verticillioides* y *F. subglutinans*, y a nivel género mediante secuenciación enzimática.

8.3.1. Amplificación mediante PCR específica para *F. oxysporum*

Después de utilizar los iniciadores para *F. oxysporum*, el total de aislados fúngicos identificados para esta especie fueron 537 (Anexo 3 y 4). En la Figura 4 se observa el amplificado esperado de 340 pb.

8.3.3. Amplificación específica para *F. subglutinans*

En la Figura

subglutinans,

340 pb →

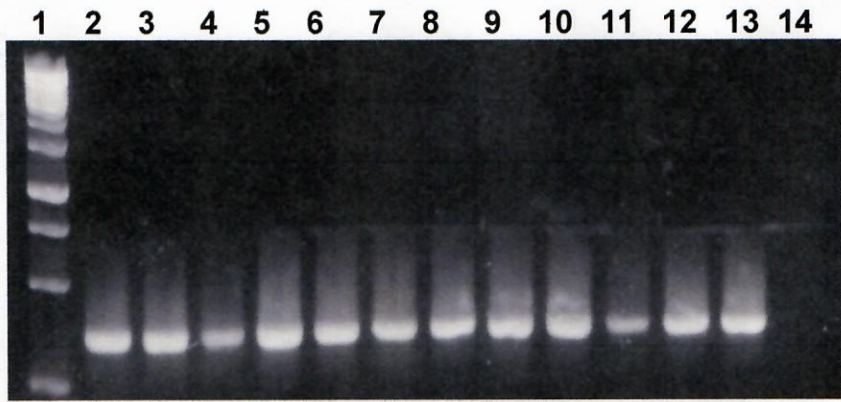


Figura 4. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 340 pb con los iniciadores FO-1 y FO-2 mediante PCR para la identificación de *Fusarium oxysporum*. Carril 1: MTM 1Kb, 2-12: ADN aislado de maíz, 13: Control positivo (ADN de *Fusarium oxysporum*), 14: Control negativo (sin ADN).

8.3.2. Amplificación mediante PCR específica para *F. verticillioides*

En la Figura 5 se observa un amplificado de 578 pb que corresponde a *F. verticillioides*, se identificaron 198 aislados fúngicos para esta especie (Anexo 3 y 4).

578 pb →

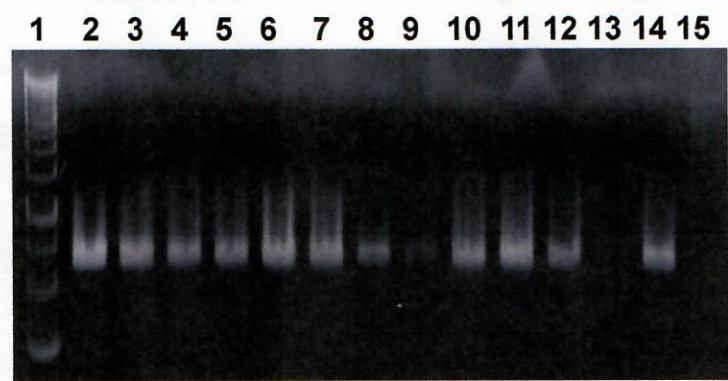


Figura 5. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 578 pb con los iniciadores VER-1 y VER-2 mediante PCR para la identificación de *Fusarium verticillioides*. Carril 1: MTM 1 Kb, 2-13: ADN aislado de maíz, 14: Control positivo (ADN de *Fusarium verticillioides*), 15: Control negativo (sin ADN).

8.3.3. Amplificación mediante PCR específica para *F. subglutinans*

En la Figura 6 se observa el amplificado obtenido por los iniciadores para *F. subglutinans*, tres aislados fueron amplificados por estos iniciadores (Anexo 3 y 4).

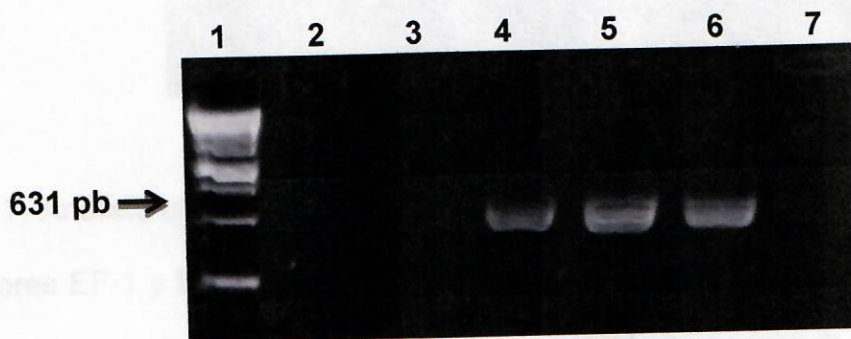


Figura 6. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 631 pb con los iniciadores SUB-1 y SUB-2 mediante PCR para la identificación de *Fusarium subglutinans*. Carril 1: MTM 1 Kb, 2-5: ADN aislado de maíz, 6: Control positivo (ADN de *Fusarium subglutinans*), 7: Control negativo (sin ADN).

8.3.4. Amplificación mediante PCR a nivel de género

Los 11 aislados no identificados por PCR especie-específica, dieron positivo para este análisis. En la Figura 7 se observa el producto amplificado por los iniciadores para el marcador EF-1 α con un fragmento de 700 pb.

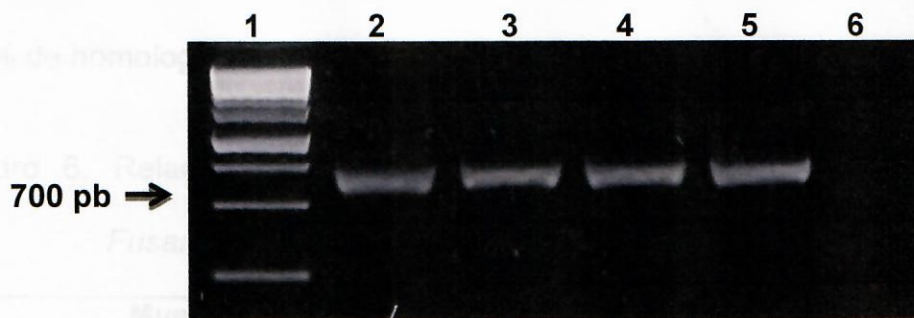


Figura 7. Análisis electroforético de los fragmentos amplificados de 700 pb con los iniciadores EF-1 y EF-2 mediante PCR del marcador EF-1 α . Carril 1: MTM 1 Kb, 2-4: ADN aislado de maíz, 6: Control positivo (ADN de *Fusarium* spp.), 7: Control negativo (Sin ADN).

8.4. Secuenciación de los aislados identificados a nivel género

Los fragmentos obtenidos a partir de geles de agarosa, fueron purificados con buena calidad y cantidad de ADN, y posteriormente se enviaron a secuenciar.

8.5. Análisis de las secuencias obtenidas

Las secuencias obtenidas fueron comparadas en la base de datos del GenBank (NCBI), con la finalidad de obtener porcentajes de homología entre otras especies ya reportadas, y que sugieren la especie a la que pertenecen las muestras analizadas en este estudio.

Las secuencias de los aislados fúngicos que poseen un 100% de homología con otras que ya se han reportado con anterioridad, se considera que pertenecen a dicha especie (Cuadro 6). Sin embargo, es importante tener en cuenta que existen especies estrechamente relacionadas, y que pueden compartir porcentajes muy

elevados, pero a pesar de esto, se toman en cuenta solamente los que tienen un 100% de homología para reducir a la especie de que se trata.

Cuadro 6. Relación del número de muestra y especie correspondiente de *Fusarium*.

Muestra	Especie a la que pertenece
613	<i>F. incarnatum</i>
623	<i>F. incarnatum</i>
678	<i>F. nygamai</i>
680	<i>F. incarnatum</i>
681	<i>F. incarnatum</i>
699	<i>F. incarnatum</i>
704	<i>F. incarnatum</i>
706	<i>F. incarnatum</i>
777	<i>F. andiyazi</i>
831	<i>F. equiseti</i>
844	<i>F. nygamai</i>

8.6. Árbol filogenético

La información generada por la secuenciación del marcador EF-1 α , permitió la construcción de arboles filogenéticos. La alineación y el análisis de las secuencias se llevó a cabo utilizando el software MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011) con el modo de perfil ClustalW. La historia de evolución se construyó con el método Neighbor-joining (Saitou y Nei, 1987), y las distancias evolutivas se calcularon mediante el

modelo de sustitución p-distance (Nei y Kumar, 2000) con prueba de bootstrap (1000 repeticiones) para presentar el porcentaje (Felsenstein, 1985).

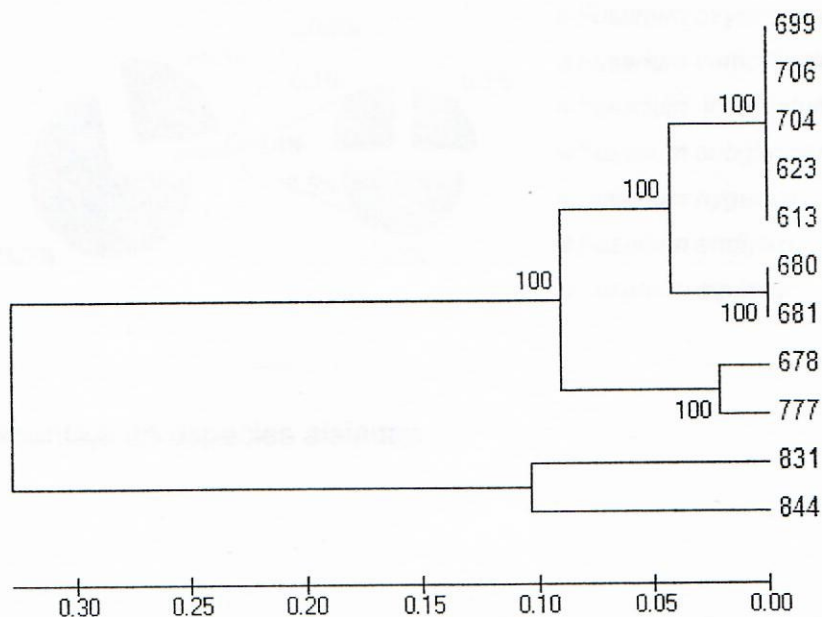


Figura 8. Árbol filogenético de las secuencias EF-1 α de los diferentes aislados de *Fusarium* spp.

8.7. Porcentaje de incidencia de especies aisladas

De las plantas con presencia de *Fusarium* se calculó el porcentaje de cada una de las especies aisladas. En la Figura 9 se puede observar que las especies con mayor incidencia fueron *F. oxysporum* con el 71.7% y *F. verticillioides* con 26.5%.

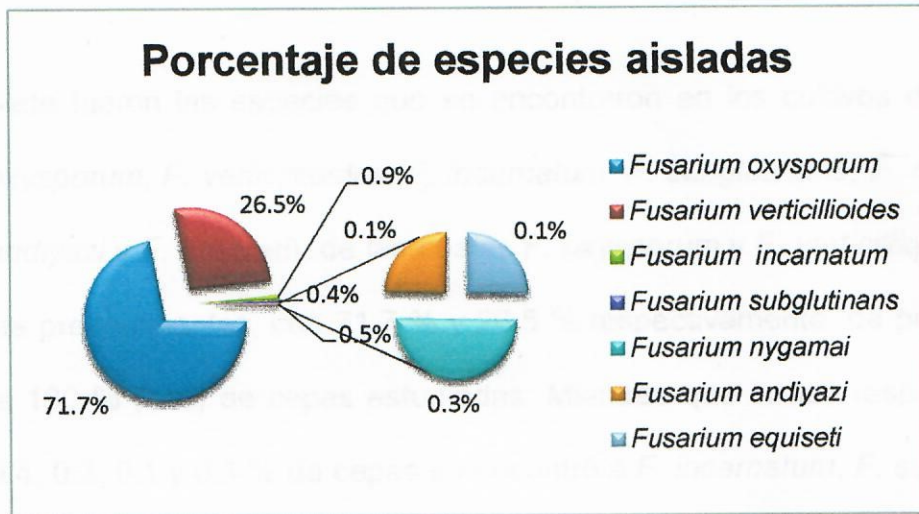


Figura 9. Porcentaje de especies aisladas

IX. CONCLUSIONES

- Siete fueron las especies que se encontraron en los cultivos de maíz (*F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. incarnatum*, *F. subglutinans*, *F. nygamai*, *F. andiyazi* y *F. equiseti*), de las cuales *F. oxysporum* y *F. verticillioides* fueron las predominantes, con 71.7 % y 26.5 % respectivamente, de presencia en el 100 % (748) de cepas estudiadas. Mientras que en los respectivos 0.9, 0.4, 0.3, 0.1 y 0.1 % de cepas se encontró a *F. incarnatum*, *F. subglutinans*, *F. nygamai*, *F. andiyazi* y *F. equiseti*.
- Las especies presentes en plántula fueron *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. incarnatum* y *F. nygamai*; en planta adulta: *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. equiseti*, *F. nygamai*, *F. andiyazi* y *F. subglutinans* y en mazorca: *F. oxysporum* y *F. verticillioides*.
- En el municipio de Ahome, se encontraron las especies *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. andiyazi*, *F. equiseti* y *F. nygamai*; en Culiacán: *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. andiyazi*, *F. incarnatum* y *F. nygamai* y en Elota: *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*.

X. LITERATURA CITADA

- Amrani, L. and Corio M. F. 2006. A single nucleotide polymorphism in the β -tubulin gene distinguishing two genotypes of *Eryshipe necator* expressing different symptoms on grapevine. *Plant pathology*. 55: 505-512.
- Andrew, Q. M. 2005. DNA Cloning. *Encyclopedia of Life Sciences*. Cambridge, UK. 10p.
- Ávila, J. T., De Vera A. M., Hernández C. y Vasallo P. M. 1995. Análisis del DNA. II: Clonar, secuenciar y PCR. *Nefrología*. Tenerife. 15(2).
- Azofeifa, A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas: aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*. Costa Rica. 17(2): 221-242.
- Bedoya, C. A. y Chávez V. H. 2010. Teocintle: el ancestro del maíz. *Claridades agropecuarias*. México. 201: 32-42.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey. 237p.
- Brody, J. R. and Scott E. K. 2004. Sodium boric acid: A tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. *Biotechniques*. USA. 36(2):214-216.
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. 4ta. edición. El Batán, México, D.F. 123p.
- Chin, D. and Means A. R. 2000. Calmodulin: a prototypical calcium sensor. *Trends in Cell Biology*. 10(8): 322-328.

- Cho, S. W., Mitchell A., Regier J. C., Mitter C., Poole R. W., Friedlander T. P. and Zhao S. W. 1995. A highly conserved nuclear gene for low-level phylogenetics-Elongation-Factor-1-Alpha recovers morphology-based tree for Heliothine moths. *Molecular Biology and Evolution*. 12: 650-656.
- Cruz, L. P. 2003. Uso de la diversidad genética de *Beauveria bassiana* para el diseño de alternativas de control de la Broca del café. *Microbióloga industrial*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Basicas. Carrera de Microbiología Industrial. Bogotá. Colombia. 71p.
- Desjardins, A. E., Maragos C. M., and Proctor R. H. 2006. Maize ear rot and moniliformin contamination by cryptic species of fusarium subglutinans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. USA. 54: 7383-7390.
- Echeverría, F. 2006. Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin. Cartago, Costa Rica. Trabajo Final de Graduación para optar por el grado de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología.
- EEA (Estación Experimental Agrícola). 2009. Guía técnica para la producción de maíz. Disponible en internet:
http://academic.uprm.edu/jbeaver/index_files/2009%20Maize%20Production%20Guide/2008%20Maize%20CT/Maize%20Subfolder%2008/Enfermedades%20-%20Maize%2009.pdf
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 39:783-791.

ndación produce Sinaloa A.C. 2009. Agenda de innovación tecnológica.

Disponible en internet:

<http://www.cofupro.org.mx/Publicacion/Archivos/agenda25.pdf>

arcía, G. y Martínez R. 2010. Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de Ciudad Serdán, Puebla. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. México D.F. 81: 15-20.

eiser, D., Jiménez M., Kang S., Makalowska I., Veeraraghavan N., Ward T. J., Zhang N., Kuldau G. A. and O'Donnell K. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*. USA. 110: 473–479.

erlach, W. and Nirenberg H. 1982. The genus *Fusarium* – A pictorial atlas. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt Für Land- und Forstwirtschaft Berlin – Dahlem*. 209: 1-405.

ómez, E. D. 2008. Caracterización de cepas toxigénicas del género *Fusarium* mediante técnicas de biología molecular. Valencia. Tesis doctoral presentada para optar al grado de Doctor Ingeniero Agrónomo.

ENVCE (Grupo para Evaluación de Nuevas Variedades de Cereales en España). 2006. Determinación del contenido en fumonisinas de variedades de maíz de la red genvce. Disponible en internet: www.genvce.org.

eid, C. A., Stevens J., Livak K. J. and Williams P. M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research*. 6: 986-994.

illis, D. M., Wiens J. J. 2000. Molecules versus morphology in systematics. *In*: J. J. Wiens (ed.). *Phylogenetic analysis of morphological data*. Smithsonian Institution Press. Washington. 1-19.

- ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2007. Enfermedades del maíz y su manejo. Produmedios. Primera edición. Colombia. 55p.
- Karp, A. and Edwards K. 1998. DNA markers: a global overview. In: G. Caetano-Anollés, P. M. eds. DNA markers: protocols, applications and overviews. Gresshoff. New York. p. 1-13.
- Kato, T., Mapes C., Mera L., Serratos J. y Bye R. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Primera edición. México, D.F. 116 p.
- Krivokapich, S. J. y Molina V. E. 2005. Estudios sobre la caracterización molecular de aislamientos del género *Trichinella*. Buenos Aires, Argentina. 117-122.
- Leslie, J. F. and Summerell B. A. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing. First edition. USA. 338 p.
- Link, H. F. 1809. Observationes in ordines plantarum naturalis, Dissetatio I. *Mag. Ges. Naturf. Freunde, Berlin* 3: 3-42.
- Malik, H. S. and Henikoff S. 2003. Phylogenomics of the nucleosome. *Nature Structural Biology*. 10: 882-891.
- Marín, P. 2010. Análisis de factores ecofisiológicos que influyen en la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de toxinas en especies de "Fusarium". Madrid. Tesis doctoral presentada para optar al grado de Doctora en Biología.
- Mishra, P. K., Fox R. T. V. and Culham A. 2003. Development of a PCRbased assay for rapid and reliable identification of pathogenic Fusaria. *FEMS Microbiology Letters*. 218: 329-32.
- Morales, I., Yañez M. de J., Silva H. V., García G. and Guzmán D. A. 2007. Biodiversity of Fusarium species in Mexico associated with ear rot in maize,

- and their identification using a phylogenetic approach. *Mycopathologia*. México. 163: 31-39.
- Mulé, G., Susca A., Stea G. and Moretti A. 2004. A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. subglutinans*. *European Journal of Plant Pathology*. 110: 495-502.
- Nei, M. and Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- O'Donnell, K., Kistler H. C., Cigelnik E. and Ploetz R. C. 1998a. 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. USA*. 95: 2044–2049
- Pérez, L. 2010. Identificación y taxonomía de *Fusarium*: conceptos morfológicos, biológicos y genéticos. Disponible en internet:
http://www.musalit.org/pdf/IN100100_es.pdf
- Reader, U. and Broda P. 1985. Rapid preparation of DNA for filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology*. 1: 17-20.
- Robles, J. C., Koreen L., Park S. and Perlin D. S. 2004. Multilocus sequence typing is a reliable alternative method to DNA fingerprinting for discriminating among strains of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*. 42 (6): 2480-2488.
- Rodríguez, R. y De León, C. 2008. El cultivo del maíz: temas selectos. Primera edición. Mundi Prensa México. 126p.

- Roger, A. J., Sandblom O., Doolittle W. F. and Philippe H. 1999. An Evaluation of Elongation Factor 1-Alpha as a Phylogenetic Marker for Eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution*. 16(2):218-233.
- Saitou, N. and Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4:406-425.
- Sanger, F., Nicklen S. and Chase A. R. 1977. DNA Sequencing with Chain Terminating Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 74(12): 5463 – 5468.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Anuario estadístico de la producción agrícola. Disponible en internet: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2006. Situación actual y perspectivas del maíz en México: 1996-2012. Disponible en internet: http://w4.siap.gob.mx/sispro/SP_AG/Maiz/PortalesFijos/Situacion/maiz96-12.pdf
- Snyder, W. C. and Hansen H. N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*. 27: 64-67.
- Tamura, K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., and Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28: 2731-2739.
- Tanksley, S.D. 1993. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics*. 27:205-233.

Valadez, E. y Kahl G. 2000. Huellas de ADN en genomas de plantas (Teoría y protocolos de laboratorio). Mundi-Prensa México S.A. México. 141 p.

Velluti, A. 2002. Ecofisiología de especies de *Fusarium* productoras de fumonisinas, zearalenona y deoxilivalenol en maíz: aceites esenciales como inhibidores fúngicos. Lleida. Tesis doctoral.

White, D. G. 2004. Plagas y enfermedades del maíz. Ed. Mundi-Prensa México S.A. American Phytopathological Society. USA. 78p.

Wollenweber, H. W. and Reinking O. A. 1935. Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. P. Parey, Berlin. 365 p.

ANEXOS

Tabla 1. Aislamientos de *Fusarium* obtenidos de maíz

Orden	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
1	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	551	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
2	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	552	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
3	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	553	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
4	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	554	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
5	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	555	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
6	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	556	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
7	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	557	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
8	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	558	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
9	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	559	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
10	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	560	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
11	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	561	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
12	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	562	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
13	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	563	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
14	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	564	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
15	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	565	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
16	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	566	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
17	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	567	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
18	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	568	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
19	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	569	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
20	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	570	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
21	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	571	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
22	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	572	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
23	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	573	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
24	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	574	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
25	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	575	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
26	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	576	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
27	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	577	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
28	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	578	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
29	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	579	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
30	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	580	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
31	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	581	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
32	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	582	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
33	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	583	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
34	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	584	CULIACÁN	Mazorca	2010-11
35	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	585	CULIACÁN	Mazorca	2010-11

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
586	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	622	CULIACÁN	Plántula	2010-11
587	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	623	CULIACÁN	Plántula	2010-11
588	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	624	CULIACÁN	Plántula	2010-11
589	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	625	CULIACÁN	Plántula	2010-11
590	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	626	CULIACÁN	Plántula	2010-11
591	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	627	CULIACÁN	Plántula	2010-11
592	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	628	CULIACÁN	Plántula	2010-11
593	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	629	CULIACÁN	Plántula	2010-11
594	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	630	CULIACÁN	Plántula	2010-11
595	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	631	CULIACÁN	Plántula	2010-11
596	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	632	CULIACÁN	Plántula	2010-11
597	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	633	CULIACÁN	Plántula	2010-11
598	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	634	CULIACÁN	Plántula	2010-11
599	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	635	CULIACÁN	Plántula	2010-11
600	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	636	CULIACÁN	Plántula	2010-11
601	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	637	CULIACÁN	Plántula	2010-11
602	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	638	CULIACÁN	Plántula	2010-11
603	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	639	CULIACÁN	Plántula	2010-11
604	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	640	CULIACÁN	Plántula	2010-11
605	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	641	CULIACÁN	Plántula	2010-11
606	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	642	CULIACÁN	Plántula	2010-11
607	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	643	CULIACÁN	Plántula	2010-11
608	CULIACÁN	Mazorca	2010-11	644	CULIACÁN	Plántula	2010-11
610	CULIACÁN	Plántula	2010-11	645	CULIACÁN	Plántula	2010-11
611	CULIACÁN	Plántula	2010-11	646	CULIACÁN	Plántula	2010-11
612	CULIACÁN	Plántula	2010-11	647	CULIACÁN	Plántula	2010-11
613	CULIACÁN	Plántula	2010-11	648	CULIACÁN	Plántula	2010-11
614	CULIACÁN	Plántula	2010-11	649	CULIACÁN	Plántula	2010-11
615	CULIACÁN	Plántula	2010-11	650	CULIACÁN	Plántula	2010-11
616	CULIACÁN	Plántula	2010-11	651	CULIACÁN	Plántula	2010-11
617	CULIACÁN	Plántula	2010-11	652	CULIACÁN	Plántula	2010-11
618	CULIACÁN	Plántula	2010-11	653	CULIACÁN	Plántula	2010-11
619	CULIACÁN	Plántula	2010-11	654	CULIACÁN	Plántula	2010-11
620	CULIACÁN	Plántula	2010-11	655	CULIACÁN	Plántula	2010-11
621	CULIACÁN	Plántula	2010-11	656	CULIACÁN	Plántula	2010-11

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
657	CULIACÁN	Plántula	2010-11	692	ELOTA	Plántula	2010-11
658	CULIACÁN	Plántula	2010-11	693	ELOTA	Plántula	2010-11
659	CULIACÁN	Plántula	2010-11	694	ELOTA	Plántula	2010-11
660	CULIACÁN	Plántula	2010-11	695	ELOTA	Plántula	2010-11
661	CULIACÁN	Plántula	2010-11	696	ELOTA	Plántula	2010-11
662	CULIACÁN	Plántula	2010-11	697	ELOTA	Plántula	2010-11
663	CULIACÁN	Plántula	2010-11	698	ELOTA	Plántula	2010-11
664	CULIACÁN	Plántula	2010-11	699	ELOTA	Plántula	2010-11
665	CULIACÁN	Plántula	2010-11	700	ELOTA	Plántula	2010-11
666	CULIACÁN	Plántula	2010-11	701	ELOTA	Plántula	2010-11
667	CULIACÁN	Plántula	2010-11	702	ELOTA	Plántula	2010-11
668	CULIACÁN	Plántula	2010-11	703	ELOTA	Plántula	2010-11
669	CULIACÁN	Plántula	2010-11	704	ELOTA	Plántula	2010-11
670	CULIACÁN	Plántula	2010-11	705	ELOTA	Plántula	2010-11
671	CULIACÁN	Plántula	2010-11	706	ELOTA	Plántula	2010-11
672	CULIACÁN	Plántula	2010-11	707	ELOTA	Plántula	2010-11
673	CULIACÁN	Plántula	2010-11	708	ELOTA	Plántula	2010-11
674	CULIACÁN	Plántula	2010-11	709	ELOTA	Plántula	2010-11
675	CULIACÁN	Plántula	2010-11	710	ELOTA	Plántula	2010-11
676	CULIACÁN	Plántula	2010-11	711	ELOTA	Plántula	2010-11
677	CULIACÁN	Plántula	2010-11	712	ELOTA	Plántula	2010-11
678	CULIACÁN	Plántula	2010-11	713	ELOTA	Plántula	2010-11
679	CULIACÁN	Plántula	2010-11	714	ELOTA	Plántula	2010-11
680	CULIACÁN	Plántula	2010-11	715	ELOTA	Plántula	2010-11
681	CULIACÁN	Plántula	2010-11	716	ELOTA	Plántula	2010-11
682	ELOTA	Plántula	2010-11	717	ELOTA	Plántula	2010-11
683	ELOTA	Plántula	2010-11	718	ELOTA	Plántula	2010-11
684	ELOTA	Plántula	2010-11	719	ELOTA	Plántula	2010-11
685	ELOTA	Plántula	2010-11	720	ELOTA	Plántula	2010-11
686	ELOTA	Plántula	2010-11	721	ELOTA	Plántula	2010-11
687	ELOTA	Plántula	2010-11	722	ELOTA	Plántula	2010-11
688	ELOTA	Plántula	2010-11	723	ELOTA	Plántula	2010-11
689	ELOTA	Plántula	2010-11	724	ELOTA	Plántula	2010-11
690	ELOTA	Plántula	2010-11	725	ELOTA	Plántula	2010-11
691	ELOTA	Plántula	2010-11	726	ELOTA	Plántula	2010-11

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
727	ELOTA	Plántula	2010-11	762	ELOTA	Plántula	2010-11
728	ELOTA	Plántula	2010-11	763	ELOTA	Plántula	2010-11
729	ELOTA	Plántula	2010-11	765	AHOME	Planta adulta	2010-11
730	ELOTA	Plántula	2010-11	766	AHOME	Planta adulta	2010-11
731	ELOTA	Plántula	2010-11	767	AHOME	Planta adulta	2010-11
732	ELOTA	Plántula	2010-11	768	AHOME	Planta adulta	2010-11
733	ELOTA	Plántula	2010-11	769	AHOME	Planta adulta	2010-11
734	ELOTA	Plántula	2010-11	770	AHOME	Planta adulta	2010-11
735	ELOTA	Plántula	2010-11	771	AHOME	Planta adulta	2010-11
736	ELOTA	Plántula	2010-11	772	AHOME	Planta adulta	2010-11
737	ELOTA	Plántula	2010-11	773	AHOME	Planta adulta	2010-11
738	ELOTA	Plántula	2010-11	774	AHOME	Planta adulta	2010-11
739	ELOTA	Plántula	2010-11	775	AHOME	Planta adulta	2010-11
740	ELOTA	Plántula	2010-11	776	AHOME	Planta adulta	2010-11
741	ELOTA	Plántula	2010-11	777	AHOME	Planta adulta	2010-11
742	ELOTA	Plántula	2010-11	778	AHOME	Planta adulta	2010-11
743	ELOTA	Plántula	2010-11	779	AHOME	Planta adulta	2010-11
744	ELOTA	Plántula	2010-11	780	AHOME	Planta adulta	2010-11
745	ELOTA	Plántula	2010-11	781	AHOME	Planta adulta	2010-11
746	ELOTA	Plántula	2010-11	782	AHOME	Planta adulta	2010-11
747	ELOTA	Plántula	2010-11	783	AHOME	Planta adulta	2010-11
748	ELOTA	Plántula	2010-11	784	AHOME	Planta adulta	2010-11
749	ELOTA	Plántula	2010-11	785	AHOME	Planta adulta	2010-11
750	ELOTA	Plántula	2010-11	786	AHOME	Planta adulta	2010-11
751	ELOTA	Plántula	2010-11	787	AHOME	Planta adulta	2010-11
752	ELOTA	Plántula	2010-11	788	AHOME	Planta adulta	2010-11
753	ELOTA	Plántula	2010-11	789	AHOME	Planta adulta	2010-11
754	ELOTA	Plántula	2010-11	790	AHOME	Planta adulta	2010-11
755	ELOTA	Plántula	2010-11	791	AHOME	Planta adulta	2010-11
756	ELOTA	Plántula	2010-11	792	AHOME	Planta adulta	2010-11
757	ELOTA	Plántula	2010-11	793	AHOME	Planta adulta	2010-11
758	ELOTA	Plántula	2010-11	794	AHOME	Planta adulta	2010-11
759	ELOTA	Plántula	2010-11	795	AHOME	Planta adulta	2010-11
760	ELOTA	Plántula	2010-11	796	AHOME	Planta adulta	2010-11
761	ELOTA	Plántula	2010-11	797	AHOME	Planta adulta	2010-11

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
798	AHOME	Planta adulta	2010-11	833	AHOME	Planta adulta	2010-11
799	AHOME	Planta adulta	2010-11	834	AHOME	Planta adulta	2010-11
800	AHOME	Planta adulta	2010-11	835	AHOME	Planta adulta	2010-11
801	AHOME	Planta adulta	2010-11	836	AHOME	Planta adulta	2010-11
802	AHOME	Planta adulta	2010-11	837	AHOME	Planta adulta	2010-11
803	AHOME	Planta adulta	2010-11	838	AHOME	Planta adulta	2010-11
804	AHOME	Planta adulta	2010-11	839	AHOME	Planta adulta	2010-11
805	AHOME	Planta adulta	2010-11	840	AHOME	Planta adulta	2010-11
806	AHOME	Planta adulta	2010-11	841	AHOME	Planta adulta	2010-11
807	AHOME	Planta adulta	2010-11	842	AHOME	Planta adulta	2010-11
808	AHOME	Planta adulta	2010-11	843	AHOME	Planta adulta	2010-11
809	AHOME	Planta adulta	2010-11	844	AHOME	Planta adulta	2010-11
810	AHOME	Planta adulta	2010-11	845	AHOME	Planta adulta	2010-11
811	AHOME	Planta adulta	2010-11	846	AHOME	Planta adulta	2010-11
812	AHOME	Planta adulta	2010-11	847	AHOME	Planta adulta	2010-11
813	AHOME	Planta adulta	2010-11	848	AHOME	Planta adulta	2010-11
814	AHOME	Planta adulta	2010-11	849	AHOME	Planta adulta	2010-11
815	AHOME	Planta adulta	2010-11	850	AHOME	Planta adulta	2010-11
816	AHOME	Planta adulta	2010-11	852	AHOME	Mazorca	2010-11
817	AHOME	Planta adulta	2010-11	853	AHOME	Mazorca	2010-11
818	AHOME	Planta adulta	2010-11	854	AHOME	Mazorca	2010-11
819	AHOME	Planta adulta	2010-11	855	AHOME	Mazorca	2010-11
820	AHOME	Planta adulta	2010-11	856	AHOME	Mazorca	2010-11
821	AHOME	Planta adulta	2010-11	857	AHOME	Mazorca	2010-11
822	AHOME	Planta adulta	2010-11	858	AHOME	Mazorca	2010-11
823	AHOME	Planta adulta	2010-11	859	AHOME	Mazorca	2010-11
824	AHOME	Planta adulta	2010-11	860	AHOME	Mazorca	2010-11
825	AHOME	Planta adulta	2010-11	861	AHOME	Mazorca	2010-11
826	AHOME	Planta adulta	2010-11	862	AHOME	Mazorca	2010-11
827	AHOME	Planta adulta	2010-11	863	AHOME	Mazorca	2010-11
828	AHOME	Planta adulta	2010-11	864	AHOME	Mazorca	2010-11
829	AHOME	Planta adulta	2010-11	865	AHOME	Mazorca	2010-11
830	AHOME	Planta adulta	2010-11	866	AHOME	Mazorca	2010-11
831	AHOME	Planta adulta	2010-11	867	AHOME	Mazorca	2010-11
832	AHOME	Planta adulta	2010-11	868	AHOME	Mazorca	2010-11

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
869	AHOME	Mazorca	2010-11	913	CULIACÁN	Plántula	2011-12
870	AHOME	Mazorca	2010-11	914	CULIACÁN	Plántula	2011-12
871	AHOME	Mazorca	2010-11	915	CULIACÁN	Plántula	2011-12
872	AHOME	Mazorca	2010-11	916	CULIACÁN	Plántula	2011-12
873	AHOME	Mazorca	2010-11	917	CULIACÁN	Plántula	2011-12
874	AHOME	Mazorca	2010-11	918	CULIACÁN	Plántula	2011-12
875	AHOME	Mazorca	2010-11	919	CULIACÁN	Plántula	2011-12
876	AHOME	Mazorca	2010-11	920	CULIACÁN	Plántula	2011-12
877	AHOME	Mazorca	2010-11	921	CULIACÁN	Plántula	2011-12
878	AHOME	Mazorca	2010-11	922	CULIACÁN	Plántula	2011-12
879	AHOME	Mazorca	2010-11	923	CULIACÁN	Plántula	2011-12
880	AHOME	Mazorca	2010-11	924	CULIACÁN	Plántula	2011-12
881	AHOME	Mazorca	2010-11	925	CULIACÁN	Plántula	2011-12
882	AHOME	Mazorca	2010-11	926	CULIACÁN	Plántula	2011-12
883	AHOME	Mazorca	2010-11	927	CULIACÁN	Plántula	2011-12
884	AHOME	Mazorca	2010-11	928	CULIACÁN	Plántula	2011-12
885	AHOME	Mazorca	2010-11	929	CULIACÁN	Plántula	2011-12
886	AHOME	Mazorca	2010-11	930	CULIACÁN	Plántula	2011-12
887	AHOME	Mazorca	2010-11	931	CULIACÁN	Plántula	2011-12
888	AHOME	Mazorca	2010-11	932	CULIACÁN	Plántula	2011-12
889	AHOME	Mazorca	2010-11	933	CULIACÁN	Plántula	2011-12
890	AHOME	Mazorca	2010-11	934	CULIACÁN	Plántula	2011-12
900	CULIACÁN	Plántula	2010-11	935	CULIACÁN	Plántula	2011-12
901	CULIACÁN	Plántula	2010-11	936	CULIACÁN	Plántula	2011-12
902	CULIACÁN	Plántula	2010-11	937	CULIACÁN	Plántula	2011-12
903	CULIACÁN	Plántula	2010-11	938	CULIACÁN	Plántula	2011-12
904	CULIACÁN	Plántula	2010-11	939	CULIACÁN	Plántula	2011-12
905	CULIACÁN	Plántula	2010-11	940	CULIACÁN	Plántula	2011-12
906	CULIACÁN	Plántula	2010-11	941	CULIACÁN	Plántula	2011-12
907	CULIACÁN	Plántula	2010-11	942	CULIACÁN	Plántula	2011-12
908	CULIACÁN	Plántula	2010-11	943	CULIACÁN	Plántula	2011-12
909	CULIACÁN	Plántula	2010-11	944	ELOTA	Plántula	2011-12
910	CULIACÁN	Plántula	2010-11	945	ELOTA	Plántula	2011-12
911	CULIACÁN	Plántula	2010-11	946	ELOTA	Plántula	2011-12
912	CULIACÁN	Plántula	2011-12	947	ELOTA	Plántula	2011-12

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
948	ELOTA	Plántula	2011-12	983	ELOTA	Plántula	2011-12
949	ELOTA	Plántula	2011-12	984	ELOTA	Plántula	2011-12
950	ELOTA	Plántula	2011-12	985	ELOTA	Plántula	2011-12
951	ELOTA	Plántula	2011-12	986	ELOTA	Plántula	2011-12
952	ELOTA	Plántula	2011-12	987	CULIACÁN	Plántula	2011-12
953	ELOTA	Plántula	2011-12	988	CULIACÁN	Plántula	2011-12
954	ELOTA	Plántula	2011-12	989	CULIACÁN	Plántula	2011-12
955	ELOTA	Plántula	2011-12	990	CULIACÁN	Plántula	2011-12
956	ELOTA	Plántula	2011-12	991	CULIACÁN	Plántula	2011-12
957	ELOTA	Plántula	2011-12	992	CULIACÁN	Plántula	2011-12
958	ELOTA	Plántula	2011-12	993	CULIACÁN	Plántula	2011-12
959	ELOTA	Plántula	2011-12	994	CULIACÁN	Plántula	2011-12
960	ELOTA	Plántula	2011-12	995	CULIACÁN	Plántula	2011-12
961	ELOTA	Plántula	2011-12	996	CULIACÁN	Plántula	2011-12
962	ELOTA	Plántula	2011-12	997	CULIACÁN	Plántula	2011-12
963	ELOTA	Plántula	2011-12	998	CULIACÁN	Plántula	2011-12
964	ELOTA	Plántula	2011-12	999	CULIACÁN	Plántula	2011-12
965	ELOTA	Plántula	2011-12	1000	CULIACÁN	Plántula	2011-12
966	ELOTA	Plántula	2011-12	1001	CULIACÁN	Plántula	2011-12
967	ELOTA	Plántula	2011-12	1002	CULIACÁN	Plántula	2011-12
968	ELOTA	Plántula	2011-12	1003	CULIACÁN	Plántula	2011-12
969	ELOTA	Plántula	2011-12	1004	CULIACÁN	Plántula	2011-12
970	ELOTA	Plántula	2011-12	1005	CULIACÁN	Plántula	2011-12
971	ELOTA	Plántula	2011-12	1006	CULIACÁN	Plántula	2011-12
972	ELOTA	Plántula	2011-12	1007	CULIACÁN	Plántula	2011-12
973	ELOTA	Plántula	2011-12	1008	CULIACÁN	Plántula	2011-12
974	ELOTA	Plántula	2011-12	1009	CULIACÁN	Plántula	2011-12
975	ELOTA	Plántula	2011-12	1010	CULIACÁN	Plántula	2011-12
976	ELOTA	Plántula	2011-12	1011	CULIACÁN	Plántula	2011-12
977	ELOTA	Plántula	2011-12	1012	CULIACÁN	Plántula	2011-12
978	ELOTA	Plántula	2011-12	1013	CULIACÁN	Plántula	2011-12
979	ELOTA	Plántula	2011-12	1014	CULIACÁN	Plántula	2011-12
980	ELOTA	Plántula	2011-12	1015	CULIACÁN	Plántula	2011-12
981	ELOTA	Plántula	2011-12	1016	CULIACÁN	Plántula	2011-12
982	ELOTA	Plántula	2011-12	1017	CULIACÁN	Plántula	2011-12

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
1018	CULIACÁN	Plántula	2011-12	1053	AHOME	Plántula	2011-12
1019	AHOME	Plántula	2011-12	1054	AHOME	Plántula	2011-12
1020	AHOME	Plántula	2011-12	1055	AHOME	Plántula	2011-12
1021	AHOME	Plántula	2011-12	1056	AHOME	Plántula	2011-12
1022	AHOME	Plántula	2011-12	1105	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1023	AHOME	Plántula	2011-12	1106	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1024	AHOME	Plántula	2011-12	1107	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1025	AHOME	Plántula	2011-12	1108	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1026	AHOME	Plántula	2011-12	1109	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1027	AHOME	Plántula	2011-12	1110	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1028	AHOME	Plántula	2011-12	1111	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1029	AHOME	Plántula	2011-12	1112	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1030	AHOME	Plántula	2011-12	1113	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1031	AHOME	Plántula	2011-12	1114	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1032	AHOME	Plántula	2011-12	1115	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1033	AHOME	Plántula	2011-12	1116	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1034	AHOME	Plántula	2011-12	1117	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1035	AHOME	Plántula	2011-12	1118	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1036	AHOME	Plántula	2011-12	1119	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1037	AHOME	Plántula	2011-12	1120	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1038	AHOME	Plántula	2011-12	1121	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1039	AHOME	Plántula	2011-12	1122	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1040	AHOME	Plántula	2011-12	1123	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1041	AHOME	Plántula	2011-12	1124	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1042	AHOME	Plántula	2011-12	1125	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1043	AHOME	Plántula	2011-12	1126	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1044	AHOME	Plántula	2011-12	1127	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1045	AHOME	Plántula	2011-12	1128	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1046	AHOME	Plántula	2011-12	1129	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1047	AHOME	Plántula	2011-12	1130	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1048	AHOME	Plántula	2011-12	1131	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1049	AHOME	Plántula	2011-12	1132	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1050	AHOME	Plántula	2011-12	1133	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1051	AHOME	Plántula	2011-12	1134	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1052	AHOME	Plántula	2011-12	1135	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
1136	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1171	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1137	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1172	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1138	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1173	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1139	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1174	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1140	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1175	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1141	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1176	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1142	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1177	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1143	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1178	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1144	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1179	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1145	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1180	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1146	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1181	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1147	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1182	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1148	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1183	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1149	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1184	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1150	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1185	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1151	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1186	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1152	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1187	ELOTA	Planta adulta	2011-12
1153	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1188	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1154	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1189	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1155	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1190	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1156	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1191	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1157	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1192	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1158	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1193	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1159	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1194	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1160	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1195	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1161	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1196	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1162	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1197	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1163	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1198	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1164	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1199	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1165	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1200	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1166	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1201	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1167	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1202	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1168	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1203	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1169	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1204	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12
1170	ELOTA	Planta adulta	2011-12	1205	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
1206	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1286	AHOME	Planta adulta	2011-12
1207	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1287	AHOME	Planta adulta	2011-12
1208	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1288	AHOME	Planta adulta	2011-12
1209	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1289	AHOME	Planta adulta	2011-12
1210	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1290	AHOME	Planta adulta	2011-12
1211	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1291	AHOME	Planta adulta	2011-12
1212	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1292	AHOME	Planta adulta	2011-12
1213	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1293	AHOME	Planta adulta	2011-12
1214	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1294	AHOME	Planta adulta	2011-12
1215	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1295	AHOME	Planta adulta	2011-12
1216	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1296	AHOME	Planta adulta	2011-12
1217	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1297	AHOME	Planta adulta	2011-12
1218	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1298	AHOME	Planta adulta	2011-12
1219	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1299	AHOME	Planta adulta	2011-12
1220	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1300	AHOME	Planta adulta	2011-12
1221	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1301	AHOME	Planta adulta	2011-12
1222	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1302	AHOME	Planta adulta	2011-12
1223	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1303	AHOME	Planta adulta	2011-12
1224	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1304	AHOME	Planta adulta	2011-12
1225	CULIACÁN	Planta adulta	2011-12	1305	AHOME	Planta adulta	2011-12
1271	AHOME	Planta adulta	2011-12	1306	AHOME	Planta adulta	2011-12
1272	AHOME	Planta adulta	2011-12	1307	AHOME	Planta adulta	2011-12
1273	AHOME	Planta adulta	2011-12	1308	AHOME	Planta adulta	2011-12
1274	AHOME	Planta adulta	2011-12	1309	AHOME	Planta adulta	2011-12
1275	AHOME	Planta adulta	2011-12	1310	AHOME	Planta adulta	2011-12
1276	AHOME	Planta adulta	2011-12	1311	AHOME	Planta adulta	2011-12
1277	AHOME	Planta adulta	2011-12	1312	AHOME	Planta adulta	2011-12
1278	AHOME	Planta adulta	2011-12	1313	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1279	AHOME	Planta adulta	2011-12	1314	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1280	AHOME	Planta adulta	2011-12	1315	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1281	AHOME	Planta adulta	2011-12	1316	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1282	AHOME	Planta adulta	2011-12	1317	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1283	AHOME	Planta adulta	2011-12	1318	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1284	AHOME	Planta adulta	2011-12	1319	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1285	AHOME	Planta adulta	2011-12	1320	CULIACÁN	Mazorca	2011-12

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
1321	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1356	ELOTA	Mazorca	2011-12
1322	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1357	ELOTA	Mazorca	2011-12
1323	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1358	ELOTA	Mazorca	2011-12
1324	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1359	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1325	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1360	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1326	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1361	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1327	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1362	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1328	CULIACÁN	Mazorca	2011-12	1363	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1329	ELOTA	Mazorca	2011-12	1364	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1330	ELOTA	Mazorca	2011-12	1365	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1331	ELOTA	Mazorca	2011-12	1366	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1332	ELOTA	Mazorca	2011-12	1367	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1333	ELOTA	Mazorca	2011-12	1368	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1334	ELOTA	Mazorca	2011-12	1369	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1335	ELOTA	Mazorca	2011-12	1370	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1336	ELOTA	Mazorca	2011-12	1371	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1337	ELOTA	Mazorca	2011-12	1372	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1338	ELOTA	Mazorca	2011-12	1373	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1339	ELOTA	Mazorca	2011-12	1374	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1340	ELOTA	Mazorca	2011-12	1375	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1341	ELOTA	Mazorca	2011-12	1376	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1342	ELOTA	Mazorca	2011-12	1377	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1343	ELOTA	Mazorca	2011-12	1378	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1344	ELOTA	Mazorca	2011-12	1379	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1345	ELOTA	Mazorca	2011-12	1380	CULIACÁN	Mazorca	2011-12
1346	ELOTA	Mazorca	2011-12	1400	AHOME	Mazorca	2011-12
1347	ELOTA	Mazorca	2011-12	1401	AHOME	Mazorca	2011-12
1348	ELOTA	Mazorca	2011-12	1402	AHOME	Mazorca	2011-12
1349	ELOTA	Mazorca	2011-12	1403	AHOME	Mazorca	2011-12
1350	ELOTA	Mazorca	2011-12	1404	AHOME	Mazorca	2011-12
1351	ELOTA	Mazorca	2011-12	1405	AHOME	Mazorca	2011-12
1352	ELOTA	Mazorca	2011-12	1406	AHOME	Mazorca	2011-12
1353	ELOTA	Mazorca	2011-12	1407	AHOME	Mazorca	2011-12
1354	ELOTA	Mazorca	2011-12	1408	AHOME	Mazorca	2011-12
1355	ELOTA	Mazorca	2011-12	1409	AHOME	Mazorca	2011-12

Continuación

Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo	Número	Municipio	Tipo de tejido	Ciclo
1410	AHOME	Mazorca	2011-12	1424	AHOME	Mazorca	2011-12
1411	AHOME	Mazorca	2011-12	1425	AHOME	Mazorca	2011-12
1412	AHOME	Mazorca	2011-12	1426	AHOME	Mazorca	2011-12
1413	AHOME	Mazorca	2011-12	1427	AHOME	Mazorca	2011-12
1414	AHOME	Mazorca	2011-12	1428	AHOME	Mazorca	2011-12
1415	AHOME	Mazorca	2011-12	1429	AHOME	Mazorca	2011-12
1416	AHOME	Mazorca	2011-12	1430	AHOME	Mazorca	2011-12
1417	AHOME	Mazorca	2011-12	1431	AHOME	Mazorca	2011-12
1418	AHOME	Mazorca	2011-12	1432	AHOME	Mazorca	2011-12
1419	AHOME	Mazorca	2011-12	1433	AHOME	Mazorca	2011-12
1420	AHOME	Mazorca	2011-12	1434	AHOME	Mazorca	2011-12
1421	AHOME	Mazorca	2011-12	1435	AHOME	Mazorca	2011-12
1422	AHOME	Mazorca	2011-12	1436	AHOME	Mazorca	2011-12
1423	AHOME	Mazorca	2011-12				

Anexo 2. Coordenadas geográficas de lotes muestreados

Lote	Coordenadas	Municipio
Lote 1	N 24 28 19.40 W 107 23 31.46	Culiacán
Lote 2	N 24 26 33.19 W 107 22 47.99	Culiacán
Lote 3	N 24 28 29.41 W 107 23 29.40	Culiacán
Lote 4	N 24 38 28.21 W 107 26 42.22	Culiacán
Lote 5	N 24 24 38.26 W107.21 42.55	Culiacán
Lote 6	N 24 26 59.85 W107.22 54.56	Culiacán
Lote 7	N 24 27 44.94 W107.23 21.55	Culiacán
Lote 8	N 24 21 34.40 W107 19 19.54	Culiacán
Lote 9	N 24 25 08.63 W 107 19 18.97	Culiacán
Lote 10	N 24 23 50.58 W 107 22 03.73	Culiacán
Lote 11	N 24 25 09.30 W 107 19 02.93	Culiacán
Lote 12	N 24 21 27.58 W 107 22 10.42	Culiacán
Lote 13	N 24 20 53.76 W 107 22 12.70	Culiacán
Lote 14	N24 20.741 W107 20.036	Culiacán
Lote 15	N 24 29 53.90 W 107 25 14.10	Culiacán
Lote 16	N 24 27 56.71 W 107 23 08.84	Elota
Lote 17	N23 56.647 W 106 55.619	Elota
Lote 18	N23 56.950 W 106 55.825	Elota
Lote 19	N23 57.835 W 106 56.435	Elota
Lote 20	N23 58.618 W 106 57.014	Elota
Lote 21	N23 59.772 W 106 57.826	Elota
Lote 22	N24 00.495 W 106 58.345	Elota
Lote 23	N24 01.710 W 106 58.066	Elota
Lote 24	N24 01.991 W 106 57.086	Elota
Lote 25	N23 54.701 W 106 55.570	Elota
Lote 26	N23 53.702 W 106 55.125	Elota
Lote 27	N 25°48'16" W 108° 54'38"	Ahome
Lote 28	N 25°49'20" W 108° 53'52"	Ahome
Lote 29	N 25°52'47" W 108° 52'26"	Ahome
Lote 30	N 25°53'22" W 108° 51'45"	Ahome
Lote 31	N 26°03'23" W 108° 47'19"	Ahome
Lote 32	N 25°50'32" W 109° 00'52"	Ahome
Lote 33	N 25°50'32" W 109° 02'53"	Ahome
Lote 34	N 25°49'13" W 109° 00'59"	Ahome
Lote 35	N 25°49'30" W 109° 02'15"	Ahome
Lote 36	N 25°50'04" W 109° 03'13"	Ahome

anexo 3. Total de especies aisladas

Especies de <i>Fusarium</i>	No. de aislados
<i>Fusarium oxysporum</i>	536
<i>Fusarium verticillioides</i>	198
<i>Fusarium incarnatum</i>	7
<i>Fusarium subglutinans</i>	3
<i>Fusarium nygamai</i>	2
<i>Fusarium andiyazi</i>	1
<i>Fusarium equiseti</i>	1

Anexo 4. Aislados identificados mediante PCR especie-específica

Número	PCR	Número	PCR	Número	PCR
517	<i>F. verticillioides</i>	553	<i>F. verticillioides</i>	588	<i>F. verticillioides</i>
518	<i>F. verticillioides</i>	554	<i>F. verticillioides</i>	589	<i>F. verticillioides</i>
519	<i>F. verticillioides</i>	555	<i>F. verticillioides</i>	590	<i>F. verticillioides</i>
520	<i>F. verticillioides</i>	556	<i>F. verticillioides</i>	591	<i>F. verticillioides</i>
521	<i>F. verticillioides</i>	557	<i>F. verticillioides</i>	592	<i>F. verticillioides</i>
522	<i>F. verticillioides</i>	558	<i>F. verticillioides</i>	593	<i>F. verticillioides</i>
523	<i>F. oxysporum</i>	559	<i>F. verticillioides</i>	594	<i>F. verticillioides</i>
524	<i>F. verticillioides</i>	560	<i>F. verticillioides</i>	595	<i>F. verticillioides</i>
525	<i>F. verticillioides</i>	561	<i>F. verticillioides</i>	596	<i>F. verticillioides</i>
526	<i>F. verticillioides</i>	562	<i>F. verticillioides</i>	597	<i>F. verticillioides</i>
527	<i>F. verticillioides</i>	563	<i>F. verticillioides</i>	598	<i>F. verticillioides</i>
528	<i>F. verticillioides</i>	564	<i>F. verticillioides</i>	599	<i>F. oxysporum</i>
529	<i>F. verticillioides</i>	565	<i>F. oxysporum</i>	600	<i>F. verticillioides</i>
530	<i>F. verticillioides</i>	566	<i>F. verticillioides</i>	601	<i>F. verticillioides</i>
532	<i>F. verticillioides</i>	567	<i>F. verticillioides</i>	602	<i>F. verticillioides</i>
533	<i>F. verticillioides</i>	568	<i>F. verticillioides</i>	603	<i>F. verticillioides</i>
534	<i>F. verticillioides</i>	569	<i>F. verticillioides</i>	604	<i>F. verticillioides</i>
535	<i>F. verticillioides</i>	570	<i>F. verticillioides</i>	606	<i>F. verticillioides</i>
536	<i>F. verticillioides</i>	571	<i>F. verticillioides</i>	607	<i>F. verticillioides</i>
537	<i>F. verticillioides</i>	572	<i>F. verticillioides</i>	608	<i>F. verticillioides</i>
538	<i>F. verticillioides</i>	573	<i>F. verticillioides</i>	610	<i>F. verticillioides</i>
539	<i>F. verticillioides</i>	574	<i>F. verticillioides</i>	611	<i>F. oxysporum</i>
540	<i>F. verticillioides</i>	575	<i>F. oxysporum</i>	612	<i>F. oxysporum</i>
541	<i>F. oxysporum</i>	576	<i>F. verticillioides</i>	614	<i>F. oxysporum</i>
542	<i>F. verticillioides</i>	577	<i>F. verticillioides</i>	615	<i>F. oxysporum</i>
543	<i>F. verticillioides</i>	578	<i>F. verticillioides</i>	616	<i>F. oxysporum</i>
544	<i>F. verticillioides</i>	579	<i>F. verticillioides</i>	617	<i>F. oxysporum</i>
545	<i>F. verticillioides</i>	580	<i>F. verticillioides</i>	618	<i>F. oxysporum</i>
546	<i>F. verticillioides</i>	581	<i>F. verticillioides</i>	619	<i>F. oxysporum</i>
547	<i>F. verticillioides</i>	582	<i>F. verticillioides</i>	620	<i>F. oxysporum</i>
548	<i>F. verticillioides</i>	583	<i>F. verticillioides</i>	621	<i>F. oxysporum</i>
549	<i>F. verticillioides</i>	584	<i>F. verticillioides</i>	622	<i>F. verticillioides</i>
550	<i>F. verticillioides</i>	585	<i>F. verticillioides</i>	625	<i>F. oxysporum</i>
551	<i>F. verticillioides</i>	586	<i>F. verticillioides</i>	626	<i>F. oxysporum</i>
552	<i>F. verticillioides</i>	587	<i>F. verticillioides</i>	627	<i>F. verticillioides</i>

Continuación

Número	PCR	Número	PCR	Número	PCR
628	<i>F. oxysporum</i>	663	<i>F. verticillioides</i>	702	<i>F. oxysporum</i>
629	<i>F. oxysporum</i>	664	<i>F. oxysporum</i>	703	<i>F. oxysporum</i>
630	<i>F. verticillioides</i>	665	<i>F. oxysporum</i>	705	<i>F. verticillioides</i>
631	<i>F. oxysporum</i>	666	<i>F. oxysporum</i>	707	<i>F. oxysporum</i>
632	<i>F. oxysporum</i>	667	<i>F. oxysporum</i>	708	<i>F. oxysporum</i>
633	<i>F. oxysporum</i>	668	<i>F. oxysporum</i>	709	<i>F. oxysporum</i>
634	<i>F. oxysporum</i>	669	<i>F. oxysporum</i>	710	<i>F. oxysporum</i>
635	<i>F. verticillioides</i>	670	<i>F. verticillioides</i>	711	<i>F. verticillioides</i>
636	<i>F. verticillioides</i>	671	<i>F. oxysporum</i>	712	<i>F. oxysporum</i>
637	<i>F. oxysporum</i>	672	<i>F. oxysporum</i>	713	<i>F. oxysporum</i>
638	<i>F. verticillioides</i>	673	<i>F. oxysporum</i>	714	<i>F. oxysporum</i>
639	<i>F. oxysporum</i>	674	<i>F. oxysporum</i>	715	<i>F. oxysporum</i>
640	<i>F. oxysporum</i>	675	<i>F. oxysporum</i>	716	<i>F. oxysporum</i>
641	<i>F. oxysporum</i>	676	<i>F. verticillioides</i>	717	<i>F. oxysporum</i>
642	<i>F. oxysporum</i>	677	<i>F. verticillioides</i>	718	<i>F. oxysporum</i>
643	<i>F. oxysporum</i>	679	<i>F. oxysporum</i>	719	<i>F. oxysporum</i>
644	<i>F. oxysporum</i>	682	<i>F. oxysporum</i>	720	<i>F. oxysporum</i>
645	<i>F. oxysporum</i>	683	<i>F. oxysporum</i>	721	<i>F. oxysporum</i>
646	<i>F. verticillioides</i>	684	<i>F. oxysporum</i>	722	<i>F. verticillioides</i>
647	<i>F. oxysporum</i>	685	<i>F. oxysporum</i>	723	<i>F. oxysporum</i>
648	<i>F. oxysporum</i>	686	<i>F. oxysporum</i>	724	<i>F. oxysporum</i>
649	<i>F. verticillioides</i>	687	<i>F. verticillioides</i>	725	<i>F. oxysporum</i>
650	<i>F. oxysporum</i>	688	<i>F.oxysporum</i>	726	<i>F. oxysporum</i>
651	<i>F. oxysporum</i>	689	<i>F.oxysporum</i>	727	<i>F. oxysporum</i>
652	<i>F. verticillioides</i>	690	<i>F.oxysporum</i>	728	<i>F. oxysporum</i>
653	<i>F. oxysporum</i>	691	<i>F.oxysporum</i>	729	<i>F. oxysporum</i>
654	<i>F. oxysporum</i>	692	<i>F.oxysporum</i>	730	<i>F. oxysporum</i>
655	<i>F. verticillioides</i>	693	<i>F.oxysporum</i>	732	<i>F. oxysporum</i>
656	<i>F. oxysporum</i>	694	<i>F. verticillioides</i>	733	<i>F. oxysporum</i>
657	<i>F. oxysporum</i>	695	<i>F. oxysporum</i>	734	<i>F. oxysporum</i>
658	<i>F. oxysporum</i>	696	<i>F. oxysporum</i>	735	<i>F. oxysporum</i>
659	<i>F. oxysporum</i>	697	<i>F. oxysporum</i>	736	<i>F. oxysporum</i>
660	<i>F. oxysporum</i>	698	<i>F. oxysporum</i>	737	<i>F. verticillioides</i>
661	<i>F. oxysporum</i>	700	<i>F. oxysporum</i>	738	<i>F. verticillioides</i>
662	<i>F. oxysporum</i>	701	<i>F. oxysporum</i>	739	<i>F. oxysporum</i>

Continuación

Número	PCR	Número	PCR	Número	PCR
740	<i>F. oxysporum</i>	776	<i>F. oxysporum</i>	813	<i>F. oxysporum</i>
741	<i>F. oxysporum</i>	778	<i>F. oxysporum</i>	814	<i>F. oxysporum</i>
742	<i>F. oxysporum</i>	779	<i>F. verticillioides</i>	815	<i>F. oxysporum</i>
743	<i>F. oxysporum</i>	780	<i>F. oxysporum</i>	816	<i>F. oxysporum</i>
744	<i>F. oxysporum</i>	781	<i>F. oxysporum</i>	817	<i>F. oxysporum</i>
745	<i>F. oxysporum</i>	782	<i>F. oxysporum</i>	818	<i>F. oxysporum</i>
746	<i>F. oxysporum</i>	783	<i>F. oxysporum</i>	819	<i>F. oxysporum</i>
747	<i>F. oxysporum</i>	784	<i>F. oxysporum</i>	820	<i>F. oxysporum</i>
748	<i>F. oxysporum</i>	785	<i>F. oxysporum</i>	821	<i>F. oxysporum</i>
749	<i>F. oxysporum</i>	786	<i>F. verticillioides</i>	822	<i>F. oxysporum</i>
750	<i>F. oxysporum</i>	787	<i>F. oxysporum</i>	823	<i>F. oxysporum</i>
751	<i>F. oxysporum</i>	788	<i>F. oxysporum</i>	824	<i>F. oxysporum</i>
752	<i>F. oxysporum</i>	789	<i>F. oxysporum</i>	825	<i>F. oxysporum</i>
753	<i>F. oxysporum</i>	790	<i>F. oxysporum</i>	826	<i>F. oxysporum</i>
754	<i>F. oxysporum</i>	791	<i>F. oxysporum</i>	827	<i>F. oxysporum</i>
755	<i>F. oxysporum</i>	792	<i>F. oxysporum</i>	828	<i>F. verticillioides</i>
756	<i>F. oxysporum</i>	793	<i>F. oxysporum</i>	829	<i>F. oxysporum</i>
757	<i>F. oxysporum</i>	794	<i>F. oxysporum</i>	830	<i>F. verticillioides</i>
758	<i>F. oxysporum</i>	795	<i>F. oxysporum</i>	833	<i>F. oxysporum</i>
759	<i>F. oxysporum</i>	796	<i>F. verticillioides</i>	834	<i>F. oxysporum</i>
760	<i>F. oxysporum</i>	797	<i>F. oxysporum</i>	835	<i>F. oxysporum</i>
761	<i>F. oxysporum</i>	798	<i>F. oxysporum</i>	836	<i>F. oxysporum</i>
762	<i>F. oxysporum</i>	799	<i>F. oxysporum</i>	837	<i>F. verticillioides</i>
763	<i>F. oxysporum</i>	800	<i>F. oxysporum</i>	838	<i>F. verticillioides</i>
765	<i>F. oxysporum</i>	801	<i>F. oxysporum</i>	839	<i>F. verticillioides</i>
766	<i>F. oxysporum</i>	802	<i>F. oxysporum</i>	842	<i>F. oxysporum</i>
767	<i>F. oxysporum</i>	803	<i>F. verticillioides</i>	843	<i>F. subglutinans</i>
768	<i>F. verticillioides</i>	804	<i>F. oxysporum</i>	845	<i>F. verticillioides</i>
769	<i>F. verticillioides</i>	805	<i>F. oxysporum</i>	846	<i>F. oxysporum</i>
770	<i>F. oxysporum</i>	806	<i>F. verticillioides</i>	847	<i>F. verticillioides</i>
771	<i>F. subglutinans</i>	807	<i>F. verticillioides</i>	848	<i>F. verticillioides</i>
772	<i>F. verticillioides</i>	808	<i>F. verticillioides</i>	849	<i>F. verticillioides</i>
773	<i>F. verticillioides</i>	810	<i>F. oxysporum</i>	850	<i>F. oxysporum</i>
774	<i>F. verticillioides</i>	811	<i>F. oxysporum</i>	852	<i>F. oxysporum</i>
775	<i>F. oxysporum</i>	812	<i>F. oxysporum</i>	853	<i>F. oxysporum</i>

Continuación

Número	PCR	Número	PCR	Número	PCR
854	<i>F. oxysporum</i>	889	<i>F. oxysporum</i>	934	<i>F. oxysporum</i>
855	<i>F. oxysporum</i>	890	<i>F. oxysporum</i>	935	<i>F. oxysporum</i>
856	<i>F. oxysporum</i>	900	<i>F. oxysporum</i>	936	<i>F. oxysporum</i>
857	<i>F. oxysporum</i>	901	<i>F. verticillioides</i>	937	<i>F. oxysporum</i>
858	<i>F. oxysporum</i>	902	<i>F. oxysporum</i>	938	<i>F. oxysporum</i>
859	<i>F. oxysporum</i>	903	<i>F. oxysporum</i>	939	<i>F. oxysporum</i>
860	<i>F. oxysporum</i>	904	<i>F. verticillioides</i>	940	<i>F. oxysporum</i>
861	<i>F. oxysporum</i>	905	<i>F. verticillioides</i>	941	<i>F. oxysporum</i>
862	<i>F. oxysporum</i>	906	<i>F. verticillioides</i>	943	<i>F. verticillioides</i>
863	<i>F. oxysporum</i>	907	<i>F. oxysporum</i>	944	<i>F. oxysporum</i>
864	<i>F. oxysporum</i>	908	<i>F. verticillioides</i>	945	<i>F. oxysporum</i>
865	<i>F. oxysporum</i>	909	<i>F. verticillioides</i>	946	<i>F. verticillioides</i>
866	<i>F. oxysporum</i>	910	<i>F. oxysporum</i>	947	<i>F. oxysporum</i>
867	<i>F. oxysporum</i>	911	<i>F. verticillioides</i>	948	<i>F. oxysporum</i>
868	<i>F. oxysporum</i>	912	<i>F. oxysporum</i>	949	<i>F. oxysporum</i>
869	<i>F. oxysporum</i>	913	<i>F. oxysporum</i>	950	<i>F. oxysporum</i>
870	<i>F. oxysporum</i>	914	<i>F. oxysporum</i>	951	<i>F. oxysporum</i>
871	<i>F. oxysporum</i>	915	<i>F. verticillioides</i>	952	<i>F. verticillioides</i>
872	<i>F. oxysporum</i>	917	<i>F. oxysporum</i>	953	<i>F. oxysporum</i>
873	<i>F. oxysporum</i>	918	<i>F. verticillioides</i>	954	<i>F. oxysporum</i>
874	<i>F. oxysporum</i>	919	<i>F. verticillioides</i>	955	<i>F. oxysporum</i>
875	<i>F. oxysporum</i>	920	<i>F. oxysporum</i>	956	<i>F. oxysporum</i>
876	<i>F. oxysporum</i>	921	<i>F. oxysporum</i>	957	<i>F. oxysporum</i>
877	<i>F. oxysporum</i>	922	<i>F. verticillioides</i>	958	<i>F. oxysporum</i>
878	<i>F. verticillioides</i>	923	<i>F. verticillioides</i>	959	<i>F. oxysporum</i>
879	<i>F. oxysporum</i>	924	<i>F. verticillioides</i>	960	<i>F. oxysporum</i>
880	<i>F. oxysporum</i>	925	<i>F. oxysporum</i>	961	<i>F. oxysporum</i>
881	<i>F. oxysporum</i>	926	<i>F. oxysporum</i>	962	<i>F. oxysporum</i>
882	<i>F. verticillioides</i>	927	<i>F. oxysporum</i>	963	<i>F. oxysporum</i>
883	<i>F. oxysporum</i>	928	<i>F. oxysporum</i>	964	<i>F. verticillioides</i>
884	<i>F. oxysporum</i>	929	<i>F. oxysporum</i>	965	<i>F. oxysporum</i>
885	<i>F. oxysporum</i>	930	<i>F. oxysporum</i>	966	<i>F. oxysporum</i>
886	<i>F. oxysporum</i>	931	<i>F. oxysporum</i>	967	<i>F. oxysporum</i>
887	<i>F. oxysporum</i>	932	<i>F. oxysporum</i>	968	<i>F. oxysporum</i>
888	<i>F. oxysporum</i>	933	<i>F. oxysporum</i>	969	<i>F. oxysporum</i>

Continuación

Número	PCR	Número	PCR	Número	PCR
970	<i>F. oxysporum</i>	1008	<i>F. verticillioides</i>	1048	<i>F. verticillioides</i>
971	<i>F. oxysporum</i>	1009	<i>F. oxysporum</i>	1050	<i>F. verticillioides</i>
972	<i>F. oxysporum</i>	1010	<i>F. oxysporum</i>	1051	<i>F. verticillioides</i>
973	<i>F. oxysporum</i>	1011	<i>F. oxysporum</i>	1052	<i>F. oxysporum</i>
975	<i>F. verticillioides</i>	1012	<i>F. oxysporum</i>	1053	<i>F. oxysporum</i>
976	<i>F. oxysporum</i>	1013	<i>F. oxysporum</i>	1055	<i>F. oxysporum</i>
977	<i>F. oxysporum</i>	1014	<i>F. oxysporum</i>	1056	<i>F. oxysporum</i>
978	<i>F. oxysporum</i>	1015	<i>F. oxysporum</i>	1105	<i>F. oxysporum</i>
979	<i>F. verticillioides</i>	1016	<i>F. oxysporum</i>	1106	<i>F. verticillioides</i>
980	<i>F. oxysporum</i>	1017	<i>F. oxysporum</i>	1107	<i>F. verticillioides</i>
981	<i>F. verticillioides</i>	1018	<i>F. oxysporum</i>	1108	<i>F. oxysporum</i>
982	<i>F. oxysporum</i>	1021	<i>F. verticillioides</i>	1109	<i>F. oxysporum</i>
983	<i>F. oxysporum</i>	1022	<i>F. verticillioides</i>	1110	<i>F. verticillioides</i>
984	<i>F. verticillioides</i>	1023	<i>F. oxysporum</i>	1111	<i>F. oxysporum</i>
985	<i>F. verticillioides</i>	1024	<i>F. verticillioides</i>	1112	<i>F. oxysporum</i>
986	<i>F. verticillioides</i>	1025	<i>F. verticillioides</i>	1113	<i>F. oxysporum</i>
987	<i>F. oxysporum</i>	1026	<i>F. oxysporum</i>	1115	<i>F. oxysporum</i>
988	<i>F. oxysporum</i>	1027	<i>F. oxysporum</i>	1116	<i>F. oxysporum</i>
989	<i>F. oxysporum</i>	1029	<i>F. verticillioides</i>	1117	<i>F. oxysporum</i>
990	<i>F. oxysporum</i>	1030	<i>F. oxysporum</i>	1118	<i>F. oxysporum</i>
991	<i>F. oxysporum</i>	1032	<i>F. oxysporum</i>	1119	<i>F. oxysporum</i>
992	<i>F. oxysporum</i>	1033	<i>F. verticillioides</i>	1120	<i>F. oxysporum</i>
993	<i>F. oxysporum</i>	1034	<i>F. oxysporum</i>	1121	<i>F. oxysporum</i>
996	<i>F. oxysporum</i>	1035	<i>F. oxysporum</i>	1122	<i>F. oxysporum</i>
997	<i>F. oxysporum</i>	1036	<i>F. oxysporum</i>	1123	<i>F. oxysporum</i>
998	<i>F. oxysporum</i>	1038	<i>F. oxysporum</i>	1124	<i>F. oxysporum</i>
999	<i>F. oxysporum</i>	1039	<i>F. oxysporum</i>	1125	<i>F. oxysporum</i>
1000	<i>F. oxysporum</i>	1040	<i>F. oxysporum</i>	1126	<i>F. oxysporum</i>
1001	<i>F. verticillioides</i>	1041	<i>F. oxysporum</i>	1127	<i>F. oxysporum</i>
1002	<i>F. oxysporum</i>	1042	<i>F. verticillioides</i>	1128	<i>F. oxysporum</i>
1003	<i>F. oxysporum</i>	1043	<i>F. oxysporum</i>	1129	<i>F. oxysporum</i>
1004	<i>F. oxysporum</i>	1044	<i>F. verticillioides</i>	1130	<i>F. verticillioides</i>
1005	<i>F. oxysporum</i>	1045	<i>F. verticillioides</i>	1131	<i>F. oxysporum</i>
1006	<i>F. oxysporum</i>	1046	<i>F. verticillioides</i>	1132	<i>F. oxysporum</i>
1007	<i>F. oxysporum</i>	1047	<i>F. oxysporum</i>	1134	<i>F. oxysporum</i>

Continuación

Número	PCR	Número	PCR	Número	PCR
1135	<i>F. oxysporum</i>	1183	<i>F. oxysporum</i>	1223	<i>F. oxysporum</i>
1136	<i>F. oxysporum</i>	1184	<i>F. oxysporum</i>	1224	<i>F. verticillioides</i>
1137	<i>F. oxysporum</i>	1186	<i>F. oxysporum</i>	1271	<i>F. oxysporum</i>
1138	<i>F. oxysporum</i>	1187	<i>F. verticillioides</i>	1272	<i>F. oxysporum</i>
1139	<i>F. oxysporum</i>	1188	<i>F. oxysporum</i>	1273	<i>F. oxysporum</i>
1140	<i>F. oxysporum</i>	1189	<i>F. oxysporum</i>	1274	<i>F. oxysporum</i>
1141	<i>F. oxysporum</i>	1190	<i>F. verticillioides</i>	1275	<i>F. oxysporum</i>
1142	<i>F. oxysporum</i>	1191	<i>F. oxysporum</i>	1276	<i>F. oxysporum</i>
1143	<i>F. oxysporum</i>	1192	<i>F. oxysporum</i>	1277	<i>F. oxysporum</i>
1144	<i>F. oxysporum</i>	1194	<i>F. verticillioides</i>	1278	<i>F. oxysporum</i>
1146	<i>F. oxysporum</i>	1195	<i>F. verticillioides</i>	1279	<i>F. oxysporum</i>
1147	<i>F. oxysporum</i>	1196	<i>F. verticillioides</i>	1280	<i>F. oxysporum</i>
1149	<i>F. oxysporum</i>	1197	<i>F. oxysporum</i>	1281	<i>F. oxysporum</i>
1150	<i>F. oxysporum</i>	1198	<i>F. oxysporum</i>	1282	<i>F. oxysporum</i>
1151	<i>F. oxysporum</i>	1199	<i>F. oxysporum</i>	1283	<i>F. oxysporum</i>
1152	<i>F. oxysporum</i>	1200	<i>F. oxysporum</i>	1284	<i>F. verticillioides</i>
1153	<i>F. oxysporum</i>	1201	<i>F. oxysporum</i>	1285	<i>F. oxysporum</i>
1154	<i>F. oxysporum</i>	1202	<i>F. oxysporum</i>	1287	<i>F. oxysporum</i>
1155	<i>F. oxysporum</i>	1203	<i>F. oxysporum</i>	1288	<i>F. oxysporum</i>
1156	<i>F. oxysporum</i>	1204	<i>F. oxysporum</i>	1290	<i>F. oxysporum</i>
1158	<i>F. oxysporum</i>	1206	<i>F. oxysporum</i>	1291	<i>F. oxysporum</i>
1159	<i>F. oxysporum</i>	1207	<i>F. oxysporum</i>	1292	<i>F. verticillioides</i>
1160	<i>F. oxysporum</i>	1208	<i>F. oxysporum</i>	1293	<i>F. verticillioides</i>
1161	<i>F. oxysporum</i>	1209	<i>F. oxysporum</i>	1294	<i>F. oxysporum</i>
1162	<i>F. oxysporum</i>	1211	<i>F. oxysporum</i>	1295	<i>F. oxysporum</i>
1165	<i>F. oxysporum</i>	1212	<i>F. verticillioides</i>	1296	<i>F. verticillioides</i>
1167	<i>F. verticillioides</i>	1213	<i>F. verticillioides</i>	1297	<i>F. verticillioides</i>
1169	<i>F. oxysporum</i>	1214	<i>F. verticillioides</i>	1298	<i>F. oxysporum</i>
1170	<i>F. oxysporum</i>	1215	<i>F. verticillioides</i>	1299	<i>F. oxysporum</i>
1174	<i>F. oxysporum</i>	1216	<i>F. subglutinans</i>	1300	<i>F. verticillioides</i>
1175	<i>F. oxysporum</i>	1217	<i>F. verticillioides</i>	1301	<i>F. oxysporum</i>
1176	<i>F. oxysporum</i>	1218	<i>F. verticillioides</i>	1303	<i>F. oxysporum</i>
1179	<i>F. oxysporum</i>	1219	<i>F. oxysporum</i>	1305	<i>F. oxysporum</i>
1180	<i>F. oxysporum</i>	1220	<i>F. verticillioides</i>	1306	<i>F. oxysporum</i>
1182	<i>F. oxysporum</i>	1221	<i>F. oxysporum</i>	1307	<i>F. oxysporum</i>

Continuación

Número	PCR	Número	PCR	Número	PCR
1308	<i>F. oxysporum</i>	1345	<i>F. verticillioides</i>	1401	<i>F. oxysporum</i>
1309	<i>F. oxysporum</i>	1346	<i>F. oxysporum</i>	1402	<i>F. oxysporum</i>
1310	<i>F. oxysporum</i>	1348	<i>F. verticillioides</i>	1404	<i>F. oxysporum</i>
1311	<i>F. oxysporum</i>	1349	<i>F. verticillioides</i>	1405	<i>F. oxysporum</i>
1312	<i>F. oxysporum</i>	1350	<i>F. oxysporum</i>	1406	<i>F. oxysporum</i>
1313	<i>F. oxysporum</i>	1351	<i>F. oxysporum</i>	1407	<i>F. oxysporum</i>
1314	<i>F. oxysporum</i>	1352	<i>F. oxysporum</i>	1408	<i>F. oxysporum</i>
1315	<i>F. oxysporum</i>	1353	<i>F. oxysporum</i>	1409	<i>F. oxysporum</i>
1316	<i>F. oxysporum</i>	1354	<i>F. oxysporum</i>	1410	<i>F. oxysporum</i>
1317	<i>F. oxysporum</i>	1355	<i>F. oxysporum</i>	1411	<i>F. oxysporum</i>
1318	<i>F. oxysporum</i>	1356	<i>F. oxysporum</i>	1412	<i>F. oxysporum</i>
1319	<i>F. oxysporum</i>	1357	<i>F. oxysporum</i>	1413	<i>F. oxysporum</i>
1320	<i>F. oxysporum</i>	1358	<i>F. oxysporum</i>	1414	<i>F. oxysporum</i>
1321	<i>F. oxysporum</i>	1359	<i>F. oxysporum</i>	1415	<i>F. oxysporum</i>
1322	<i>F. oxysporum</i>	1360	<i>F. oxysporum</i>	1416	<i>F. oxysporum</i>
1323	<i>F. oxysporum</i>	1361	<i>F. oxysporum</i>	1417	<i>F. oxysporum</i>
1324	<i>F. oxysporum</i>	1362	<i>F. oxysporum</i>	1418	<i>F. oxysporum</i>
1325	<i>F. oxysporum</i>	1363	<i>F. oxysporum</i>	1419	<i>F. oxysporum</i>
1326	<i>F. oxysporum</i>	1364	<i>F. oxysporum</i>	1420	<i>F. oxysporum</i>
1327	<i>F. oxysporum</i>	1365	<i>F. oxysporum</i>	1421	<i>F. oxysporum</i>
1328	<i>F. oxysporum</i>	1366	<i>F. oxysporum</i>	1422	<i>F. oxysporum</i>
1329	<i>F. oxysporum</i>	1367	<i>F. oxysporum</i>	1423	<i>F. oxysporum</i>
1330	<i>F. oxysporum</i>	1368	<i>F. oxysporum</i>	1424	<i>F. oxysporum</i>
1331	<i>F. oxysporum</i>	1369	<i>F. oxysporum</i>	1425	<i>F. oxysporum</i>
1332	<i>F. oxysporum</i>	1370	<i>F. oxysporum</i>	1426	<i>F. oxysporum</i>
1333	<i>F. oxysporum</i>	1371	<i>F. verticillioides</i>	1427	<i>F. oxysporum</i>
1334	<i>F. oxysporum</i>	1372	<i>F. oxysporum</i>	1428	<i>F. oxysporum</i>
1335	<i>F. oxysporum</i>	1373	<i>F. oxysporum</i>	1429	<i>F. oxysporum</i>
1336	<i>F. oxysporum</i>	1374	<i>F. verticillioides</i>	1430	<i>F. oxysporum</i>
1337	<i>F. oxysporum</i>	1375	<i>F. verticillioides</i>	1431	<i>F. oxysporum</i>
1338	<i>F. oxysporum</i>	1376	<i>F. oxysporum</i>	1432	<i>F. oxysporum</i>
1339	<i>F. oxysporum</i>	1377	<i>F. oxysporum</i>	1433	<i>F. oxysporum</i>
1340	<i>F. oxysporum</i>	1378	<i>F. oxysporum</i>	1434	<i>F. oxysporum</i>
1341	<i>F. oxysporum</i>	1379	<i>F. oxysporum</i>	1435	<i>F. oxysporum</i>
1343	<i>F. oxysporum</i>	1380	<i>F. oxysporum</i>	1436	<i>F. oxysporum</i>
1344	<i>F. oxysporum</i>	1400	<i>F. oxysporum</i>		