



Dirección de Investigación

Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Parasitología
Tema estratégico (ANA/PEP):	Producción				
Línea de investigación:	Fitopatología				
Título del proyecto:	Control Biológico de <i>Fusarium verticillioides</i> y Fumonisinias en Maíz con Especies de <i>Trichoderma</i> en Tratamiento a Semilla				
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	70,000	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	X
Tipo de investigación:	Básica	Aplicada	X	Tecnológica	e-mail del responsable
Vinculación:	Si	No	Fondos concurrentes:	abielsanchez@hotmail.com	
Cooperante(s):					
Entidad (es):	Saltillo, Coahuila	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Saltillo, Coahuila				
A realizar durante el(los) año(s):	2018				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	M.C. Abiel Sánchez Arizpe	Parasitología	1722		
Colaborador:	Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda	Parasitología	2475		
Colaborador:	Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo	Fitomejoramiento	3268		
Colaborador:	M.C. Arnoldo Oyervides García	Fitomejoramiento	1368		
Colaborador:	Dr. Raúl Rodríguez Guerra	Externo	INIFAP		
Colaborador:					
		Grado por obtener	Matrícula	Firma	
Tesista:	José Luis Arispe Vázquez	Maestría	41121344		
Programa Docente:	Maestría en Ciencias en Parasitología Agrícola				
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
	Vo. Bo.		Autoriza		
Firma y sello					
Nombre	Dr. Cerna Ernesto Chávez Jefe de Departamento		Dr. Armando Robledo Olivo Subdirector de Programación y Evaluación		

• Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Control Biológico de *Fusarium verticillioides* y Fumonisinias en Maíz con Especies de *Trichoderma* en Tratamiento a Semilla

\$ 70, 000

2.- Introducción

Las semillas son importantes fuentes de inóculo de innumerables patógenos, entre ellos varias especies de *Fusarium*. Para el cultivo de maíz las especies de *Fusarium* más importantes en semillas son *F. verticilloides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans* (los tres denominados previamente como *F. moniliforme*), *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, y *F. equiseti*. De todos ellos *F. verticilloides* y *F. graminearum* son los más frecuentes. La incidencia de *F. verticilloides*, es alta (mayor al 20% hasta el 100%), en cambio la incidencia de *F. graminearum* es baja (Carmona y Scandiani, 2011).

Fusarium verticillioides es uno de los patógenos fúngicos más importantes del maíz. Las fumonisinas producidas por este patógeno representan una amenaza para la salud humana y animal. Debido a que la señalización de cAMP ha sido implicada en la regulación de diversos procesos de desarrollo e infección en patógenos fúngicos (Choi y Rong, 2010).

Fusarium verticillioides produce fumonisinas, las cuales fueron descubiertas en 1988. Se ha relacionado la fumonisina B1 (FB1) con la presentación de cáncer esofágico en humanos, leucoencefalomalacia en equinos y edema pulmonar porcino entre otros. El mecanismo de acción tóxica de las fumonisinas involucra la inhibición de la enzima ceramida sintetasa, generando un acúmulo de las bases esfingíodes y una disminución de los esfingolípidos complejos. Se encuentra clasificada según la IARC dentro del grupo 2B (Duarte y Villamil, 2006).

Los avances han demostrado el efecto de *Trichoderma* en plantas, incluyendo inducción sistémica o resistencia localizada, en adición para la inducción de rutas de resistencia en la planta, incrementa el crecimiento y disponibilidad de nutrientes, en maíz incrementa la respuesta al crecimiento en genotipos específicos (Harman, 2006). En tanto Shores et al., (2005) reportan que *Trichoderma asperellum* induce resistencia sistémica en plantas de pepino mediante elevado nivel de etileno y ácido jasmonico, teniendo efecto protector contra *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*.

Objetivos

- Determinar la eficiencia en el control biológico de las diferentes especies de *Trichoderma*.
- Determinar la eficiencia de las cepas de *Trichoderma* en la reducción de Fumonisinias.

Hipótesis

El control Biológico reducirá la incidencia y severidad de *Fusarium verticillioides* y de Fumonisina en los genotipos de maíz.

3.-Revisión de Literatura

El maíz también tiene una importancia más allá de México ya que este es un alimento básico que es cultivado por agricultores pobres en África y Asia, y este también es un producto comercializado en los mercados mundiales, formando la base de las cadenas agro-industriales, produciendo productos de fécula y proteína (FAO, 2013).

Fusarium verticillioides es el principal hongo patógeno que afecta la productividad del maíz en el mundo. Este hongo penetra a la planta por distintas rutas e infecta raíces, tallo y mazorca. El patógeno produce varias toxinas en el tejido

y en los granos del maíz, lo que disminuye su calidad. Las fumonisinas son las toxinas mayoritarias excretadas por el hongo. (De la Torre *et al.*, 2014).

Fusarium verticillioides ataca en todos los estados de crecimiento de la planta de maíz y a diferentes partes de la misma induciendo enfermedades de pre y postcosecha que causan reducción del rendimiento y afectan la calidad de la semilla (Schulthess *et al.*, 2002).

Las pérdidas en el rendimiento de maíz debido a las enfermedades en los Estados Unidos y Ontario, Canadá del año 2012 al 2015 a variaron del 2 al 15%, en este caso la pudrición del tallo (*Fusarium verticillioides*) es la quinta o sexta causa más importante de pérdida de rendimiento relacionados con las enfermedades, mientras que la pudrición de la mazorca (*Fusarium spp* y *Aspergillus spp*) se clasificó como la principal que causo la pérdida de rendimiento en el año 2012. En general, el total estimado de pérdidas económicas debidas a las enfermedades durante los cuatro años fueron de 27.4 millones de dólares (APS, 2016).

Los defectos del tubo neural (NTDs) son defectos embrionarios del cerebro y la médula espinal que resultan del fallo del tubo neural. El consumo de folato materno, especialmente en el primer trimestre, es crítico para reducir el riesgo de NTDs en fetos. Debido a que las fumonisinas alteran el metabolismo esfingolípido y, por lo tanto, el transporte de folato a través de las membranas celulares, se ha demostrado que inducen NTD en ratones de laboratorio. Por lo tanto, es posible que la exposición a la fumonisina pueda desempeñar un papel en la incidencia de DTN en poblaciones humanas de alto riesgo, por ejemplo, poblaciones en las que el consumo de folato es bajo, el consumo de maíz es alto y las contaminaciones climáticas y ambientales son favorables para la acumulación de fumonisina (Wu *et al.*, 2014).

Argumedo *et al.*, (2009) informaron acerca de las especies de hongos que pertenecen al género *Trichoderma*, han sido plenamente caracterizadas por tener aplicación en el ámbito agrícola, principalmente para el control biológico de otros organismos patógenos que atacan a los cultivos. Sin embargo, los estudios sobre su comportamiento y su efecto en ambientes terrestres y acuáticos contaminados han sido escasamente estudiados.

Velázquez *et al.*, (2011) reportan que *Trichoderma sp.* induce la acumulación de ácido jasmonico, ácido salicílico y camalexina en plántulas de *Arabidopsis thaliana*.

Trichoderma spp. aumentó significativamente la producción de terpenoides y la actividad de peroxidasas en plántulas de algodón (Hanson and Howel 2004).

4.- Procedimiento Experimental

1.- Producción masiva de las especies de *Trichoderma* (*harzianum*, *asperellum* y *longibrachuiatum*).

Se realizara en medio de cultivo PDA (2 litros/especie) en cajas petri dejándolas a temperatura ambiente durante 15 días para que cuente con una mayor esporulación.

2.- Preparación del terreno

Se realizara barbecho, surcado y rastra en el terreno establecido.

3.-Recoleccion de cepas de *Trichoderma* de acuerdo a la especie

Se rasparan las cajas petri ya esporuladas con una varilla de dispersión y se juntaran las esporas de acuerdo a la especie en un matraz con agua destilada esteril.

4.- Inoculación a los genotipos de maíz

Se inocularan los genotipos (VS-221, Jaguan, Cafime, y un Criollo) con las diferentes especies de *Trichoderma* con una concentración de 1×10^8 de acuerdo a Chandra *et al.*, (2008).

5.- Siembra

Se sembraran los genotipos de maíz en un diseño de bloques completamente al azar, en el cual serán los siguientes tratamientos: Testigo absoluto, Testigo químico, y las especies de *Trichoderma* (*harzianum*, *asperellum* y *longibrachiatum*).

6.- Labores de cultivo

Se manejaran durante el ciclo del cultivo aspectos de nutrición, plagas y control de maleza.

7.- Cosecha

Se cosecharan sus mazorcas y se juntaran de acuerdo al tratamiento realizado.

8.- Evaluación de la incidencia en el Laboratorio de Fitopatología de Posgrado

En este caso se hará un análisis fenotípico de las plantas y se clasificarán en sanas (sin algún síntoma) y enfermas (con síntomas de la enfermedad).

Se determinará la eficiencia técnica de tratamientos de acuerdo a la fórmula de Abbott (1925).

La incidencia se procesará mediante un análisis de varianza con arreglo factorial de dos factores (AxB), en el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León versión 2.5.

9.- Evaluación de la severidad en el Laboratorio de Fitopatología de Posgrado

40 plantas se seleccionarán al azar por repetición y se cosecharán sus mazorcas, para poder determinar el porcentaje de daño se utilizará la escala de León *et al.* (1997).

Para el análisis de datos se utilizará la prueba de Friedman.

Procedimiento para el segundo objetivo:

Para el análisis de Fumonisinás se hará con el siguiente método:

1.- Extracción y cuantificación de micotoxinas por el método de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA).

En el cual primero se prepara la muestra, se molera cierta cantidad de grano de maíz en una licuadora, se tamizara y se homogenizará. La muestra se mezclara con metanol, se agitara y medirá su pH y si es necesario se ajustara, posteriormente con una micropipeta de 1000 µl, se pasara cierta cantidad de agua destilada y del extracto en un tubo ependor y la muestra se procesara en el AgraQuant® Total Fumonisin COKAQ3000, su rango de cuantificación → 0.25 – 5.0 ppm, para obtener los resultados se hará en un lector de Elisa.

2.- Los resultados se examinarán en el análisis de varianza y prueba de separación de medias, utilizando la prueba de rangos múltiples de Tukey al 0.05, empleando el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León versión 2.5.

Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Realizar la evaluación de la incidencia de los hongos causantes de la pudrición de la mazorca en los diferentes genotipos cosechados.	X	X	X									
Realizar las pruebas para determinar la calidad de la semilla				X	X	X						
Realizar el análisis cuantitativo de Fumonisinás							X	X				

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Realizar la evaluación de la incidencia de los hongos causantes de la pudrición de la mazorca en los diferentes genotipos cosechados.	10%	10%	10%									
Realizar las pruebas para determinar la calidad de la semilla				10%	10%	10%						
Realizar el análisis de Fumonisin							20%	20%				

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2018	Año estimado de conclusión	2018
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos Esperados

<ul style="list-style-type: none"> • Tesis • Artículo

6.-Literatura Citada

APS, 2016. American Phytopathological Society, Corn Yield Loss Estimates Due to Diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015. Pág.. 2-7. Disponible en: <http://www.plantmanagementnetwork.org/php/>.

Argumedo, D., R.; Alarcon.; Ferrera, C., R. y Peña, C., J. J. 2009. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánico e inorgánico. Microbiología. Vol. 25. No. 4. Pág.. 257-259.

Carmona, M. y M. Scandiani (2011). Importancia y control de *F. verticilloides* en semillas de maíz. Propuesta para su manejo. Fitopatología. FAUBA. Laboratorio agrícola Rio Paraná. San Pedro. Pág. 76

Chandra, N, S., Udaya, S. A. C., Reddy. M. S., Niranja, S. R., Prakash, H. S. Shetty, H. S. and Paulino, M. C. A. N. 2008. Seed bioprimering with novel strain of *Trichoderma harzianum* of the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and fumonisins in maize. Archives of Phytopathology and Plant protection. Vol. 43, No. 3. Pág. 264-282.

Choi E. and Rong Xu Jin, (2010). The cAMP Signaling Pathway in *Fusarium verticillioides* is important for Condition, Plant Infection, and Stress Responses but not Fumonisin Production. Department of Botany and Plant pathology, Purdue University, E.U., Vol. 23, No. 4. Pág. 1-2. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20192838>.

De la Torre-Hernández Ma. E., Sánchez R. D., Galeana S. E. y Plasencia de la P. J. (2014), Fumonisin –Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz, Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, México, D.F. Pág. 80-82

Duarte V. S. y Villamil J. L. C. (2006). Micotoxinas en la Salud Pública, Universidad Nacional de Colombia, Revista de salud pública, Volumen 8, Pág. 4. Disponible en: http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642006000400011.

Hanson, L. E., and Howell, C. R. 2004. Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*. Phytopathology.

- Harman, G. E. 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. 96(2):190-194
- Organizacion de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura, (FAO). 2013. Consulta, la importancia del maíz. Disponible en: <http://www.fao.org/economic/esa/seed2d/projects2/marketsseedsdiversity/casestudies/mexico/es/>.
- Schulthess, K. F., Cardwell, K. F. and Gounou, S. 2002. The effect to endophytic *Fusarium verticillioides* on infestation of two maize varieties by lipidopterous stemborers and coleopteran grain feeders. *Phytopathology*. Pág. 121-128.
- Shoresh, M., Yedidia, I. and Chet I. 2005. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. *Phytopathology*. Pág. 76-84.
- Velázquez, R. R., Contreras, C. H. A., Macías, R. L., Hernández, M. A., Aguirre, J., Casas, F. S.; López, B. J. and Herrera, E. A. 2011. Role of the 4- phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* in secondary metabolism and induction of plant defense responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*.
- Wu F., D. Groopman J. and Pestka J., (2014). Public Health Impacts of Foodborne Mycotoxins, Department of Food Science and Human Nutrition, Michigan State University, *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, Pág. 7-8 Disponible en: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-food-030713-092431>.