



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sensibilidad de *Fusarium andiyazi* hacia el fungicida metiltiofanato (Benzimidazol)

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
MARTHA ELENA ESPÍN REZA**

DIRECTOR
DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ

CUERNAVACA, MORELOS

JULIO, 2021

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Edgar Martínez Fernández por darme la oportunidad de realizar este proyecto, por su tiempo y su apoyo profesional.

A la M. en C. Patricia Martínez Jaimes por sus valiosas enseñanzas, su paciencia durante todo el proceso de este trabajo y sobre todo su amistad.

A mis sinodales, la Dra. Maura Téllez, la Dra. Ma. de Lourdes Acosta y el Dr. Guadalupe Peña, por sus valiosos comentarios que me ayudaron a realizar este proyecto.

También, agradezco de todo corazón a Maru y Yaneth, por compartirme sus conocimientos y por su amistad.

Finalmente, a mi amada familia que con su apoyo y amor me permitió y ayudó a lograr mis sueños.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Cultivo de la caña de azúcar.....	3
2.2. Producción de la caña de azúcar a nivel mundial.....	4
2.3. Producción de la caña de azúcar en México	4
2.4. Producción de la caña de azúcar en Morelos y Michoacán	5
2.5. Problemática fitosanitaria de la caña de azúcar	5
2.5.1. Plagas.....	5
2.5.2. Enfermedades.....	6
2.6. Descripción del género <i>Fusarium</i>	8
2.6.1. Descripción de <i>F. andiyazi</i> Marasas, Rheeder, Lamprecht, Zeller and Leslie	9
2.6.2. Hospedantes de <i>F. andiyazi</i>	10
2.7. Métodos de control de enfermedades en caña de azúcar	10
2.7.1. Fungicidas.....	11
2.7.2. Fungicidas más utilizados en la caña de azúcar	12
2.8. Fungicida metiltiofanato	12
2.9. Manejo de enfermedades en la caña de azúcar	12
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. HIPÓTESIS.....	15
5. OBJETIVOS.....	15
5.1. Objetivo general.....	15
5.2. Objetivos específicos	15
6. MATERIALES Y MÉTODOS	16
6.1. Material Biológico.....	16
6.2. Fungicidas seleccionados	16
6.3. Evaluación <i>in vitro</i> de la inhibición de la germinación de conidios de <i>F. andiyazi</i>	18
6.4. Evaluación <i>in vitro</i> de la inhibición del crecimiento micelial de <i>F. andiyazi</i>	22
7. RESULTADOS	24
7.1. Sensibilidad de <i>F. andiyazi</i> (Morelos) hacia el fungicida metiltiofanato	25
7.2. Sensibilidad de <i>F. andiyazi</i> (Michoacán) hacia el fungicida metiltiofanato	28

7.3. Evaluación <i>in vitro</i> de la inhibición de la germinación de conidios de <i>F. andiyazi</i> del estado de Morelos.....	32
7.4. Evaluación <i>in vitro</i> de la inhibición de la germinación de conidios de <i>F. andiyazi</i> del estado de Michoacán	35
8. DISCUSIÓN	39
9. CONCLUSIONES	42
10. PERSPECTIVAS.....	43
11. LITERATURA CITADA.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Cultivo de caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>) con síntomas de marchitez.	8
Figura 2. Estructuras de <i>F. andiyazi</i>	10
Figura 3. Metiltiofanato pesado en la balanza analítica.	17
Figura 4. Toxificación del medio de cultivo PDA con el fungicida metiltiofanato	18
Figura 5. Preparación de la suspensión de conidios de <i>F. andiyazi</i>	19
Figura 6. Hematocitómetro/cámara de Neubauer para el conteo de conidios de <i>F. andiyazi</i> .	19
Figura 7. Caja Petri testigo con 5 gotas de 10 µL de suspensión de conidios de <i>F. andiyazi</i>	20
Figura 8. Conidios germinados (+) y no germinados (-) de <i>F. andiyazi</i> del estado de Morelos.	21
Figura 9. Cajas Petri con <i>F. andiyazi</i> en medio PDA toxificado a diferentes concentraciones de metiltiofanato, en incubación a 25°C bajo luz continua.	22
Figura 10. Caja Petri con medio PDA toxificado con 10 mg/L de metiltiofanato y con línea marcada para la medición del crecimiento micelial.	23
Figura 11. Crecimiento de <i>F. andiyazi</i> (cepa 54-Morelos) a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato	25
Figura 12. Crecimiento micelial de la cepa 54 de <i>F. andiyazi</i> del estado de Morelos en medios toxificados con las concentraciones: 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 mg/L y el testigo.	26
Figura 13. Crecimiento de <i>F. andiyazi</i> (cepa 11- Morelos) a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.	27
Figura 14. Crecimiento de <i>F. andiyazi</i> (cepa 1-Morelos) a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato	28
Figura 15. Crecimiento <i>F. andiyazi</i> (cepa Potrero Llano 3A-Michoacán) en diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato	29
Figura 16. Crecimiento micelial de la cepa Potrero Llano 3A de <i>F. andiyazi</i> del estado de Michoacán en medios toxificados con las concentraciones: 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 mg/L y el testigo.	29
Figura 17. Crecimiento de <i>F. andiyazi</i> (cepa Potrero Llano 2A-Michoacán) en diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.	30
Figura 18. Crecimiento de <i>F. andiyazi</i> (cepa Parcela Escolar-Michoacán) en diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato	31
Figura 19. Germinación de los conidios de <i>F. andiyazi</i> a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato	33

RESUMEN

El cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es una actividad agrícola de importancia socioeconómica en el mundo, cultivándose en 121 países, representando un gran valor en la producción mundial. México ocupa el séptimo lugar en producción de azúcar, ya que presenta un gran potencial productivo. A lo largo de los años el cultivo de la caña se ha visto afectado por varios factores, como plagas y algunas enfermedades provocadas por bacterias, insectos, virus y hongos. En el estado de Morelos las especies de hongos responsables de la necrosis de las raíces de la caña de azúcar son: *F. sacchari*, *F. solani*, *F. andiyazi* y *F. nygamai*, reportándose en México por primera vez a las especies *F. andiyazi* y *F. nygamai*. La aplicación de compuestos químicos es un método que permite prevenir y facilitar una rápida curación de enfermedades bacterianas o fungosas, además es uno de los más utilizados realizándose en más del 90% de los cultivos de caña en Morelos. Los plaguicidas de tipo fungicida son utilizados para prevenir y disminuir el crecimiento de hongos causantes de infecciones en las plantas. Los fungicidas benzimidazoles se caracterizan por inhibir la síntesis de la β -tubulina, por lo que atacan a nivel celular. Por lo anteriormente mencionado al ser especies reportadas recientemente en México *F. andiyazi* y *F. nygamai*, se desconoce la eficacia de los fungicidas benzimidazoles hacia estas dos especies del género *Fusarium*.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es una actividad agrícola de importancia socioeconómica en el mundo, cultivándose en 121 países, representando un gran valor en la producción mundial (Salgado *et al.*, 2013).

México ocupa el séptimo lugar en producción de azúcar, ya que presenta un gran potencial productivo. Actualmente, operan 51 ingenios distribuidos en 15 estados: Campeche, Chiapas, Colima, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz; de los cuales, Veracruz es el estado con mayor volumen de producción (SIAP, 2018).

En el estado de Morelos, SAGARPA (2018) reportó una producción de caña de azúcar de 1,974,930 toneladas por lo que representa un gran valor de producción considerándose una de las principales entidades productoras en México, ocupando el noveno lugar en producción de caña de azúcar. Esto refleja un flujo importante de la economía del estado ya que genera fuentes de empleo directos e indirectos (SIAP, 2017; SIAP, 2018).

A lo largo de los años el cultivo de la caña se ha visto afectado por varios factores, como plagas y algunas enfermedades provocadas por bacterias, insectos, virus y hongos (Campos y Lugo, 2012), en el estado de Morelos las especies responsables de la necrosis de las raíces de la caña de azúcar son *F. sacchari*, *F. solani*, *F. andiyazi* y *F. nygamai*, reportándose en México por primera vez a las especies *F. andiyazi* y *F. nygamai* (Martínez *et al.*, 2015).

El género *Fusarium* representa una amplia variedad de especies fitopatógenas que tienen una distribución y ocurrencia que resalta su capacidad toxicológica y la problemática que presentan los cultivos de gran importancia agrícola y económica como el arroz, maíz, papa, calabaza entre otros (Moretti, 2009; Chehri, 2011).

Es importante realizar inspecciones fitosanitarias de los cultivos durante sus etapas de desarrollo, para poder definir un diagnóstico y establecer medidas de control (Salgado *et al.*, 2013).

Entre estas medidas se encuentra la aplicación de compuestos químicos que permiten prevenir y facilitar una rápida curación de enfermedades bacterianas o fungosas. El control químico además es uno de los más utilizados realizándose en más del 90% de los cultivos de caña en Morelos (Manners, 1994; Salgado *et al.*, 2013).

Los plaguicidas de tipo fungicida son utilizados para prevenir y disminuir el crecimiento de hongos causantes de infecciones en las plantas. Estos se dividen en dos grupos: los benzimidazoles y carboxamidas (Bedmar, 2011).

Los fungicidas benzimidazoles se caracterizan por inhibir la síntesis de la β -tubulina, por lo que atacan a nivel celular. Por lo anteriormente mencionado al ser especies reportadas recientemente en México *F. andiyazi* y *F. nygamai*, se desconoce la eficacia de los fungicidas benzimidazoles hacia estas dos especies del género (Manners, 1994; Pérez y Forbes, 2014).

2. ANTECEDENTES

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es una planta monocotiledónea perenne con un tallo fibroso y rico en sacarosa que llega a medir más de 3m de altura, es conocida también como “caña miel” y “caña dulce”. Pertenece a la familia de las gramíneas y es cultivada principalmente para la producción de azúcar y alcohol etílico, también se puede obtener materia prima para la fabricación de papel, abono, melaza, bagazo y alimento animal (CONADESUCA, 2015; SIAP, 2017).

El origen de la caña de azúcar es Nueva Guinea, los primeros cultivos se realizaron en el Sureste Asiático y la India Occidental. Fue introducida a Egipto y posteriormente a España, para que finalmente éste se extendiera a las zonas tropicales, llegando a México en año 1522 (CONADESUCA, 2015).

2.1. Cultivo de la caña de azúcar

La calidad y rendimiento del cultivo de la caña de azúcar depende de diferentes factores: bióticos y abióticos (Manners, 1994). Los conocimientos de estos factores permiten a los ingenios tener alternativas hacia las soluciones de los desórdenes en los cultivos de caña (CONADESUCA, 2015).

Las condiciones óptimas recomendadas para el cultivo de esta gramínea requieren de temperaturas de 24°C – 37°C y con precipitaciones de 1,400 a 2,000 mm (SIAP, 2018). En México la zafra tiene una duración de 12 a 18 meses y esta se divide en cuatro etapas (Salgado *et al.*, 2013; CONADESUCA, 2015):

- **Germinación/establecimiento:** Esta fase es a los diez días de la siembra. Hay formación de los órganos primarios.
- **Amacollamiento:** Inicia el brote de los tallos a partir de los nudos de la base, definiendo el rendimiento de la planta.

- **Crecimiento:** Generalmente a los 120 días de la plantación, se lleva a cabo la elongación y desarrollo completo de la caña de azúcar, también inicia el almacenamiento del azúcar.
- **Maduración:** Normalmente tiene una duración de 3 meses. Se lleva a cabo la síntesis y acumulación de la sacarosa en los tallos. Finalmente, Una vez que el desarrollo termina se hace la cosecha; la recolección del cultivo se realiza a los 16 meses de la plantación.

2.2. Producción de la caña de azúcar a nivel mundial

El cultivo de la caña de azúcar es una actividad agrícola de importancia socioeconómica en el mundo, éste se produce en alrededor de 121 países de los cuales el principal productor es Brasil (OCDE/FAO, 2017). La caña de azúcar representa un gran valor de producción, posicionándola como la principal fuente de azúcar en el mundo (Salgado *et al.*, 2013).

2.3. Producción de la caña de azúcar en México

De acuerdo con SIAP (2018), México tiene una cifra preliminar del cierre de la producción de caña de azúcar que asciende a 52.1 millones de toneladas y una superficie sembrada que abarca 840,440 ha, lo que genera un rendimiento de 73.123 ton/ha de acuerdo con el reporte de siembra y cosecha. También se reportó una producción de azúcar de 6, 209, 958 toneladas, lo que lo posiciona en el séptimo lugar en producción de azúcar a nivel mundial. Actualmente, operan 51 ingenios distribuidos en 15 estados: Campeche, Chiapas, Colima, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz; de los cuales, Veracruz es el estado con mayor volumen de producción.

2.4. Producción de la caña de azúcar en Morelos y Michoacán

En Morelos la caña de azúcar es uno de los principales cultivos que genera un alto valor de producción, SIAP (2018) reportó una producción de caña de azúcar de 1,974,930 toneladas, lo que posiciona al estado de Morelos en noveno lugar en producción. También, refleja un flujo económico importante, activando la economía del estado y generando fuentes de empleo (SIAP, 2017; SIAP, 2018).

En el estado de Michoacán, la producción de caña de azúcar es una de las principales actividades agrícolas. De acuerdo con SIAP (2018), se reportó una producción de caña de azúcar de 1,444,367 toneladas en 15,914 ha, lo que refleja un rendimiento de 96.51 ton/ha y lo posiciona en el doceavo lugar en producción de este cultivo.

2.5. Problemática fitosanitaria de la caña de azúcar

La caña de azúcar es afectada por distintas plagas y enfermedades que de acuerdo con la etapa de desarrollo del hospedero y las condiciones del ambiente pueden llegar a manifestarse síntomas como: coloración anormal de los tejidos, marchitez, necrosis, cánceres, pudriciones, defoliación y crecimiento anormal (Flores, 1997). De los problemas fitosanitarios que inciden en este cultivo a continuación se mencionan algunas de las principales plagas y enfermedades (Salgado *et al.*, 2013):

2.5.1. Plagas

- **Barrenadores:** Es la principal plaga a nivel mundial ocasionada por los estadíos inmaduros de las palomillas *Diatrea saccharalis*, *D. magnifactella* y *Eoreuma loftini*, así como de otras especies de lepidópteros. Estas larvas destruyen el meristemo apical en la etapa temprana de la caña de azúcar y posteriormente ataca los tallos y hojas de las plantas, alimentándose de los tejidos de la caña, reflejando una alteración y pérdida de producción (Flores, 1997; Campos y Lugo, 2012; SAGARPA, 2018).

- **Mosca pinta, “Salivazo” o “Chinche Salivosa”:** Las ninfas de estos insectos (*Aeneolamia sp.* y *Prosapia sp.*) se alimentan de la savia de los tejidos del tallo, sin embargo, los adultos causan más daño al cultivo al alimentarse de las hojas ya que introducen toxinas a sus tejidos y provocan la aparición de clorosis ocasionando un bajo crecimiento, dando la apariencia de secamiento y reduciendo la producción. Son una plaga que ha llegado a causar pérdidas de hasta el 50% en el rendimiento del cultivo (Flores, 1997; Campos y Lugo, 2012; SAGARPA, 2018).
- **Picudo de la caña de azúcar:** Son coleópteros de la familia Curculionidae y son caracterizados por un pico muy desarrollado, entre estos se encuentra el Picudo de Tallo (*Cholus morio*), en esta especie la hembra oviposita en la zona del crecimiento de los pelillos, por lo que el crecimiento de la larva ocasiona que el cogollo se seque y se detenga e crecimiento de la planta, ocasionando finalmente su muerte (Salgado *et al.*, 2013)

2.5.2. Enfermedades

- **Escaldadura de la hoja:** Es una enfermedad bacteriana ocasionada por *Xanthomonas albilineans* que presenta dos fases: la crónica, en la que se presenta una línea blanca de 1 a 2 milímetros de ancho en la lámina de las hojas, desde la punta hacia abajo. La fase aguda, en la que ocurre un marchitamiento de las plantas, seguido por la muerte de los cogollos, a veces sin mostrar síntomas (Flores, 1997; Campos y Lugo, 2012; SAGARPA, 2018).
- **Carbón:** Es una enfermedad causada por el hongo *Sporisorium scitaminea* y se caracteriza por la aparición de un apéndice en forma de látigo curvo de color gris y negro. Además, estos apéndices también pueden formarse en las yemas laterales y en los canutos extendidos. Es una enfermedad que puede alterar hasta en 50% del rendimiento de la caña (Flores, 1997; Campos y Lugo, 2012; SAGARPA, 2018).

- **Roya:** Es una enfermedad en la cual los síntomas son la presencia de manchas cloróticas en el haz y envés de la planta. Las manchas suelen aumentar de tamaño y se tornan de coloraciones café-rojizo. En la zona de las lesiones, se forman pústulas las cuales al romper el tejido liberan las esporas (Flores, 1997; Campos y Lugo, 2012).
- **Pokkah boeng o Cogollo retorcido:** Es la principal enfermedad que ataca los cultivos de caña de azúcar y es ocasionada por *Fusarium moniliforme*. El síntoma es la aparición de clorosis en la base de las hojas jóvenes y el principal daño al cultivo es la disminución de la absorción de los nutrientes y el agua del suelo, lo que provoca el marchitamiento de la planta (Campos y Lugo, 2012; Vishwakarma *et al.*, 2013).
- **Marchitez de la caña de azúcar:** Es una enfermedad causada por hongos del género *Fusarium* spp., en el que se refleja la pudrición de las raíces lo que ocasiona una disminución en la absorción de los nutrientes y el agua, esto genera la aparición de clorosis en las hojas y necrosis en las raíces. En el estado de Morelos las especies causantes de la necrosis de las raíces y responsables del marchitamiento de la caña de azúcar son *F. sacchari*, *F. solani*, *F. andiyazi* y *F. nygamai*, de las cuales las dos últimas son reporte nuevo en México (Figura 1) (Martínez *et al.*, 2015).



Figura 1. Cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) con síntomas de marchitez.

2.6. Descripción del género *Fusarium*

El género *Fusarium* representa un amplio número de especies fitopatógenas (Booth, 1971), responsables de enfermedades de cultivos agrícolas importantes (Moretti, 2009). Son hongos que tienen una amplia distribución y ocurrencia que nos señala una gran capacidad toxicológica y la problemática que presentan los cultivos como el arroz, maíz, papa, calabaza entre otros (Chehri, 2011).

La producción de metabolitos secundarios genera enfermedades en plantas, animales domésticos e incluso en el ser humano. El principal interés de este género es el papel que tiene como organismo fitopatógeno (Booth, 1971; Leslie y Summerell, 2006).

La identificación de las especies de este género es muy compleja (Booth, 1971) por lo que se deben tomar en cuenta las características de las estructuras presentes en el desarrollo de este hongo fitopatógeno (Nelson *et al.*, 1983; Summerell *et al.*, 2003).

Las estructuras morfológicas que se deben considerar para la determinación de las especies son las siguientes: macroconidios, la forma y estructura, así como el tamaño, número de septos y la forma de las células apicales y basales (Summerell *et al.*, 2003; Leslie y Summerell, 2006).

Los microconidios, la presencia o ausencia de estas estructuras es muy importante, las clamidosporas, que son estructuras de resistencia pueden o no estar presentes en algunas especies del género (Summerell *et al.*, 2003; Leslie y Summerell, 2006).

Finalmente, las células conidiógenas, en el género *Fusarium* solo se reconocen dos tipos: las monofiálides y las polifiálides. Para la identificación de las especies también se lleva a cabo una comparación de los caracteres secundarios, como es el caso de la pigmentación, crecimiento del micelio, metabolitos secundarios y micotoxinas (Nelson *et al.*, 1983; Summerell *et al.*, 2003; Leslie y Summerell, 2006).

2.6.1. Descripción de *F. andiyazi* Marasas, Rheeder, Lamprecht, Zeller y Leslie

Esta especie fitopatógena pertenece a la sección Liseola, presenta micelio flocoso inicialmente blanco tornándose ligeramente a un tono violeta, con presencia de macroconidios ligeramente curvados, producidos de esporodoquios anaranjados, microconidios ovoides y sin septos, no hay formación de clamidosporas, sin embargo, hay presencia de pseudoclamidosporas, únicamente hay presencia de monofiálides, y los microconidios se integran formando falsas cabezas (Figura 2) (Leslie y Summerell, 2006).



Figura 2. Estructuras de *F. andiyazi*: macroconidios (1), microconidios (2) y pseudoclamidosporas (3).

2.6.2. Hospedantes de *F. andiyazi*

Fusarium andiyazi es una especie descrita originalmente a partir de aislamientos de plantas enfermas de sorgo de Africa (Marasas *et al.*, 2001), y posteriormente se reportó en plantas de arroz de Italia (Dal Prá *et al.*, 2010), Malasia (Hsuan *et al.*, 2011) y en China, Vietnam, India, Nepal, Tanzania y Ghana (Wulff *et al.*, 2010), del maíz en Siria (Madamia *et al.*, 2013), del suelo en Australia (Petrovic *et al.*, 2009) y recientemente se aisló de las raíces necróticas de caña de azúcar del estado de Morelos, México (Martínez *et al.*, 2015).

2.7. Métodos de control de enfermedades en caña de azúcar

Es importante realizar inspecciones fitosanitarias de los cultivos durante sus etapas de desarrollo, eso permitiría definir un diagnóstico y establecer medidas de control, entre los principales métodos de control se presentan los siguientes:

- **Control Cultural:** estas se describen como el trabajo físico y supervisión hacia los cultivos, desde la preparación del suelo y la limpieza, así como las rotaciones de cultivo, el barbecho, el monocultivo y la rotación con pastizales. También los agricultores hacen reducciones en los espaciamientos de los surcos para evitar la aparición de malezas.

- **Control Biológico:** este método consiste en la utilización de los enemigos naturales que disminuyen las plagas de los cultivos y así se evita el uso de agentes químicos que puedan alterar la composición del suelo y daño al ambiente. En este método se utilizan organismos depredadores, parásitos y patógenos.
- **Control Químico:** Consiste en la aplicación de pesticidas que permiten prevenir y facilitar una rápida curación ya sea de origen fúngica, bacteriana o viral. Este método de control se realiza en más del 90% de los cultivos de caña de azúcar a nivel nacional y existe una amplia forma de aplicaciones y compuestos químicos que se especializan en ciertas plagas y enfermedades (Manners, 1994; Salgado *et al.*, 2013).

2.7.1. Fungicidas

Estos productos químicos se encargan de prevenir y eliminar el crecimiento de los hongos en las plantas. Se conocen dos tipos de fungicidas: los sistémicos y los de contacto; los sistémicos también conocidos como curativos son absorbidos a través del follaje o raíces y se movilizan a toda la planta, afectando las etapas de la vida del hongo, controlándolo o eliminándolo. Los fungicidas de contacto también son conocidos como protectores o preventivos y se encargan de proteger la superficie de la planta, evitando que las esporas germinen y penetren a las células vegetales. Entre los fungicidas sistémicos se encuentran los triazoles, carbamatos, carboxamidas y benzimidazoles (Manners, 1994; Pérez y Forbes, 2014).

Triazoles: Son compuestos químicos antifúngicos encargados de inhibir la C-14 a desmetilasa de la membrana citoplasmática (FRAC, 2019).

Carbamatos: Son compuestos que se encargan de afectar la permeabilidad de la membrana celular (FRAC, 2019).

Carboxamidas: Son fungicidas que se encargan de inhibir la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas y afecta la respiración de los patógenos fúngicos (Manners, 1994; FRAC, 2019).

Benzimidazoles: Son compuestos químicos sistémicos efectivos contra diversas enfermedades fúngicas, que se encargan de inhibir la síntesis de la β -tubulina, por lo que interviene en la división celular (Manners, 1994; Bedmar, 2011). De acuerdo con López (2015), las especies fitopatógenas *F. solani* y *F. sacchari* presentan diferente sensibilidad a estos compuestos químicos.

2.7.2. Fungicidas más utilizados en la caña de azúcar

De acuerdo con Salgado *et al.* (2013), algunos de los fungicidas más utilizados para tratar enfermedades presentes en la caña de azúcar en México son los siguientes: benomyl, thiabendazol, cyproconazole, tebuconazol, mancozeb, metaconazole, carbendazim, metiltiofanato, entre otros (Salgado *et al.*, 2013; Yossen y Conles, 2014; López, 2015).

2.8. Fungicida metiltiofanato

Es un producto químico que pertenece al grupo de los fungicidas benzimidazoles, y cuya sustancia activa es el Tiocarbamato sistémico. Este producto tiene actividad fúngica preventiva y curativa ya sea por vía sistémica o de contacto, actuando a través del xilema y floema. Es un producto químico persistente y es nocivo a la salud si se inhala (Famster, 2018).

2.9. Manejo de enfermedades en la caña de azúcar

El uso de variedades es un medio efectivo para manejar algunas enfermedades de la caña de azúcar. Sin embargo, la selección de cultivares resistentes a las enfermedades por *Fusarium* en México no se ha realizado. Ninguna de las variedades conocidas de la caña de azúcar es inmune a las enfermedades causadas por *Fusarium* y la mayoría de las variedades tienen alguna susceptibilidad. En este

contexto la aplicación de fungicidas es considerada en ocasiones como la única alternativa para disminuir las enfermedades en las raíces de la caña de azúcar ocasionadas por las especies de *Fusarium*.

3. JUSTIFICACIÓN

Las plantas de caña de azúcar durante todas las etapas de su desarrollo son afectadas por los factores ambientales y una diversidad de organismos vivos que en conjunto o de manera separada reducen su producción. En los últimos años en Morelos y en otros estados de México se ha reportado la incidencia de una enfermedad que induce una sintomatología de marchitez en estas plantas. En algunos estudios realizados se ha comprobado que hongos del género *Fusarium* son los causantes de una necrosis severa de las raíces lo que conduce directamente a la flacidez y un pobre desarrollo de la caña de azúcar. En la actualidad el manejo de las enfermedades en caña de azúcar comúnmente se basa en el uso de fungicidas selectivos o de amplio espectro que en ocasiones se desconoce su efectividad biológica hacia los patógenos que se pretende controlar. Una estrategia para seleccionar fungicidas eficientes es iniciar con evaluaciones *in vitro*. Por tanto, es importante conocer la sensibilidad de aislamientos de *F. andiyazi* hacia el fungicida metiltiofanato más frecuentemente aplicado en las plantas de caña de azúcar en los estados de Morelos y Michoacán, para obtener información que sirva de base para un control más confiable de estos patógenos en el cultivo de la caña de azúcar.

4. HIPÓTESIS

Los aislamientos de *F. andiyazi* de la caña de azúcar del estado de Michoacán son más sensibles al fungicida metiltiofanato que los aislamientos del estado de Morelos.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar la sensibilidad de los aislamientos de *F. andiyazi* hacia el fungicida metiltiofanato aplicado frecuentemente en las plantas de caña de azúcar de los estados de Morelos y Michoacán.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar *in vitro* la sensibilidad de *F. andiyazi* de los aislamientos del estado de Morelos hacia el fungicida metiltiofanato.
- Determinar *in vitro* la sensibilidad de *F. andiyazi* aislados del estado de Michoacán hacia el fungicida metiltiofanato.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

6.1. Material Biológico

En el presente trabajo se utilizaron aislamientos de *Fusarium* patógenos de la caña de azúcar pertenecientes al cepario de Hongos Fitopatógenos del CIB UAEM. Se analizaron tres aislamientos de *F. andiyazi* del estado de Morelos (Cepa 1, 11 y 54) y tres aislamientos del estado de Michoacán (Cepa Potrero Llano 3A, Potrero Llano 2A y Parcela Escolar).

6.2. Fungicida seleccionado

La selección del fungicida se basó en trabajos previos de otros investigadores con resultados promisorios en el control de diferentes especies de *Fusarium* o que actualmente está siendo aplicado en las plantas de caña de azúcar para el manejo de la enfermedad de la marchitez.

En el estado de Morelos se utilizan formulaciones comerciales considerando que se observa una respuesta más precisa de los patógenos hacia los fungicidas (Torres *et al.*, 2015). Para el presente trabajo se seleccionó el fungicida: metiltiofanato.

Este fungicida se evaluó considerando las concentraciones siguientes: 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 mg/L.

Preparación del medio de cultivo papa dextrosa agar toxificado

Para la preparación del medio PDA toxificado, se inició pesando las concentraciones del fungicida metiltiofanato en la balanza analítica (Figura 3). Posteriormente, cada una se aforó a 50 ml de agua estéril y se agitó vigorosamente

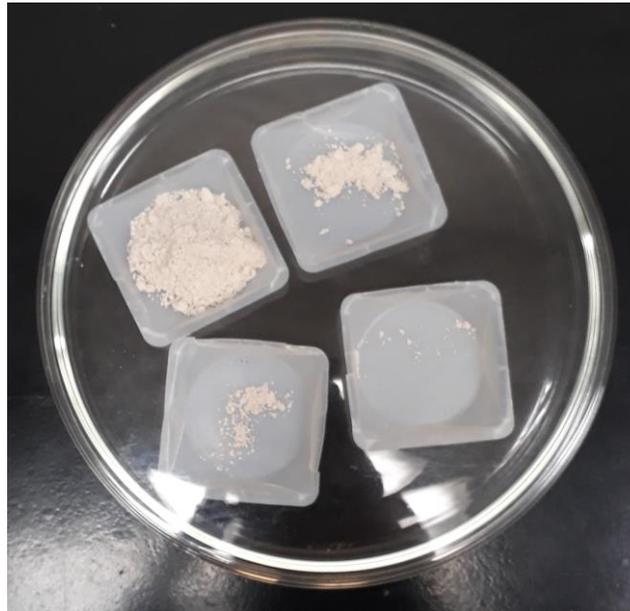


Figura 3. Metiltiofanato pesado en la balanza analítica.

Posteriormente, se añadieron 50 ml con las diferentes cantidades del fungicida metiltiofanato a matraces con 150 ml de medio PDA, el cual fue previamente esterilizado en autoclave a 120° C durante 10 minutos. Los matraces con el medio de cultivo se dejaron en reposo hasta que tuvieran una temperatura de 40°- 50°C y se les depositó de manera individual cada una de las concentraciones señaladas del fungicida (Figura 4). De cada medio de cultivo toxicado se llenaron 8 cajas Petri por cada concentración, incluyendo el testigo y se dejaron en reposo 48 h para corroborar que no estuvieran contaminadas.



Figura 4. Toxicificación del medio de cultivo PDA con el fungicida metiltiofanato.

6.3. Evaluación *in vitro* de la inhibición de la germinación de conidios de *F. andiyazi*

De manera inicial, se prepararon suspensiones de conidios de cada aislamiento de *F. andiyazi* (de colonias de 10 días de crecimiento), tanto de Morelos como de Michoacán (cada uno por separado). A cada caja Petri con *F. andiyazi* se le agregaron 20 ml de agua destilada estéril, se hizo un raspado en la superficie de la colonia con ayuda de una aguja de disección previamente flameada (Figura 5).



Figura 5. Preparación de la suspensión de conidios de *F. andiyazi*.

La mezcla de agua con conidios se vertió a un vaso de precipitado de 50 ml estéril y se cubrió con papel aluminio. Posteriormente, con ayuda de un microscopio óptico marca Leica DM500 y un hematocitómetro se hizo el conteo de los conidios y se ajustaron a una concentración de 5×10^5 conidios/mL⁻¹ (Figuras 5 y 6).



Figura 6. Hematocitómetro/cámara de Neubauer para el conteo de conidios de *F. andiyazi*.

Una vez ajustada la concentración de 5×10^5 conidios/mL⁻¹, en la campana de flujo laminar con la ayuda de una micropipeta se inocularon 5 gotas de 10 µL de la suspensión en 5 puntos al azar de cada caja Petri toxicada y el testigo. Se sellaron y marcaron para dejar en reposo por 16 h (Figura 7).

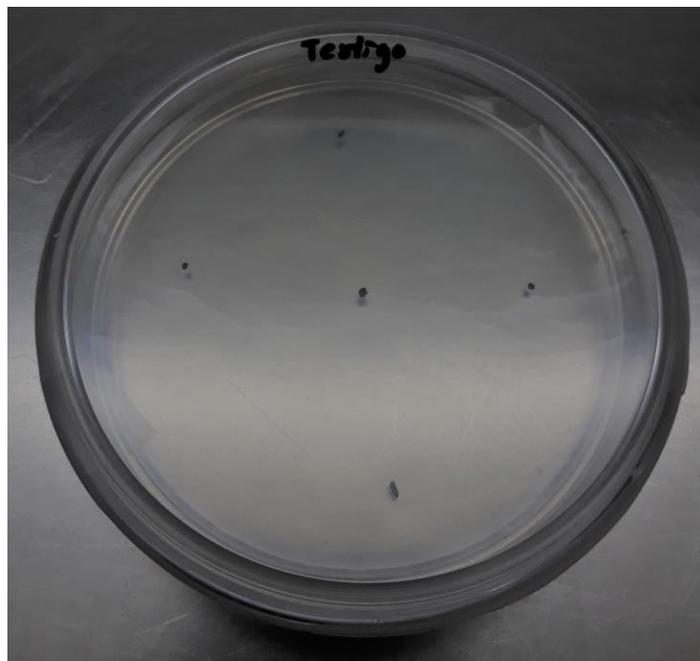


Figura 7. Caja Petri testigo con 5 gotas de 10 µL de suspensión de conidios de *F. andiyazi*.

Evaluación de la germinación de conidios

Las cajas Petri inoculadas se les dejó en incubación a $24^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante un periodo de 16 h. Pasado el tiempo, las cajas Petri inoculadas se colocaron en refrigeración a 4°C para detener el proceso de germinación y así realizar la evaluación de la germinación de los conidios de cada concentración.

Para la observación de la germinación de los conidios se hicieron cortes de agar de aproximadamente un cm² con ayuda de una navaja en cada punto marcado de la

caja Petri y se colocaron en portaobjetos. Posteriormente se les colocó un cubreobjetos a cada uno y se observaron al microscopio usando el objetivo 40X. El porcentaje de germinación fue calculado tomando como base la observación de 100 conidios por caja Petri (Avozani *et al*, 2014), se contaron 25 conidios de cuatro puntos o gotas, registrando los germinados y no germinados.

Un conidio se consideró como germinado cuando el tubo germinativo superó el largo de este (Figura 8). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza completamente al azar con 10 tratamientos y 7 repeticiones y a una prueba de separación de medias de Tukey (α 0.05) para ordenar la eficacia de los tratamientos evaluados.



Figura 8. Conidios germinados (+) y no germinados (-) de *F. andiyazi* del estado de Morelos.

6.4. Evaluación *in vitro* de la inhibición del crecimiento micelial de *F. andiyazi*

La sensibilidad de los aislamientos de *F. andiyazi* a las diferentes concentraciones del metiltiofanato fue determinada con ensayos de crecimiento micelial en medio PDA.

Se utilizó la técnica de placas con medio de cultivo PDA adicionado con fungicidas para determinar la sensibilidad de los aislamientos de *F. andiyazi*. De colonias de los aislamientos de *F. andiyazi* se tomaron rodajas de agar con un sacabocado previamente flameado, haciendo las rodajas de 5 mm en el micelio de la zona de crecimiento. Posteriormente se depositaron en el centro de las cajas Petri con PDA adicionadas con fungicida y el testigo.

Se prepararon 7 cajas Petri por cada concentración del fungicida y el testigo, se sellaron y se dejaron en incubación a 25°C bajo luz continua (Figura 9). Posteriormente se revisaron a partir de las 48 h para hacer la medición del crecimiento micelial y la toma de datos.

Al transcurrir las 48 h, con una regla y marcador, se trazó una línea en la base de la caja Petri, de la rodaja de 5 mm hacia el extremo de la caja Petri (Figura 10), después, se midió el micelio a partir de la orilla de la rodaja hasta donde llegaron las hifas. A partir de la primera lectura, se hicieron las siguientes cada 24 h, hasta que el testigo llenó completamente la caja Petri.



Figura 9. Cajas Petri con *F. andiyazi* en medio PDA toxicado a diferentes concentraciones de metiltiofanato, en incubación a 25°C bajo luz continua.

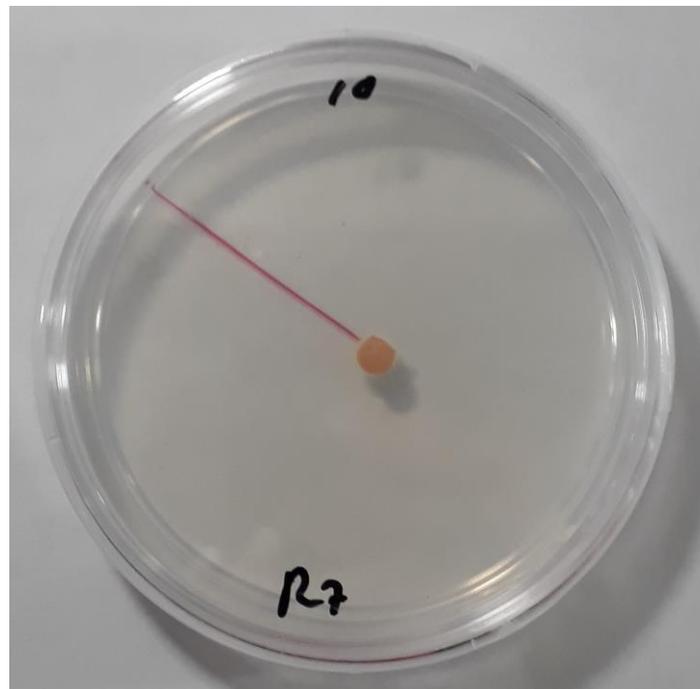


Figura 10. Caja Petri con medio PDA toxicado con 10 mg/L de metiltiofanato y con línea marcada para la medición del crecimiento micelial.

El diseño experimental se realizó completamente al azar con 10 tratamientos, incluido 1 testigo absoluto y 7 repeticiones. La unidad experimental fue una caja Petri de PDA adicionada con la concentración de fungicida e inoculada con una rodaja de 5 mm del aislamiento de *F. andiyazi* correspondiente. La variable de respuesta fue la inhibición del crecimiento radial del micelio de *F. andiyazi* de las cepas de Morelos y Michoacán.

Los datos del porcentaje de inhibición del crecimiento radial respecto del testigo se analizaron mediante el paquete estadístico SAS. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y a una prueba de separación de medias de Tukey (α 0.05) para ordenar la eficacia de los tratamientos evaluados.

El efecto de cada una de las concentraciones de fungicida metiltiofanato se determinó como porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio de *F. andiyazi* con respecto al testigo, se obtuvo con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[(C - T) \times 100]}{C}$$

Donde:

C= Colonia testigo

T= Diámetro colonia de placa

7. RESULTADOS

7.1. Sensibilidad de las cepas de *F. andiyazi* del estado de Morelos hacia el fungicida metiltiofanato

Cepa 54

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, es decir, si hay un efecto entre las diferentes concentraciones evaluadas sobre el crecimiento micelial de *F. andiyazi* (Figura 11 y 12).

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 6 grupos: el primero con las concentraciones de 50 y 100 mg/L ocasionó una inhibición del 100%, el segundo grupo con la concentración de 10 mg/L, se presentó una inhibición del 83.51%, el tercer grupo con la concentración de 5 mg/L, tuvo una inhibición de 60.89%, el cuarto grupo con las concentraciones de 1, 0.5, 0.1 y 0.05 mg/L, obtuvieron una inhibición del 24.66% - 31.29%, el quinto grupo con la concentración de 0.01 mg/L obtuvo una inhibición del 20.24% y el sexto grupo con el testigo obtuvo 0% de inhibición (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de la cepa 54 de *F. andiyazi* del estado de Morelos hacia el fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
100	A	100
50		
10	B	83.51
5	C	60.89
1	D	24.66- 31.29
0.5		
0.1		
0.05		
0.01	E	20.24
Testigo	F	0

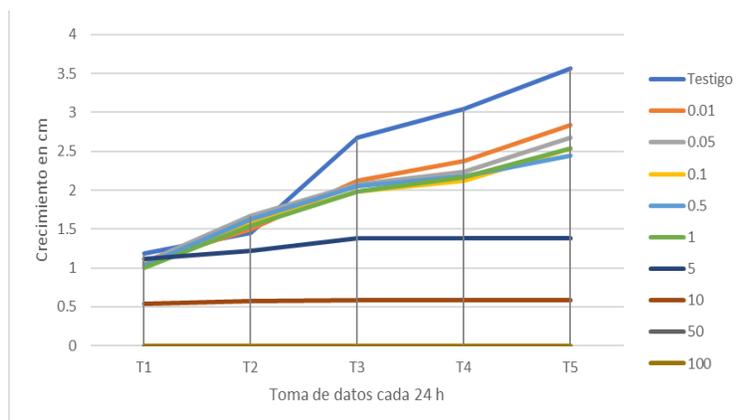


Figura 11. Crecimiento de *F. andiyazi* (cepa 54-Morelos) a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.

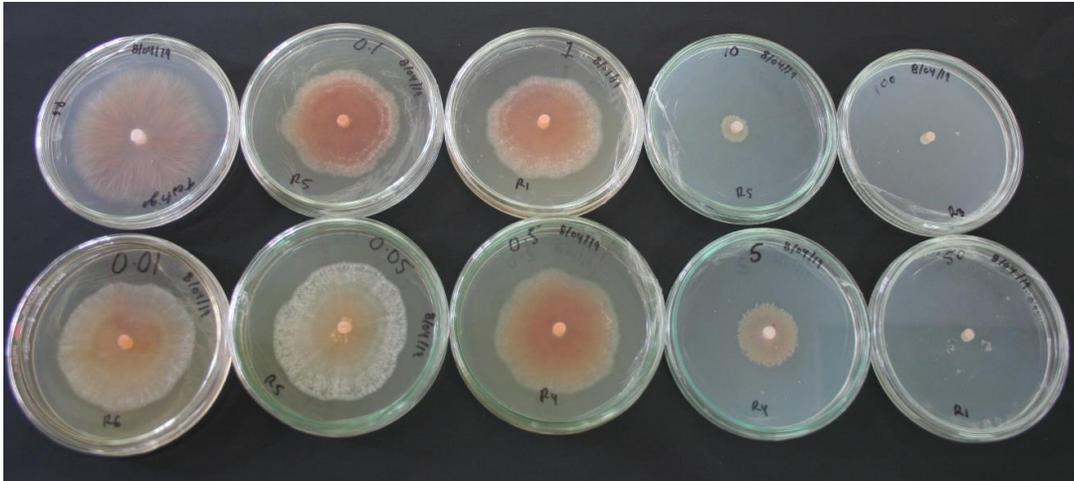


Figura 12. Crecimiento de *F. andiyazi* (cepa 54- Morelos) a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.

Cepa 11

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, es decir, si hay un efecto entre las diferentes concentraciones evaluadas sobre el crecimiento micelial de la cepa 11 de *F. andiyazi* (Figura 13).

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 6 grupos: el primer grupo con las concentraciones de 50 y 100 mg/L ocasionó una inhibición de 100%, el segundo grupo con la concentración de 10 mg/L ocasionó una inhibición de 83.45%, el tercer grupo con la concentración de 5 mg/L ocasionó una inhibición de 70.03%, el cuarto grupo con la concentración de 1 mg/L ocasionó una inhibición de 6.64%, el quinto grupo con las concentraciones 0.01, 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L ocasionaron una inhibición de 0.77-3.88% y el testigo mostró inhibición de 0% (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de la cepa 11 de *F. andiyazi* hacia el fungicida Metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
100	A	100
50		
10	B	83.45
5	C	70.03
1	D	6.64
0.5	E	0.77-3.88
0.1		
0.05		
0.01		
Testigo	F	0

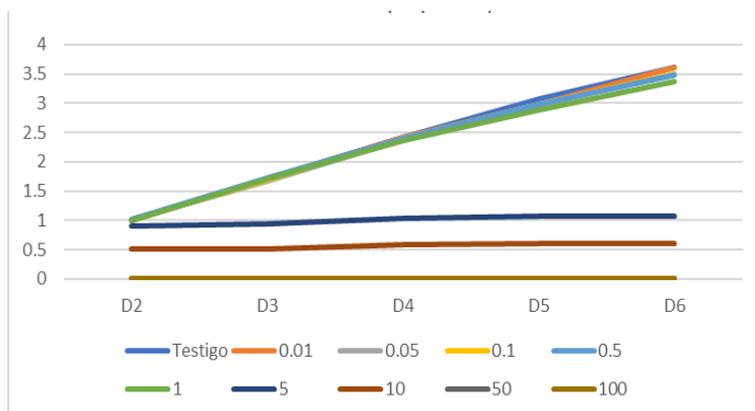


Figura 13. Crecimiento de *F. andiyazi* (cepa 11-Morelos) a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.

Cepa 1

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos, es decir, si hay un efecto entre las diferentes concentraciones evaluadas sobre el crecimiento micelial de la cepa 1 de *F. andiyazi* (Figura 14).

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 5 grupos: El primer grupo con las concentraciones de 50 y 100 mg/L ocasionó una inhibición de 100%, el segundo grupo con la concentración de 10 mg/L ocasionó una inhibición de 89.64%, el tercer grupo con la concentración de 5 mg/L ocasionó una inhibición de 74.28%, el cuarto cuerpo con la concentración de 1 mg/L ocasionó una inhibición de 6.42% y finalmente, el quinto grupo con las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/L y el testigo ocasionaron una inhibición de 0% (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de la cepa 1 de *F. andiyazi* hacia el fungicida Metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
100	A	100
50		
10	B	89.64
5	C	74.28
1	D	6.42
0.5	E	0
0.1		
0.05		
0.01		
Testigo		

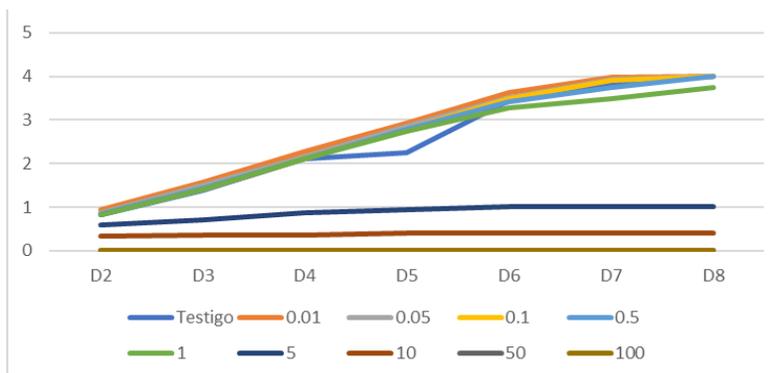


Figura 14. Crecimiento de *F. andiyazi* (cepa 1-Morelos) a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.

7.2. Sensibilidad de las cepas de *F. andiyazi* del estado de Michoacán hacia el fungicida metiltiofanato

Cepa Potrero Llano 3A

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos evaluados, esto quiere decir que hay un efecto en el crecimiento micelial de *F. andiyazi* (Figura 15 y 16).

Posteriormente, a partir de una prueba de Tukey los tratamientos se divide en 4 grupos: el primero con las concentraciones de 10, 50 y 100 mg/L, obtuvo una inhibición de 96.81% - 100%, el segundo grupo con la concentración de 5 mg/L inhibió el 69.19%, el tercer grupo con las concentraciones de 1, 0.5, 0.1, 0.05 y 0.01 mg/L, obtuvieron un porcentaje de inhibición de 2.32% - 4.30% y el cuarto grupo con el testigo obtuvo una inhibición de 0% (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de la cepa Potrero Llano 3A de *F. andiyazi* hacia el fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
100	A	96.81-100
50		
10		
5	B	69.19
1	C	2.32-4.30
0.5		
0.1		
0.05		
0.01		
Testigo	D	0

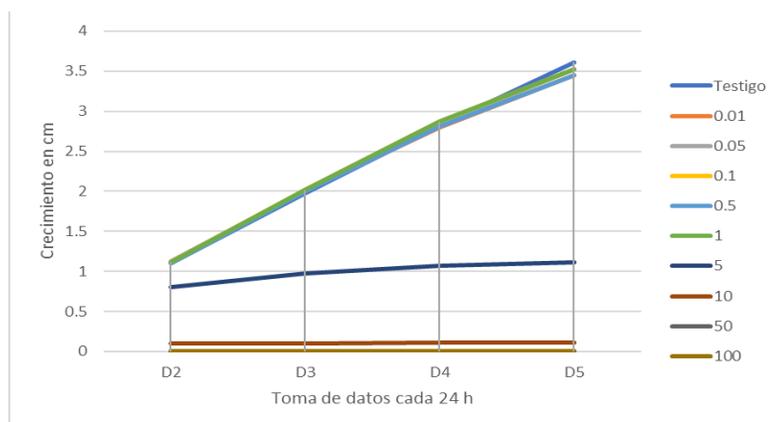


Figura 15. Crecimiento *F. andiyazi* (cepa Potrero Llano 3A-Michoacán) en diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.

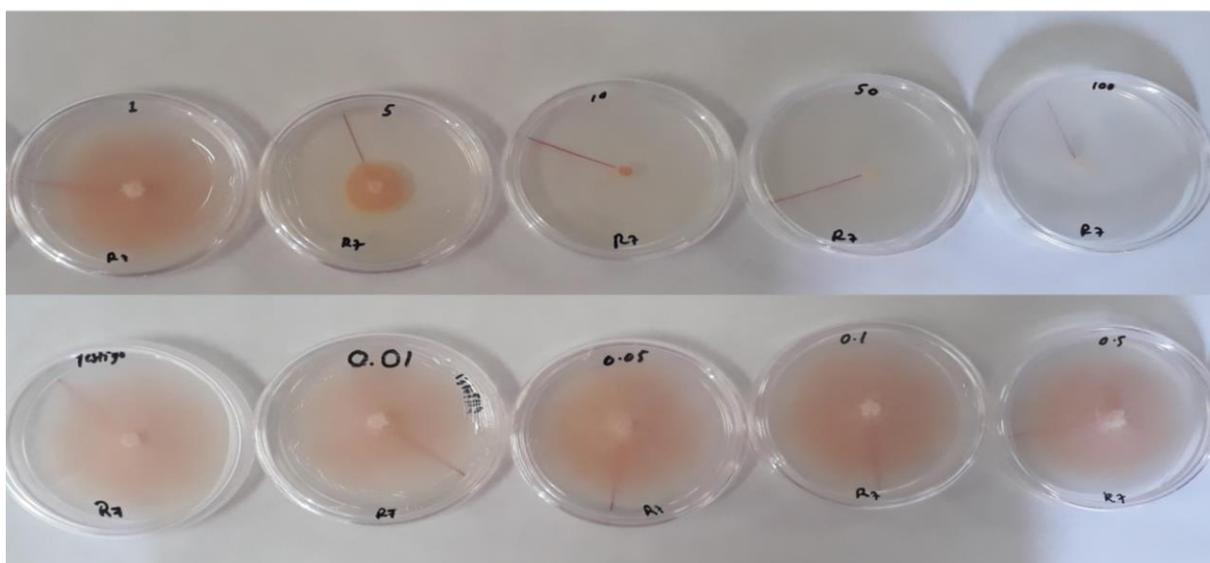


Figura 16. Crecimiento micelial de la cepa Potrero Llano 3A de *F. andiyazi* del estado de Michoacán en medios toxicados con las concentraciones: 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 mg/L y el testigo.

Cepa Potrero Llano 2A

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, es decir, si hay un efecto entre las diferentes concentraciones evaluadas sobre el crecimiento micelial de la cepa Potrero Llano 2A de *F. andiyazi* (Figura 17).

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 4 grupos: el primer grupo con las concentraciones de 50 y 100 mg/L obtuvo una inhibición de 100%, el segundo grupo con la concentración de 10mg/L obtuvo una inhibición de 91.55%, el tercer grupo con la concentración de 5 mg/L obtuvo una inhibición de 63.83%, finalmente, el cuarto grupo con el testigo y las concentraciones 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 mg/L obtuvo una inhibición de 0-4.34% (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de la cepa Potrero Llano 2A de *F. andiyazi* hacia el fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
100	A	100
50		
10	B	91.55
5	C	63.83
1	D	0-4.34
0.5		
0.1		
0.05		
0.01		
Testigo		

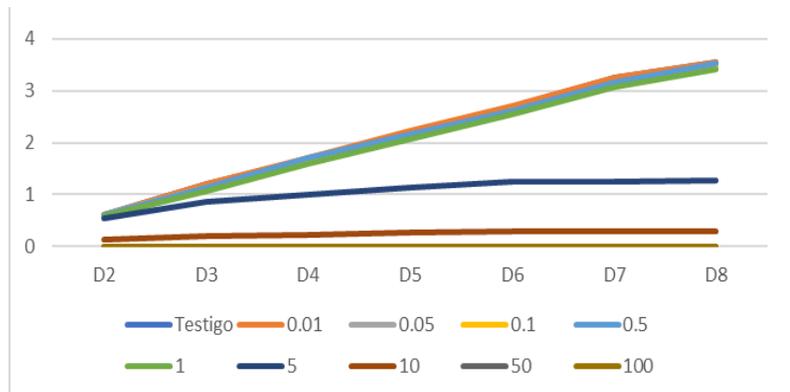


Figura 17. Crecimiento de *F. andiyazi* (cepa Potrero Llano 2A-Michoacán) en diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.

Cepa Parcela Escolar

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos, es decir, si hay un efecto entre las diferentes concentraciones evaluadas sobre el crecimiento micelial de la cepa Parcela Escolar de *F. andiyazi* (Figura 18).

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 5 grupos: el primer grupo con las concentraciones de 50 y 100 mg/L obtuvo una inhibición de 100%, el segundo grupo con la concentración de 10 mg/L obtuvo una inhibición de 88.97%, el tercer grupo con la concentración de 5 mg/L obtuvo una inhibición de 72.8%, el cuarto grupo con la concentración de 1 mg/L obtuvo una inhibición de 16.72%, finalmente, el quinto grupo con el testigo y las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L obtuvieron una inhibición de 0-3.59% (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de la cepa Parcela Escolar de *F. andiyazi* hacia el fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
100	A	100
50		
10	B	88.97
5	C	72.8
1	D	16.72
0.5	E	0-3.59
0.1		
0.05		
0.01		
Testigo		

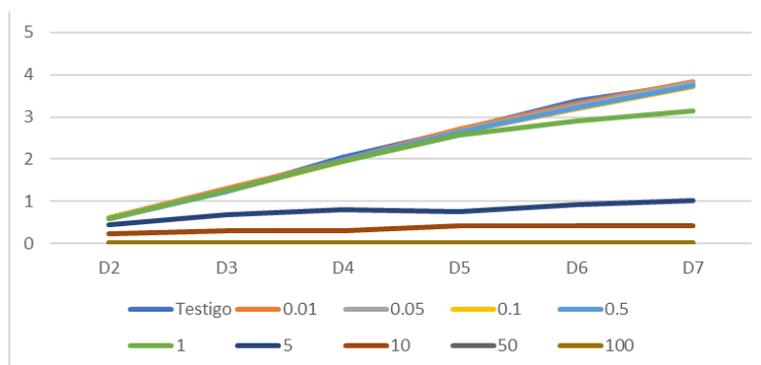


Figura 18. Crecimiento de *F. andiyazi* (cepa Parcela Escolar-Michoacán) en diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato.

7.3. Evaluación *in vitro* de la inhibición de la germinación de conidios de *F. andiyazi* del estado de Morelos

Cepa 54

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos evaluados, esto quiere decir que hay un efecto del fungicida sobre los conidios de *F. andiyazi* (Figura 19).

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 4 grupos: el primero, con el testigo y las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L tuvo un porcentaje de germinación del 74-84%, el segundo grupo con las concentraciones de 1 y 5 mg/L, tuvo un porcentaje de germinación de 70-58%, el tercer grupo con la concentración 10 mg/L, tuvo un porcentaje de germinación de 50% y finalmente, el cuarto grupo con las concentraciones de 50 y 100 mg/L tuvieron un porcentaje de germinación de 24-32%.(Tabla 7).

Tabla 7. Comparación de medias del porcentaje de germinación de conidios de *F. andiyazi* (cepa 54-Morelos) por efecto del fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
Testigo	A	74-84
0.01		
0.05		
0.1		
0.5		
1	B	70-58
5		
10	C	50
50	D	24-32
100		

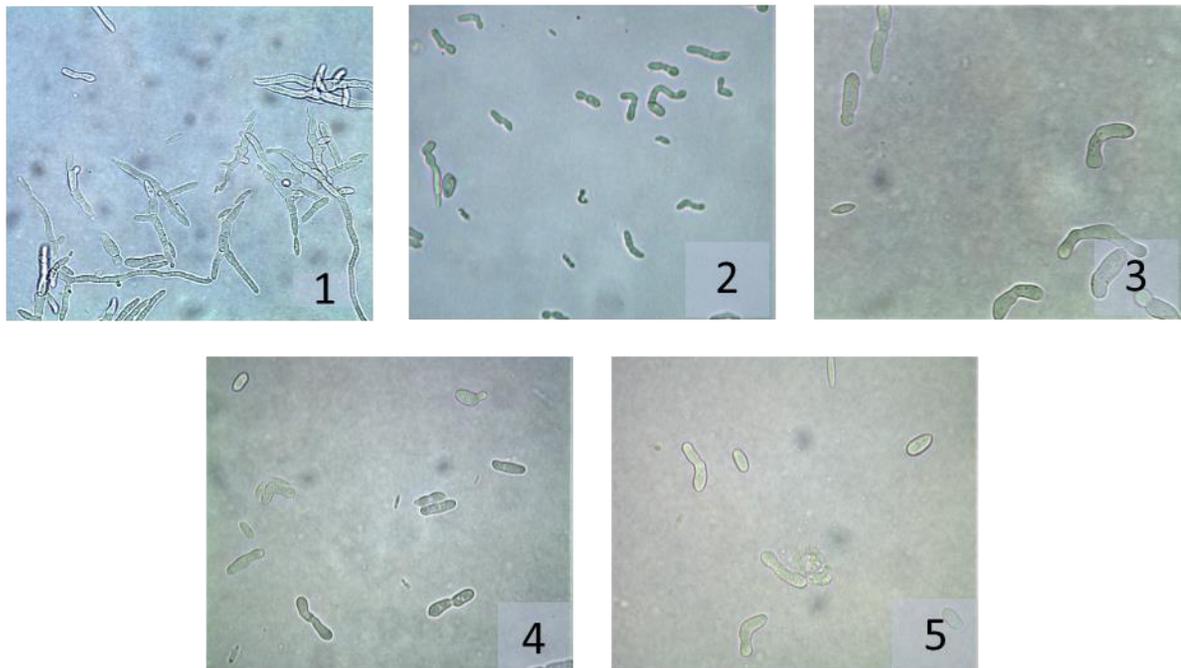


Figura 19. Germinación de los conidios de *F. andiyazi* a diferentes concentraciones del fungicida metiltiofanato. Testigo (1), 5 mg/L (2), 10 mg/L (3), 50 mg/L (4) y 100 mg/L (4).

Cepa 11

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados, esto quiere decir que hay un efecto del fungicida sobre la germinación de conidios de *F. andiyazi*.

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 3 grupos: el primer grupo con el testigo tuvo un porcentaje de germinación de 100%, el segundo grupo con las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 y 10 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 84-95% y finalmente, el tercer grupo con las concentraciones de 50 y 100 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 33-42% (Tabla 8).

Tabla 8. Comparación de medias del porcentaje de germinación de conidios de *F. andiyazi* (cepa 11-Morelos) por el efecto del fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
Testigo	A	100
0.01	B	84-95
0.05		
0.1		
0.5		
1		
5	C	33-42
10		
50		
100		

Cepa 1

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados, esto quiere decir que hay un efecto en la germinación de conidios de *F. andiyazi*.

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 6 grupos: el primer grupo con el testigo tuvo un porcentaje de germinación de 94%, el segundo grupo con las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 85-89%, el tercer grupo con la concentración de 1mg tuvo un porcentaje de germinación de 80%, el cuarto grupo con las concentraciones de 5 y 10 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 66-68%, el quinto grupo con la concentración de 50 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 56% y finalmente, el sexto grupo con la concentración de 100 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 46% (Tabla 9).

Tabla 9. Comparación de medias del porcentaje de germinación de conidios de *F. andiyazi* (cepa 1-Morelos) por el efecto del fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
Testigo	A	94
0.01	B	85-89
0.05		
0.1		
0.5		
1	C	80
5	D	66-68
10		
50	E	56
100	F	46

7.4. Evaluación *in vitro* de la inhibición de la germinación de conidios de *F. andiyazi* del estado de Michoacán

Cepa Potrero Llano 3A

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos evaluados, esto quiere decir que hay un efecto en la germinación de conidios de *F. andiyazi*.

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 3 grupos: el primero, con las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 88-99%, el segundo grupo, con las concentraciones de 5 y 10 mg/L, tuvo un porcentaje de germinación de 52-57% y el tercer grupo, con las concentraciones 50 y 100 mg/L, tuvo un porcentaje de germinación de 39-44% (Tabla 10).

Tabla 10. Comparación de medias del porcentaje de germinación de conidios de *F. andiyazi* (cepa Potrero Llano 3A-Michoacán) por el efecto del fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
Testigo	A	88-99%
0.01		
0.05		
0.1		
0.5		
1	B	52-57%
5		
10	C	39-44%
50		
100		

Potrero Llano 2A

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos evaluados, esto quiere decir que hay un efecto en la germinación de conidios de *F. andiyazi*.

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 3 grupos: el primer grupo con el testigo y las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1 y 0.5 mg/L tuvieron un porcentaje de germinación de 83-89%, el segundo grupo con las concentraciones de 1 y 5 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 74-75%, finalmente, el tercer grupo con las concentraciones de 10, 50 y 100 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 41-50% (Tabla 11).

Tabla 11. Comparación de medias del porcentaje de germinación de conidios de *F. andiyazi* (cepa Potrero Llano 2A-Michoacán) por el efecto del fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
Testigo	A	83.89
0.01		
0.05		
0.1		
0.5		
1	B	74-75
5		
10	C	41-50
50		
100		

Parcela Escolar

De acuerdo con el análisis de varianza, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos evaluados, esto quiere decir que hay un efecto en la germinación de conidios de *F. andiyazi*.

Posteriormente, a partir de la prueba de Tukey los tratamientos se pueden dividir en 2 grupos: el primer grupo con el testigo y las concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 y 5 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 85-94% y el segundo grupo con las concentraciones de 10, 50 y 100 mg/L tuvo un porcentaje de germinación de 54-61% (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación de medias del porcentaje de germinación de conidios de *F. andiyazi* (cepa Parcela Escolar-Michoacán) por el efecto del fungicida metiltiofanato por medio de la prueba de Tukey ($\alpha 0.05$).

Tratamiento	Tukey	Media
Testigo	A	85-94
0.01		
0.05		
0.1		
0.5		
1		
5		
10		
50	B	54-61
100		

8. DISCUSIÓN

Uno de los factores que limita la producción en el cultivo de la caña de azúcar en México es la incidencia de un grupo de hongos del género *Fusarium* que daña las raíces de estas plantas. De este género una de las especies con mayor capacidad patogénica hacia la caña de azúcar es *F. andiyazi*.

Para el manejo de las enfermedades causadas por *Fusarium* en México y otros países, la aplicación de fungicidas representa una primera alternativa práctica actividad. El uso de productos químicos apropiados y conocer la sensibilidad del patógeno hacia estos productos son elementos esenciales para la protección química de estas plantas. En este trabajo se determinó el efecto del fungicida metiltiofanato en aislamientos del patógeno *F. andiyazi* de los estados de Morelos y Michoacán.

Los resultados obtenidos mostraron que las cepas de *F. andiyazi* del estado de Morelos y Michoacán presentaron sensibilidad hacia el fungicida metiltiofanato. De acuerdo con los análisis estadísticos fue evidente que los aislamientos de *F. andiyazi* del estado de Michoacán: Potrero Llano 3A, Potrero Llano 2A y Parcela Escolar tuvieron un mayor porcentaje de inhibición de crecimiento micelial que las cepas del estado de Morelos, a partir de los 10 mg/L.

En base a las evaluaciones realizadas y pruebas estadísticas, se determinó que las cepas de *F. andiyazi* del estado de Morelos y Michoacán mostraron porcentajes de inhibición en el crecimiento micelial similares en las dosis más altas evaluadas del fungicida. De esta manera, la mayor sensibilidad registrada fue de 100% de inhibición de crecimiento micelial, a las dosis de 50 y 100 mg/L. Resultados similares fueron reportados por López (2015) en *F. sacchari*, quien observó una inhibición de 100% del crecimiento micelial a las concentraciones de 50 y 100 mg/L y en *F. solani* una inhibición del crecimiento micelial de 89.88% a una concentración de 100 mg/L y de 88.77% a la concentración de 50 mg/L. Sin embargo, también se ha reportado que otras especies de *Fusarium* muestran diferente sensibilidad al fungicida metiltiofanato (Sandipan *et al.*, 2016).

También, Masiello *et al.* (2019), reportaron que este fungicida ocasionó en *F. graminearum*, *F. proliferatum* y *F. verticillioides* una inhibición del 100% del crecimiento micelial cuando se aplicó una concentración de 150 mg/L de metiltiofanato. De acuerdo con Petkar *et al.* (2017), *F. oxysporum f. sp. niveum* mostró alta sensibilidad hacia el fungicida metiltiofanato disuelto en acetona a una solución de 100 mg/L. Rekanović *et al.* (2010), reportaron que los aislamientos de *F. graminearum* mostraron mayor sensibilidad a los fungicidas benzimidazoles a partir de los 50 mg/L.

En otras evaluaciones las cepas del estado de Morelos (54,11 y 1) a las concentraciones de 5 y 10mg/L obtuvieron porcentajes de inhibición de 60.89-74.28% y 83.45-89.64% respectivamente y las cepas del estado de Michoacán (Potrero Llano 3A, Potrero Llano 2A y Parcela escolar) a las concentraciones de 5 y 10 mg/L obtuvieron porcentajes de inhibición de 63.83-72.8% y 88.97-96.81% respectivamente. Dar *et al.* (2013), reportaron que *F. oxysporum* tuvo una inhibición de crecimiento micelial de 48.5% a la dosis de 10 mg/L. López (2015), reportó también que *F. sacchari* a la dosis de 10 mg/L tuvo inhibición de crecimiento micelial de 100% y a la dosis de 5 mg/L tuvo inhibición de 93.91%, también reportó una inhibición del 76.39% en *F. solani* a la dosis de 10 mg/L y 66.27% a la dosis de 5 mg/L.

Para las concentraciones más bajas: 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 mg/L se obtuvieron porcentajes de inhibición muy bajos; para las cepas del estado de Michoacán (Potrero Llano 3A, Potrero Llano 2A y Parcela escolar) se registraron los porcentajes de 0-4.34% y para las cepas del estado de Morelos (54,11 y 1) se registraron porcentajes de 0-31.29%

En lo correspondiente a la evaluación *in vitro* de la inhibición de la germinación de conidios de *F. andiyazi* aislados de Morelos y Michoacán se determinó que ninguna de las concentraciones del fungicida evaluadas detuvo completamente la germinación. Para las cepas del estado de Morelos (54, 11 y 1) se obtuvieron

porcentajes de germinación de conidios de 70-95% para las dosis más bajas (0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1mg/L), se obtuvieron porcentajes de 58-88% y 50-84% para las dosis de 5 y 10 mg/L respectivamente y porcentajes de 32-56% y 24-46% para las dosis más altas de 50 y 100 mg/L respectivamente. Para las cepas del estado de Michoacán (Potrero Llano 3A, Potrero Llano 2A y Parcela escolar) se obtuvieron porcentajes de germinación de conidios de 75-90% para las dosis más bajas (0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1mg/L), se obtuvieron porcentajes de 57-74% y 50-66% para las dosis de 5 y 10 mg/L respectivamente y porcentajes de 44-56% y 39-46% para las dosis mas altas de 50 y 100 mg/L respectivamente. Masiello *et al.* (2019), reportaron inhibición de 37 a 78% de la germinación de los conidios de *F. graminearum*, *F. proliferatum* y *F. verticillioides* usando una concentración de 150 mg/L y observaron una inhibición del 100% aplicando una concentración muy alta del fungicida, 1500 mg/L. Además, se ha documentado que otros fungicidas benzimidazoles, benomyl y thiabendazol, tienen poco efecto sobre la germinación de los conidios de *F. solani* incluso a concentraciones de 500 mg/L (Murdoch y Wood, 1972), y esto se debe a que otros fungicidas no tienen un efecto inmediato sobre el mecanismo respiratorio que limite el proceso germinativo.

9. CONCLUSIONES

Los aislamientos de *F. andiyazi* del estado de Morelos (cepa 54, 11 y 1) mostraron sensibilidad hacia el fungicida metiltiofanato.

Los aislamientos de *F. andiyazi* del estado de Michoacán (capa Potrero Llano 3A, Potrero Llano 2A y Parcela Escolar) mostraron sensibilidad hacia el fungicida metiltiofanato.

La mayor sensibilidad de *F. andiyazi* del estado de Morelos y Michoacán se reportó a las concentraciones de 50 y 100 mg/L, ocasionando 100% de inhibición del crecimiento micelial.

La germinación de conidios de *F. andiyazi* del estado de Morelos y Michoacán mostró poca sensibilidad hacia el fungicida metiltiofanato, ya que ninguna concentración inhibió completamente la germinación.

10. PERSPECTIVAS

Evaluar las concentraciones 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 mg/L en plantas de caña de azúcar infectadas por *F. andiyazi*.

Realizar análisis del EC₅₀ para determinar la dosis letal media del fungicida metiltiofanato para *F. andiyazi* del estado de Morelos y Michoacán.

Evaluar *in vitro* otros fungicidas comúnmente utilizados por agricultores, para hacer futuras recomendaciones y evitar la resistencia por el metiltiofanato.

11. LITERATURA CITADA

- Avozani, A., Tonin, R. B., Reis, E. M., Camera, J. y Ranzi, C. (2014). *In vitro* sensitivity of *Fusarium graminearum* isolates to fungicides. *Summa Phytopathological*. 40(3): 231-247.
- Bedmar, F. (2011). ¿Qué son los plaguicidas? Informe especial sobre plaguicidas agrícolas. 21(122): 10-16.
- Booth, C. (1971). The genus *Fusarium*. Commonwealth Micological Institute. Surrey, England. 237.
- Campos, H. y Lugo, A. (2012). Manual de plantas y enfermedades en caña de azúcar para el Estado de Morelos. SAGARPA. 2-16.
- Chehri, K. (2011). Occurrence of *Fusarium* species associated with economically important agricultural crops in Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 5 (24). 4043-4048.
- CONADESUCA. (2015). Ficha técnica del cultivo de la Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum*). SAGARPA.
- Dal Prá, M., Tonti, S., Pancaldi, D., Nipoti, P. y Alberti, I. (2010). First report of *Fusarium andiyazi* associated with rice Bakanae in Italy. *Plant Disease*, 94(8): 1070. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-1070A>
- Dar, W. A., Being, M. A., Ganie, S. A., Shabir-u-Rehman y Razvi, S. M.. (2013). *In vitro* study of fungicides and biocontrol agents against *Fusarium oxysporum f. sp. pini* causing root rot of Western Himalayan fir (*Abies pindrow*). *Scientific Research and Essays*, 81(30): 1407-1412.
- Famster (2018). Ficha técnica fungicidas. Agroquímicos Versa.
- Flores, C. S. (1997). Las enfermedades de la caña de azúcar en México. Edit. Núñez. Córdoba, Veracruz, Mexico. 285.
- Fungicide Resistance Action Committee. (2019). Clasificación de fungicidas y bactericidas según el modo de acción. 12-13.
- Ghante, P. K., Apet, K. T., Kanase, K. M., Daunde, A. T. y Chavan, P. G.. (2019). *In vitro* efficacy of fungicides against *Fusarium oxysporum f. sp. udum* causing wilt disease of pogoenpea. *Journal of Pharmacology and Phytochemistry*, 8(1): 1927-1931.

- Hsuan, H., Salleh, B. y Zakaria, L. (2011). Molecular identification of *Fusarium* species in *Gibrella fujikuroi* species complex from rice, sugarcane and maize from Peninsula Malaysia. *International Journal Molecular Sciences*, 12(10): 6722- 6732. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms12106722>
- Leslie, J. F. y Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. 126-127.
- López, A. Y. M. (2015). Evaluación *in vitro* de fungicidas sobre especies de *Fusarium* causantes de la marchitez en caña de azúcar en el estado de Morelos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. 51-58.
- Madamia, A., Altawil, M., Naffa W., Volker, P. H. y Hawatt, M. (2013). Morphological and molecular characterization of *Fusarium* isolated from maize in Syria. *Journal of Phytopathology*, 161: 452-458. <https://doi.org/10.1111/jph.12085>
- Manners, J. G. (1994). *Introducción a la fitopatología*. Editorial Limusa. México. 200p.
- Marasas, W. F. O., Lamprech, S. C., Zeller, K. A. y Leslie, J. F. (2001). *Fusarium andiyazi* sp. nov, a new species from sorghum. *Micología*, 96(6): 1203-1210. DOI: 10.2307/3761681
- Martínez, F. E., Martínez J. P., Guillén, S. D., Peña, C. G. y Hernández, H. V. M. (2015). Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el Estado de Morelos. *Revista Mexicana de Micología*, 42. 33-43.
- Masiello, M., Somma, S., Ghionna, V., Lorieco, A. F. y Moretti, A.. (2019). *In vitro* and field response of different fungicides against *Aspergillus* and *Fusarium* species causing ear rot disease of maize. *Toxins*, 11(1), 11. doi:10.3390/toxins11010011
- Moretti, A. N. (2009). Taxonomy of *Fusarium* genus, a continuous fight between lumpers and splitters. *Proceedings of the Natural Academic of Sciences of the United States of America*. 117: 7-13.
- Murdoch, A. W. y Wood, R. K. S.. (1972). Control of *Fusarium solani* rot of potato tubers with fungicides. *Annals of Applied Biology*. 72: 53-62.

- Nelson, P. E., Toussoun, T. A. y Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press. 206p.
- OCDE/FAO (2017). Perspectivas Agrícolas 2017-2026. OCDE Publishing, París.
Tomada de internet: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-9-es
- Pérez, W. y Forbes, G. (2014). División de manejo integrado de cultivos. Tomada de internet: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/003862.pdf>
- Petkar, A., Langston, D. B., Buck, J. W., Stevenson, K. L. y Ji, P.. (2017). Sensitivity of *Fusarium oxysporum f. sp. niveum* to Prothioconazole and thiophanate-Methyl and gene mutation conferring resistance to Thiophanate-Methyl. *Plant Disease*, 101(2), 366-371.
- Petrovic, T., Walsh, J. L., Burgess, L. W. y B. A. Summerell. (2009). *Fusarium* species associated with stalk rot of grain sorghum in the northern belt of eastern Australia. *Australasian Plant Pathology* 38: 373-379.
<https://doi.org/10.1071/AP09011>
- Ramírez, M. (2008). Cultivos para la producción sostenible de biocombustibles: Una alternativa para la generación de empleos e ingresos. Módulo V: Caña de azúcar. Servicio Holandés de Cooperación al Desarrollo. 5-9.
- Rekanović, E., Mihajlović, M. y Potoćnik, I.. (2010). *In vitro* sensitivity of *Fusarium graminearum* (Schwabe) to Difenoconazole, Prothioconazole and Thiophanate-Methyl. *Phytomed*, 25(4): 325-333.
- SAGARPA. (2018). Atlas Agroalimentario 2012-2018. México. En línea. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018
- Salgado, G. S., Lagunas, E. L., Núñez, E. R., Ortíz, G. C., Bucio, L. A. y Aranda, I. E. (2013). Caña de azúcar: Producción sustentable. Colegio de Posgraduados. 527p.
- Sandipan, P. B., Solanki, B. P., Nital, N. P., Patel, R. L., Verma, P. D. y Desai, H. R.. (2016). Efficacy of different fungicides against dry rot pathogen of potato caused by *Fusarium sp.* under *in vitro* condition. *Agronomical Research in Moldova*. 4(168), 69-74.
Doi: 10.1515/cerce-2016-0037

- SIAP. (2017). Caña de Azúcar: Cierra cosecha 2017 con 56 millones de toneladas. En línea. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap>
- SIAP. (2018). La producción de caña de azúcar supera los 55 millones de toneladas en 2018. En línea. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap>
- Sevastos, A., Markoglou, A., Labrou, N. E., Flouri, F. y Malandrakis, A.. (2015). Molecular characterization, fitness and mycotoxin production of *Fusarium graminearum* laboratory strains resistant to benzimidazoles. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 128, 1-9.
Doi: 10.1016/j.pestbp.2015.10.004
- Sharma, D. D. K. y Arun K. . (2015). Efficacy of fungicides and antibiotics against spore germination and sporulation of *Fusarium moniliforme* Sheldon; causing pokkah boeng disease of sugarcane.. *Agriways*, 3 (2): 95-102.
- Suga, H., Nakajima, T., Tageyama, K. y Hyakumachi, M.. (2011). The genetic profile and molecular diagnosis of thiophanate-methyl resistant strains of *Fusarium asiaticum* in Japan. *Fungal Biology*, 115 (12): 1244-1250.
- Summerell, B. A., Salleh, B. y Leslie, J. F. (2003). A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Disease*, 87(2). 117-128.
- Torres, C. C., Tapia, R. R., Higuera, C. C., Martin, M. R., Nexticapan, G. y Pérez, B. D. (2015). Sensitivity of *Colletotrichum truncatum* to four fungicides and characterization of thiabendazole resistant isolates. *Plant Disease* 99: 1590-1595.
- Vishwakarma, S. K., Kumar, P., Nigam, A. y Kumar A. (2013). Pokkah Boeng: An emerging disease of Sugarcane. *Journal Plant Pathology Microbiology*, 4(3): 170.
Doi: 10.4172/2157-7471.1000170
- Viswanathan, R. y Malathi, P.. (2018). Biocontrol strategies to manage fungal diseases in sugarcane. *Sugar Tech*, 21 (2): 202-212.
- Wulff, E.G., Sorensen JL, Lubeck M, Nielsen KF, Thraner U. y Torp J.. (2010). *Fusarium spp.* associated with rice Bakanae: ecology, genetic diversity, pathogenicity and toxigenicity. *Environmental Microbiology*. 12: 649-657.

Yossen, V. E. y Conles, M. Y.. (2014). Eficacia de fungicidas *in vitro* para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. Revista Industrial y Agrícola de Tucumán, 98 (1): 19-25.

Cuernavaca, Morelos a 11 de mayo de 2021

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **MARTHA ELENA ESPIN REZA**, con el título del trabajo: **Sensibilidad de *Fusarium andiyazi* hacia el fungicida metiltiofanato (Benzimidazol)**.

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación de **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el artículo 33° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DRA. MA. DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA

SECRETARIO: DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

VOCAL: DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ

SUPLENTE: DR. GUADALUPE PEÑA CHORA

SUPLENTE: M. EN C. PATRICIA MARTÍNEZ JAIMES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

GUADALUPE PEÑA CHORA | Fecha:2021-05-10 14:40:41 | Firmante

WkLsk/6sOgu+gzfTAZbsfDndbBFLPHtyK6X0sjW+irsUcAFwLTn3b5JyD8mkMcRarvHUsNyQb0NvDWpNuhnrrOT4/ovKWps1nJn7FB42D5Vo7a5xHQzVRsR2PZ8BHC2ZF19cT
x93dnxw4L45MSW14LsG+hVTHmCEc3L2iFh9SBCfu64I5+4PgTc6JC8QNx2nPb4N+htmu4B9RPftq/KkgOdvYo/VmXnJ6AXj+vurS1eKd/nSV9nMZhmNOOzcOAV2jKN8jnFCc5
Ctw+GNTdWmZuevUVNk6ZwBaTH4syEDiHLZOrM08xCnWE1rqCh9d5EtR6UGDIhKhja6U2z2MZIQ==

PATRICIA MARTINEZ JAIMES | Fecha:2021-05-11 10:18:39 | Firmante

OBvUphCT7irHfw+Udt4WnmwGErh2E5U0rLSSIC97ire77Kq6oQdKNGVrrHti7FmxkfQs0fXU4DiTUxTNanrAsOwZ1Dorfkg9g6hRoTxixRsfRK1BxC5hyvgo8RBDxxuiEs3gWDHsn
cOWHjikT98U2g3+ZRsCpalAAybAzFMNcDMerNhsqJw7xcwqT7Cy/hGGA1paTW+bkvj+D8N4rDi0ndHRmEa8neQNIgxCBIJk7zX+/vBPdMY08cbgPHBhw1ou1nQ29WrOZ8kZk+
CAjVNG9SO7iMSg0buDY1iqn9ZTL+/2A+JjMBkW+0pBJDIV4J65hFRmR3CumDQck7E18icZw==

EDGAR MARTINEZ FERNANDEZ | Fecha:2021-05-11 11:59:11 | Firmante

GPMN2Lpmqd37igLZcE+GxT1m+G+nygv14AIEI2mqFVfqI44BDNZC5HpKTXiYaxOEmXYAYHHYx4JUbDbAcyQinusxgmRlv39PIHDkvlQOCNWU4hvFwuy/c1Tltq3+8XnT0hKu
aCT9b0C8i+YcEKmZBqW7FSVBF3NQMR1wg3l6Vzro7SQH7A/VKe26/C6Zv95HDIdQ9CCuYmNBhVRZg3qHypPyGijDp69/zoUTqsJR+/VEM++YT1eZ5dCaaX7p1V8PoTLxAtM+
ZIDGkQeLaMqNjUiaXWrxXnXUnHwvyjCuEE85fz5IAEZwtqZDb0QWkdcwhoEqUb1YjDDHUA+jhWcw==

MAURA TELLEZ TELLEZ | Fecha:2021-05-11 19:08:40 | Firmante

MaRMisTDYItA03DG+fkXj68r2JXgMPrxAr5g5c8MPTzxJEvOh951diuWMSHsweVRJBeDxaoCm2vvXePde668KQZYZICRTLSM/o5TmhyZ99qzGEd162qt9QZL7f5qVK1hMSZA0
5XUp687SzMNEluThdApe6bUqSotuVDMJ7ZG1HNzVzjs4+kHMRp5rC7HolUpHjdPCKr8VMbJQqjOYLDIjyldo+r04jk7TGbpbY4UUZ0PRuczxA5dRmdVCA32LrnUwIPTGwHvx
LG/QAZzhn5EyKWSFS3ZeX7v507ct302hoyXCdp5qNaefwdb9iXsb9DUe+bSWnCSk1TW9P94w==

MA DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA | Fecha:2021-05-11 20:46:50 | Firmante

I7YFniRYSKksKexsm9V/L+G19gMiV1Ncm3BFeWuilSaiGrp6olyQM3GC8roKSW7t/JBdmWGGs4i9pl4q9Cjx4bykdExinkpWxv3MYX1wFM+4nPKtVEk83aLSdSJ+zgnLS/vE0Lal5
E2ltFWiPWUBzie3F5oUPUeHP6J7qtU2TY6WkHY9h2OyCa1R5uNh7tEG05NiZDfmFuswPk6z9sYcC2168e7H39rG2tqFZYdIKegn43JouLwljnlwVLZ0i25qwwC0Ln2LpoOgzNFw
Vz1BLW6QwsJWM+8EBpXr0+3BLpebbk1zPcmngzGh7YfWF9dOslrjRDMQN5uSWkZf8TMzha==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



f893J7

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/xwT9HlkkHjk5MuMMXwWSpcHgTsrM1n3H>

