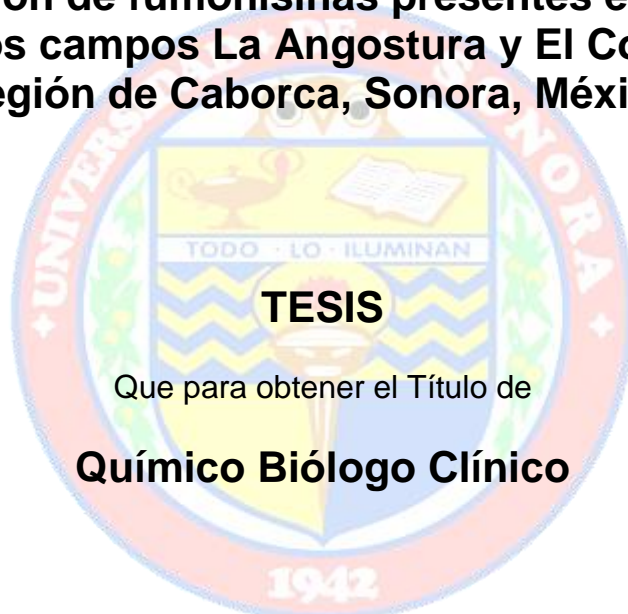


# UNIVERSIDAD DE SONORA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍA**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**

**Determinación de fumonisinas presentes en *Asparagus*  
spp. de los campos La Angostura y El Coyote de la  
región de Caborca, Sonora, México**



**TESIS**

Que para obtener el Título de

**Químico Biólogo Clínico**

Presenta:

**Maritza Gabriela León Guerrero**

Director: Dra. Dora Edith Valencia Rivera

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del Jurado designado para revisar el trabajo de Tesis de **Maritza Gabriela León Guerrero**, lo han encontrado satisfactorio y recomiendan que sea aceptado como requisito parcial para obtener el grado de Químico Biólogo Clínico, otorgado por la Universidad de Sonora, Unidad Regional Norte, Campus Caborca.

---

Presidente  
Dra. Dora Edith Valencia Rivera

---

Secretario  
M.C. Ramón Efraín Lugo Sepúlveda

---

Vocal  
Dr. Jesús Ortega García

---

Suplente  
Dra. Yolanda Flores Lara

## **DEDICATORIAS**

### **A Dios:**

Por haberme cuidado y guiado por el buen camino y permitirme llegar a una de las metas más importantes de mi vida; por haber aprendido de los errores y los obstáculos que se me presentaron y por hacerme tan feliz con lo que me ha dado: familia, amigos y compañeros.

### **A mis Papás:**

Porque han sido el ejemplo a seguir, por haberme guiado por este camino y no dejar que me rindiera antes de haber luchado, el haberlos tenido ustedes ha sido lo mejor que me ha pasado en este mundo. Siempre estaré eternamente agradecida con ustedes, los amo mucho.

### **A mis Hermanas y Hermano:**

Por haberme apoyado durante el transcurso de mi carrera tanto como emocional y económicamente, siempre estuvieron ahí para mí.

### **A mi Hijo:**

Quien ha sido mi mayor motivación para nunca rendirme y nunca renunciar, para poder ser un ejemplo para él.

### **A mi Esposo:**

Por estar a mi lado y apoyarme en este proyecto tan importante para mi futuro, aún sin saber nada del tema haces el esfuerzo para comprenderme.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la universidad de Sonora, campus Caborca por haberme albergado con cariño durante mi carrera, por darme la oportunidad de empezar a prepararme académicamente, por todas las enseñanzas que me transmitieron mis profesores y por haberme permitido obtener el arma más importante para luchar en el futuro de mi vida.

Le agradezco a la Dra. Dora Edith Valencia Rivera por creer siempre en mí y darme el apoyo y oportunidad para cumplir esta meta; estaré siempre agradecida con usted.

Al Dr. Jesús Ortega García y M.C. Efraín Lugo Sepúlveda por su apoyo incondicional y sus enseñanzas a lo largo de mi formación.

Mi agradecimiento a la Dra. Yolanda Flores Lara por permitirme ser parte de este proyecto.

A la Maestra Ana Laura Villa por brindarme conocimientos durante mi carrera y apoyarme con sus consejos, gracias.

Un agradecimiento muy especial a la M.C. Karla Martínez Robinson del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. de por todo el apoyo técnico que me brindo durante el desarrollo de esta investigación.

## CONTENIDO

	Página
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	ii
<b>LISTA DE TABLAS</b>	iii
<b>RESUMEN</b>	iv
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. ANTECEDENTES</b>	3
2.1. Espárrago	3
2.2. Cultivo de espárrago	5
2.3. Enfermedades del cultivo de espárrago	7
2.4. Género <i>Fusarium</i>	10
2.5. Fumonisinias y su impacto en la salud	12
2.6. El papel de <i>Fusarium</i> en el control biológico	12
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	14
<b>4. OBJETIVOS</b>	15
4.1. Objetivo General	15
4.2. Objetivos Específicos	15
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	16
5.1. Muestras	16
5.2. Producción de fumonisinias (micotoxinas) en condiciones <i>in vitro</i>	16
5.3. Extracción de fumonisinias	17
5.4. Análisis de micotoxinas por HPLC-FLD	17
5.5. Preparación de las curvas de calibración	18
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	19
<b>7. CONCLUSIONES</b>	25
<b>8. RECOMENDACIONES</b>	26
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b>	27

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1A. Parte subterránea de la planta de espárrago	4
1B. Tallo y helecho de una planta de espárrago	4
2. Cromatograma de HPLC-FLD de los estándares de fumonisinas: B1, B2 y B3.	21
3. Cromatograma HPLC-FLD de fumonisinas detectadas a una longitud de onda de excitación de 335 nm y 440 nm de emisión de fumonisinas extraídas del cultivo in vitro de <i>Fusarium oxysporum</i> .	22
4. Cromatograma HPLC-FLD de fumonisinas detectadas a una longitud de onda de excitación de 335 nm y 440 nm de emisión de fumonisinas extraídas del cultivo in vitro de <i>Fusarium proliferatum</i> .	23

## LISTA DE TABLAS

	Página
1. Cantidad de fumonisina B1, B2 y B3 producidas por cepas de <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Fusarium proliferatum</i> aisladas de espárrago ( <i>Asparagus Officinalis</i> L.) cosechado en Caborca, Sonora México.	24



## RESUMEN

En la actualidad, el espárrago es cultivado aproximadamente en 40 países, ocupando México el tercer lugar en producción. Las principales entidades productoras de este cultivo son Sonora, Guanajuato, Baja California Sur, Baja California Norte y Querétaro, de los cuales la mayor producción se concentra en el Estado de Sonora contribuyendo con el 62 % de la producción nacional. El espárrago es una planta herbácea perenne de la familia de las Liliáceas, que soporta factores climáticos extremos. Es un producto perecedero cuyo brote tierno denominado turión es considerado un alimento gourmet por su exclusivo consumo y sus altos precios. Entre los principales atributos de esta hortaliza se cuentan el ser un producto bajo en calorías, en grasa y colesterol, con alto contenido de vitaminas A, C, tiamina (B1) y riboflavina (B2), así como rico en potasio y en fosfato de calcio. Esta hortaliza es a menudo infectada por hongos del género *Fusarium* spp., un agente causal de la podredumbre de la corona y de las raíces, que disminuye la cantidad y calidad de los turiones. *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum* son los patógenos más agresivos reportados en los cultivos de espárragos, conocidos como productores de micotoxinas, principalmente fumonisinas y moniliformina; la presencia de esos compuestos en productos agrícolas causa gran preocupación, debido a los efectos que ocasionan en la salud cuando animales y humanos los consumen. El objetivo principal de este estudio fue identificar y cuantificar las fumonisinas (metabolitos secundarios) producidas por *Fusarium* spp. aislados de espárragos de la región de Caborca, Sonora. Para la producción de micotoxinas en condiciones *in vitro*, los hongos fueron cultivados en agar papa dextrosa enriquecido con espárrago y su extracción se llevó a cabo empleando una mezcla de acetoneitrilo:agua (1:1, v/v). Las muestras fueron analizadas mediante HPLC-FLD a una longitud de onda de excitación de 335 nm y 440 nm de

emisión. Se detectaron concentraciones de 1.5 µg/mL y 0.6 µg/mL, de FB1 y FB2, respectivamente para la cepa de *Fusarium oxysporum*; mientras que concentración para la cepa *Fusarium proliferatum*, se cuantificó 1.96 µg/mL de FB1 y 0.006 µg/mL de FB2. Las dos especies en estudio produjeron en condiciones *in vitro* mayor cantidad de fumonisina B1 en comparación de las otras dos fumonisinas identificadas (B2 y B3).

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la producción de espárrago a nivel mundial se ha considerado como una actividad en auge dado al incremento en su consumo, tratándose de un producto con un nivel preferencial en el mercado internacional. En la actualidad, el espárrago es cultivado aproximadamente en 40 países, ocupando México el tercer lugar en producción. El estado líder que domina un gran porcentaje de la producción nacional es Sonora, representando 62% del volumen total de la República Mexicana, este Estado noroccidental va seguido por Guanajuato, Baja California Sur, Baja California, y Querétaro, con porcentajes respectivos de 14 %, 12.6 %, 11.7 % y 1.6 % del total nacional. En México, la cosecha de este cultivo se desarrolla a lo largo del año, con picos de producción durante los meses de diciembre a abril; en estos cinco meses se obtiene más del 70 % de la oferta disponible para los mercados nacional y extranjero. El espárrago (*Asparragus officinalis* L.) es el principal cultivo de la región de Caborca, Sonora, México; ya que presenta buena rentabilidad debido a que tiene buena demanda en el mercado internacional; además, de que ocasiona gran derrama económica y generación de empleos (280 jornales/ha) para la zona durante todo el año, pero principalmente en tiempo de cosecha. El espárrago es una planta perteneciente a la familia de la *Liliaceae*, es un cultivo perenne comprendido dentro del género *Asparagus*; este género comprende más 100 especies originarias del sur de Europa, Asia y África, algunas de ellas con valor ornamental y solo una con valor hortícola (*Asparagus Officinalis* L.). El espárrago es un cultivo de larga vida que puede permanecer productivo por 15 a 20 años, debido a su condición de cultivo perenne, los microorganismos patógenos tienen mayores posibilidades de establecerse e interactuar con la planta, formando complejos de enfermedades que resultan difíciles de controlar. Uno de los principales problemas patológicos que limitan la producción y longevidad de las esparragueras en el mundo es la fusariosis, entre las especies de *Fusarium* spp. más frecuentemente asociadas con esta enfermedad se encuentran *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Fusarium moniliforme* J. Sheld., *Fusarium proliferatum* y en

menor proporción *Fusarium solani*, estos hongos son capaces de producir cantidades importantes de enzimas líticas y toxinas que contribuyen al proceso infeccioso. Entre las micotoxinas que sintetiza el género se hallan el ácido fusárico, la fusarina C, las naftoquinonas, la moniliformina y las fumonisinas; estas últimas son las más abundantes. La presencia de esos compuestos en productos agrícolas causa gran preocupación, debido a los efectos que ocasionan en la salud cuando animales y humanos los consumen. Con base al impacto de la toxicidad de las fumonisinas y a la importancia económica de la producción de espárrago en la región de Caborca, Sonora, resulta relevante el estudio de la identificación y caracterización química de los metabolitos secundarios (micotoxinas) producidos por los géneros de *Fusarium* que se encuentran parasitando los cultivos de esparragueros de la esta región.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Espárrago

El espárrago ha sido considerado un alimento de gran prestigio desde la antigüedad. Los primeros vestigios del espárrago aparecieron en forma de pinturas en los monumentos egipcios (3,000 A.C.). Eran dibujados atados en manojos con dos o tres ligaduras y en este caso parecían ser utilizados como ofrenda a los dioses (Fuentes-Alventosa, 2009). El espárrago es una planta dioica y perenne que pertenece a la especie *Asparagus officinalis* L. Es una planta de la familia de las Liliáceas (*Liliaceae*), originaria de la flora de las regiones de la cuenca del Mediterráneo. Está comprendida dentro del género *Asparagus*, el cual comprende más de 100 especies originarias del sur de Europa, Asia y África, algunas de ellas con valor ornamental y sólo *Asparagus officinalis* L. con valor hortícola (Gatti, *et al.*, 2003).

Como cultivo el espárrago se desarrolló posiblemente en la zona del Mediterráneo y se expandió hacia el noroeste de Europa en la época de los romanos; actualmente se cultiva en forma comercial en al menos 61 países. Se adapta a una gran diversidad de climas ambientales, tales como desérticos (norte de México, Perú), mediterráneos (ej. Chile central, California), marinos (ej. Sur de Chile, Nueva Zelanda, Inglaterra), temperados fríos (ej. Polonia), entre otros (Del Pozo, 1999).

La planta del espárrago está constituida por dos partes principales: la parte subterránea y la parte aérea. La parte subterránea está constituida por el rizoma y el sistema radical, que en conjunto forman lo que se denomina “corona”; el rizoma es un tallo modificado cuya función es unir el sistema radical y la parte aérea de la planta. En el rizoma se forman dos tipos de yemas vegetativas, ubicadas en el ápice de crecimiento de donde se desarrollan los turiones. El sistema radical posee dos tipos de raíces, las raíces principales que nacen directamente del tallo subterráneo y su función es la de acumular reservas para

la próxima producción de turiones y, las raicillas o pelos absorbentes nacen de las raíces principales y su función es la absorción de agua y elementos nutritivos (**figura 1A**). La parte aérea de la planta está compuesta por tallos erectos, ramos y hojas, los cuales constituyen el helecho (**figura 1B**); sobre el cual se desarrollan las flores y frutos (Del Pozo, 1999; Fuentes-Alventosa, 2009).

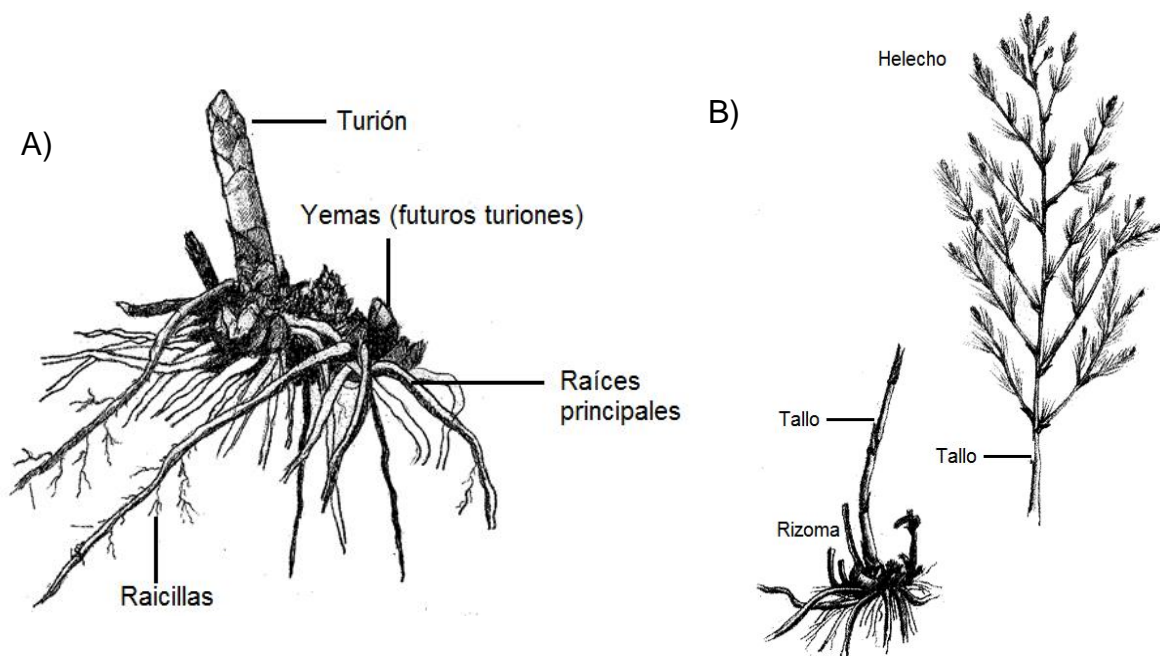


Figura 1. A) Parte subterránea de la planta de espárrago. B) Tallo y helecho de una planta de espárrago. (Modificada de: Del pozo 1999).

La hortaliza de consumo humano son los denominados turiones, estos son la parte comestible y comercializable de este producto. En base a las características de los turiones, los espárragos se clasifican en: espárrago verde y espárrago blanco. El espárrago verde o triguero, crece en contacto con la luz del sol y desarrolla la clorofila que aporta su color, este se recolecta cuando tiene una

longitud aproximada de unos 20/25 cm, el color de las yemas o puntas pueden variar de verdes o violetas. El espárrago blanco, se recolecta tan pronto como emerge de la tierra, por lo que, al no recibir la luz solar, no desarrolla el pigmento de la clorofila; son gruesos, carnosos, y firmes. Esta hortaliza es de sabor y textura muy suaves, con baja fibrosidad (hebras); además, su precio en el mercado, normalmente, suele ser más mayor por el laboreo y el modo de recolección manual (Perfeti, 1999). Las características organolépticas y los usos culinarios de cada tipo de espárrago son diferentes. El verde se caracteriza por tener mayor valor nutritivo, textura carnosa y firme, aroma más intenso y sabor ligeramente más dulce, mientras el blanco tiene un mayor contenido en azúcares y más fibra. Ambos tipos de espárragos son cultivados a nivel mundial, aunque tradicionalmente el tipo blanco se ha cultivado en China y Europa, mientras que el tipo verde en Estados Unidos y, dentro de Europa, el sur de la Península Ibérica (Fuentes-Alventosa, 2009).

El espárrago, además de ser una hortaliza muy apreciada por sus características organolépticas y nutricionales, se puede considerar un alimento de gran calidad funcional ya que contiene diversos fitoquímicos que le confieren una actividad biológica importante (Bast, 2005). Entre estos compuestos destacan los compuestos de tipo fenólicos, saponinas, esteroides, fructanos y polisacáridos de la pared celular. Estudios farmacológicos (Yu, *et al.*, 1996; Kamat, *et al.*, 2000; Wiboonpun, *et al.*, 2004) han demostrado que extractos de espárrago poseen diversas actividades biológicas, siendo de especial interés la capacidad antioxidante y la actividad antitumoral (Kongkaneromit, *et al.*, 2011; Almeddar, *et al.*, 2012).

## **2.2. Cultivo del espárrago**

Los cultivos esparragueros desde hace miles de años han sido utilizados por el hombre para su alimentación. Alejandro Magno lo introdujo en Grecia, en el siglo III antes de Cristo, desde entonces ha formado parte de la historia de la

agricultura de las civilizaciones de Europa siendo valorado por sus características culinarias, así como por sus propiedades medicinales. Hoy en día se ha convertido en un cultivo hortícola de gran importancia económica y social. De acuerdo a datos publicados por SAGARPA la producción de espárragos en México se ha triplicado en la última década, consolidando al país como el tercer productor a nivel mundial de espárragos. Las principales entidades productoras de este cultivo son Sonora, Guanajuato, Baja California Sur, Baja California Norte y Querétaro, de los cuales la mayor producción se concentra en el Estado de Sonora contribuyendo con el 62 % de la producción nacional. Es importante señalar que el espárrago es un cultivo perenne cuyo valor de la producción de una hectárea equivale a 25.5 hectáreas de maíz, de ahí su importancia económica para los productores (SAGARPA, 2017).

El espárrago se da en zonas con climas muy distintos; la planta soporta tanto los fríos invernales como los calores del verano, por lo cual, no existen problemas en su cultivo relacionados al régimen termométrico. Sin embargo, conviene señalar que necesita un amplio período de reposo vegetativo, provocado ya sea por el frío o bien por el calor. También es importante resaltar que los fríos intensos retrasan la precocidad, acortando el período de recolección (Japon, 1987).

A este tipo de cultivo le perjudica el exceso de agua, de manera contraria, una falta de ésta (en verano) provoca una fuerte disminución de la cosecha del año siguiente. En lo que se refiere a suelos, hay que tener en cuenta que, debido a que se trata de una planta que va a vegetar durante muchos años, debe cuidarse la elección del terreno, que debe ser permeable, profundo y de fácil recalentamiento. En cuanto al pH, el espárrago está clasificado como una planta ligeramente tolerante a la acidez, con valores de pH que pueden ir entre 6.0 y 7.5; tiene gran resistencia a la salinidad del suelo y del agua de riego; siendo uno de los cultivos de hortaliza que presenta más resistencia a la salinidad, pero aunque tolera una elevada conductividad eléctrica, se considera la posibilidad de que esta pueda ser causante de la disminución de longevidad del esparragal (Japon, 1987; González, *et al.*, 2006).



El ciclo vital de las plantas de espárrago verde puede ser subdividido en las siguientes fases: 1) crecimiento temprano (primeros dos años), caracterizados por un fuerte desarrollo vegetativo; 2) productividad creciente (3<sup>o</sup>-4<sup>o</sup> año) que corresponde a los dos primeros años de cosecha; 3) productividad estable (4<sup>o</sup>-12<sup>o</sup> año) y 4) productividad decreciente (12<sup>o</sup>-20<sup>o</sup> año) (Castagnino, *et al.*, 2014).

### **2.3. Enfermedades del cultivo**

Las plagas y enfermedades de los cultivos son una de las principales causas de pérdidas de cosechas y por ende de pérdidas económicas en la agricultura mundial. El problema se agrava en países en vías de desarrollo, como lo son la mayor parte de los países latinoamericanos, incluyendo a México. Al igual que la mayoría de las plantas de importancia agrícola, el espárrago es atacado por diversas plagas polífagas y/o infecciones específicas que causan daños de mayor o menor consideración. Debido a su condición de cultivo perenne, los microorganismos patógenos tienen mayores posibilidades de establecerse e interactuar con la planta, formando complejos de enfermedades que resultan difíciles de controlar. Los daños más importantes tienen lugar cuando los ataques por los patógenos se producen en los primeros estados vegetativos del cultivo, ya que estos ataques suelen disminuir a medida que la planta avanza en su desarrollo.

El cultivo del espárrago puede ser afectado por plagas, enfermedades y/o fisiopatías. Las afectaciones de los campos esparragueros por plagas están dada principalmente por: *Crioceris asparagi* L. y *Crioceris duodecempunctata* L., comúnmente conocidos como “crioceros del espárrago” (Morrison and Szendrei, 2014). Son coleópteros (escarabajos) de colores vistosos que realiza daños en los tallos, tanto su fase de adulto como de larva; esta plaga causa defoliación, viéndose mermado el vigor de la planta, especialmente durante el primer año de plantación; adicionalmente, las larvas segregan un líquido oscuro característico

que mancha la planta y hacen que esta plaga pueda provocar una importante depreciación de la cosecha.

Otra plaga que afecta de manera importante las plantaciones de espárrago es la “mosca del espárrago” (*Platyparea poeciloperta* Schr.), es un díptero específico del espárrago que suele infestar sobre los meses de abril y mayo. Es del tamaño de la mosca común, de cabeza roja, tienen el cuerpo de color gris oscuro, de unos 6 mm de longitud, las alas son transparentes con unas líneas longitudinales de color marrón oscuro. Las larvas colonizan en sentido descendente hasta llegar al rizoma y posteriormente inician la infestación en sentido ascendente hasta que se transforma en pupa, esto sucede cuando está muy cerca de la superficie y permanece en este estado (pupa) hasta que se inicia de nuevo su ciclo de vida. Estas pequeñas colonias dificultan el paso de la savia y provocan el decaimiento de los tallos aislados (Zamora, 1999). Asimismo, “la oruga del espárrago” (*Hypopta caestrum* Hbn.), representa otra de las plagas que amenaza los cultivos, sus larvas atacan a los brotes jóvenes y vacían las raíces dejando solamente la epidermis. “Los gusanos grises (*Agrotis* spp.), pulgones, y miriápodos (*Scuiterella immaculata* Newport.) (Japon, 1987) son de igual forma infestaciones que disminuyen la producción de espárrago y representa un problema para los agricultores.

En el espárrago como en cualquier cultivo pueden presentarse diversas fisiopatías, las cuales son originadas por la acción de fenómenos meteorológicos, disponibilidad de algún nutrimento, aplicación de moléculas inorgánicas tóxicas para los cultivos y/o condiciones edáficas restrictivas, etc. Estas alteraciones fisiológicas muy a menudo suelen confundirse con el ataque de agentes biológicos, debido a que en muchos casos presentan cierta similitud en los síntomas. Las principales fisiopatías que presentan las hortalizas de espárrago son: herrumbre fisiológica de los turiones o falsa roya, en las que aparecen estrías alargadas de color rojizo en los turiones las cuales se producen por una alteración metabólica en tiempo frío; el marchitamiento de brotes jóvenes, se observa cuando van a ramificarse y este puede ser causado por carencia de boro

o por deficiencias hídricas; y el rebrote otoñal, en otoños con condiciones favorables pueden producirse nuevos brotes que perjudican las reservas para los brotes del año siguiente (Del Pozo, 1999).

Dentro de las enfermedades causadas por patógenos que presentan las plantaciones de espárrago se encuentran la “roya del espárrago” y la “estemfiliosis”, ocasionadas por hongos que afectan la parte aérea del cultivo; y “el mal vinoso”, y la “fusariosis”, que se consideran enfermedades radiculares.

La “roya del espárrago” es causada por *Puccinia asparagi* DC. los daños están relacionados con la limitación del desarrollo de los órganos vegetativos de las plantas, lo que hace que no puedan sintetizar los elementos de reserva que constituirán la base de la producción del año siguiente, si los ataques son muy fuertes, la parte aérea se seca en pocos días; en plantaciones jóvenes aparecen unas manchas elípticas de color verde amarillento en la parte aérea, mientras que en plantaciones adultas aparecen unos abultamientos en los tallos, y posteriormente aparecen unas pústulas rojo pardo (Jhonson, 1986; Jhonson, 2012) .

*Stemphylium vesicarium* es el hongo responsable de la “estemfiliosis” en la hortaliza del espárrago, este hongo se desarrolla en condiciones climatológicas de humedad alta y temperaturas moderadas, entre los 18 y 25°C. La instalación del hongo se produce generalmente en las escamas secas del tallo principal en primer lugar y luego en las ramas secundarias; durante la primera etapa de la infección aparecen unos puntos negros y después aparecen unas manchas circulares u ovaladas, la planta va degenerando en coloraciones tostadas hasta que la parte aérea se queda totalmente despoblada. Los daños de esta enfermedad se traducen en la reducción de la superficie foliar, disminuyendo su actividad fotosintética, por lo que disminuye el rendimiento productivo de la campaña siguiente (Lacy, 1982; Cunnington and Irvine, 2005).

Otra infección común en los cultivos de espárrago es la conocida como “el mal vinoso”, este es producido por *Rhizoctonia violaceae*, el hongo se introduce en la

planta a través de las heridas cuyo origen pueden ser el laboreo del suelo u otras plagas; la infección se localiza en el rizoma y cuello del tallo, y se manifiesta por un recubrimiento de color rosado, que posteriormente cambia a morado. Las raíces quedan totalmente vacías y de color violeta y por lo tanto la planta queda sin reservas y sin capacidad de recuperarse ya que el sistema radical se descompone; algunos de los factores que favorecen el desarrollo de este hongo son los suelos ácidos y la falta de materia orgánica. El resultado de esta enfermedad radicular es la producción de turiones de pequeño calibre (Zamora, 1999; Celar and Valič, 2002).

Entre las especies de *Fusarium* spp. más frecuentemente asociadas con la enfermedad se encuentran *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Fusarium moniliforme* J. Sheld. y en menor proporción *Fusarium solani*. Estas especies son habitantes comunes del suelo, causan marchitamientos y pudriciones radicales, y se presentan en cualquiera de las etapas de desarrollo del cultivo (Quilambaqui-Jara, *et al.*, 2004). Entre los síntomas que produce son: amarillamientos, clorosis, marchitez, retardo en el crecimiento y decoloración de la corona, rizoma y raíces; ocasionando en algunos casos un colapso y una pudrición radical completa. Se puede presentar además una reducción en el número de tallos y ramas, con presencia de lesiones hundidas y necróticas y cuando este hongo afecta a los turiones, en cualquiera de las etapas de su crecimiento, estos muestran flacidez y marchitamiento (Quilambaqui, 2005).

#### **2.4. Género *Fusarium***

*Fusarium* es un hongo de distribución universal, que ha sido reportado como patógeno facultativo de numerosos hospederos, en los que se incluyen plantas, animales y humanos. Las especies del género *Fusarium*, son un importante grupo de agentes fitopatógenos que afectan a todo tipo de hortalizas, tanto anuales como perennes, árboles frutales, flores e incluso malezas. Este género comprende un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el

suelo y plantas que, debido a su capacidad de crecer a 37 °C, son considerados oportunistas. Además, pueden causar infecciones sistémicas en pacientes inmunocomprometidos, con una alta mortalidad, y algunas de sus especies producen toxinas que afectan al hombre y animales. De las más de 100 especies de *Fusarium* descritas, sólo algunas de ellas pueden considerarse patógenas para el humano, entre ellas destacan *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. verticilloides*, en orden decreciente de frecuencia (Tapia and Amaro, 2014).

Estos hongos pertenecen a la clase *Hyphomycetes*, este grupo se encuentra distribuido en diferentes regiones del mundo, particularmente en los trópicos; *Fusarium* comprende un amplio y diverso grupo de especies distribuidas a nivel mundial, frecuentemente aislados como saprofitos, en aguas, suelos y sustratos orgánicos en descomposición e insectos (Bohórquez and Díaz, 2010). Presentan conidios que le sirven para su propagación y dispersión a través del viento, agua, insectos etc. Las condiciones climáticas, más importantes para el desarrollo de las especies de *Fusarium* son: altas temperaturas en el rango de los 20-25° C, alta intensidad lumínica, elevada humedad relativa del ambiente (75-95%) y alta densidad de plantas (Alvarado, 2005).

Algunas especies del género *Fusarium* se comportan como fitopatógenos, causando el marchitamiento vascular y pudrición basal de una gran variedad de plantas, problemas que sufren cultivos de importancia económica. El espárrago es a menudo infectado por hongos de este género, un agente causal de la podredumbre de la corona y de las raíces, que disminuye la cantidad y calidad de los turiones. *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum* son los patógenos más agresivos reportados en los cultivos de espárragos, conocidos como productores de micotoxinas, principalmente fumonisinas y moniliformina (Waśkiewicz *et al.*, 2013).

## **2.5. Fumonisinias y su impacto en la salud**

Las fumonisinias son una familia de micotoxinas que contaminan principalmente al maíz y son producidas principalmente por los hongos *F. moniliforme* y el *F. proliferatum*, durante el cultivo. Estas micotoxinas fueron aisladas y descritas por primera vez en Sudáfrica en 1988 y de acuerdo con la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC por sus siglas en inglés), desde 1993 se encuentran catalogadas como posibles carcinógenos humanos (Grupo 2B). Existen 15 tipos de fumonisinias, agrupadas en cuatro categorías; las más conocidas son la FB1, FB2 y FB3, de las cuales la FB1 es la más tóxica y representa aproximadamente 70% de la fumonisina total. La producción de fumonisinias está influenciada por la variedad de semilla usada para el cultivo, por las diferentes formulaciones de fertilizantes, así como por las variaciones en las condiciones de almacenamiento y características ambientales como temperatura, humedad y precipitación (Torres-Sánchez and López Carrillo, 2010).

En humanos no existen estudios acerca del metabolismo y cinética de las fumonisinias. En animales de experimentación, una vez que ingresa al tracto gastrointestinal, la fumonisina se distribuye y elimina rápidamente en su forma original (80% en las heces y 3% en la orina). En el hígado y el riñón se encuentran bajas concentraciones y no existe evidencia de transporte transplacentario, lo que sugiere que el metabolismo endógeno y la exposición *in utero*, son improbables (WHO, 2002).

## **2.6. El papel de *Fusarium* en el control biológico**

Algunas especies del género *Fusarium* son benéficas en la agricultura y se han utilizado en el control biológico de ciertas enfermedades causadas por especies patogénicas, principalmente de aquellas pertenecientes a la especie *Fusarium oxysporum*. Algunas especies se han utilizado como micoherbicidas, por su potencial para destruir algunas malezas (Arbeláez, 2000).

En los últimos años se plantea el uso de algunos patógenos de plantas como ciertos hongos, los cuales pueden causar enfermedades en algunas malezas, debilitarlas y destruirlas. Estos hongos se conocen como micoherbicidas y, los que hasta el momento se han utilizado, tienen una alta virulencia y una gran especificidad en las malezas que pueden atacar (Templeton and Heiny, 1990). La aplicación de micoherbicidas se considera una alternativa más para el control biológico de malezas y de plantas no deseables. La especificidad de algunos de estos hongos, su gran efectividad y el menor daño ambiental que ocasionan, en comparación con los herbicidas químicos, hace que estos organismos sean, en algunos casos, más adecuados (Arbeláez, 2000).

El primer micoherbicida comercial utilizado fue el producto “De Vine”, el cual consiste en un concentrado líquido de esporas del hongo *Phytophthora palmivora* y se ha usado para el control de la maleza *Morrenia odorata* en cultivos de cítricos en el Estado de Florida Estados Unidos. Otro producto comercial es “Collego”, el cual se ha formulado con esporas del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* y se ha utilizado para el control biológico de la maleza *Aeschynomene virginica* en cultivos de arroz y de soya (Charudattan, 1991).

Otros ejemplos de micoherbicidas reportados son algunas especies de *Fusarium* y algunas formas especiales de *Fusarium oxysporum*. *Fusarium oxysporum* f.sp. *perniciosum* controla la maleza *Albizzia julibrissin*, *F. oxysporum* f.sp. *orthoceras* controla el lirio de agua (*Nymphoides orbiculata*), *Fusarium solani* controla *Cucurbita texana* e *Hydrilla verticillata*, *Fusarium roseum* controla *Cirsium arvense* e *Hydrilla verticillata*, *Fusarium laterilium* controla *Sida spinosa*, *Abutilon theophrasti*, *Ambrosia trifida* y *Anoda cristata* (Arbeláez, 2000).

### 3. JUSTIFICACIÓN

En el ambiente agrícola, las especies *Fusarium* han sido asociadas a la podredumbre de las raíces y corona del espárrago. En la región agrícola de Caborca, Sonora, esta pudrición es una enfermedad endémica del espárrago y tiene una gran importancia económica, ya que provoca incremento en costos, y una disminución en la producción y vida útil del cultivo. El espárrago de la región de Caborca es un cultivo de gran importancia socioeconómica, no solo a nivel regional sino también a nivel nacional. Es conocido que muchas especies de *Fusarium* spp. producen micotoxinas (fumonisinas) y que su naturaleza química varía de acuerdo a la especie, estas toxinas pueden movilizarse al tejido vegetal (parte comestible) por lo cual representa un riesgo potencial para el consumidor. Con base al impacto de la toxicidad de las fumonisinas y a la importancia económica de la producción de espárrago en la región de Caborca, Sonora, resulta relevante el estudio de la identificación, cuantificación y caracterización química de las micotoxinas producidas por los géneros de *Fusarium* que se encuentran parasitando los cultivos de espárragos de esta región.



## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo General

Identificación y cuantificación de fumonisinas (metabolitos secundarios) producidas por *Fusarium* spp. aislados de espárragos de los campos La Angostura y El Coyote de la región de Caborca, Sonora, México.

### 4.2. Objetivos Específicos

1. Reactivación de los aislamientos de *Fusarium proliferatum* y *Fusarium oxysporum* provenientes de los campos agrícolas La angostura y El Coyote, respectivamente.
2. Producción de fumonisinas en condiciones *in vitro*.
3. Extracción de fumonisinas a partir de cultivos de *Fusarium proliferatum* y *Fusarium oxysporum*.
4. Identificación y cuantificación de fumonisinas por HPLC-FLD.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Muestras

Se utilizaron dos aislamientos de hongos del género *Fusarium*, *Fusarium proliferatum* y *Fusarium oxysporum* provenientes de los campos esparragueros La Angostura y El Coyote, ubicados en la región de Caborca, Sonora. Una vez que los hongos fueron aislados e identificados por la Dra. Yolanda Flores Lara en el Laboratorio de Fitopatología y Nematología de la Universidad de Sonora (campus Caborca), los aislamientos fueron reactivados en caldo papa dextrosa y preservados en incubación para su inoculación en medio enriquecido con espárrago.

### 5.2. Producción de fumonisinas (micotoxinas) en condiciones *in vitro*

Para la producción de fumonisinas en condiciones de laboratorio se preparó un medio de cultivo enriquecido con espárrago. El vegetal fresco se lavó con agua destilada y se cortó en trozos de 1 cm de longitud aproximadamente, se colocaron 200 g de espárrago en un matraz de 500 mL; se adicionaron 15 mL de agua destilada y 18 g de agar papa dextrosa (APD), posteriormente se colocó un tapón de algodón y se dejó reposar durante 4 h. La mezcla fue esterilizada por 30 minutos a 121 °C y 15 Lb de presión, de manera subsiguiente se adicionaron 15 mL de agua destilada y se dejó reposar durante toda la noche. Después del periodo de reposo el medio enriquecido fue esterilizado por segunda vez bajo las mismas condiciones, este medio de cultivo fue reservado para ser inoculado por los aislamientos de *Fusarium proliferatum* y *Fusarium oxysporum*. Se inocularon los dos aislamientos utilizando una concentración de  $10^7$  conidios de cada uno de ellos, los cuales se incubaron por tres semanas a 25 °C con ciclos de 12 horas de luz-oscuridad agitándolos de dos a tres veces al día durante la primera semana. Después del periodo de incubación los cultivos se secaron a 55 °C en

estufa de calor (Thermo Scientific); una vez secos, fueron macerados y se conservaron para la extracción de las fumonisinas secretadas (Gallardo-Reyes, *et al.*, 2006).

### **5.3. Extracción de fumonisinas**

Para la extracción de las micotoxinas se tomaron 5 g del cultivo molido y se le adicionó 50 mL de una solución de metanol:acetona en proporción 1:1 (v/v, relación volumen:volumen) y se dejó en reposo 12 horas con la finalidad de remover los pigmentos. Posteriormente, se filtró con papel Whatman No. 4 y la muestra sólida se secó a 55 °C por 5 h en estufa (FALTA EL MODELO). A las muestras sólidas se le adicionaron 5 mL de acetonitrilo:agua (1:1, v/v) por gramo de muestra con la finalidad de extraer las fumonisinas; se dejó reposar por 3 h y posteriormente fue filtrado en papel Whatman No. 4. Un mL del filtrado se colocó en un tubo de ensaye y el solvente fue evaporado a 55 °C en baño de arena, finalmente se adicionó 1 mL de metanol grado HPLC y se conservó a -20 °C hasta su análisis (Gallardo-Reyes, *et al.*, 2006).

### **5.4. Análisis de micotoxinas por HPLC-FLD**

Para el análisis de HPLC se tomaron 100 µL de muestra y se les añadió 250 µL de OPA (o-ftalaldehído) se dejaron reaccionar 2 minutos para derivatizar la muestra, se agito en vórtex y 20 µL de esta mezcla se inyectaron al equipo de HPLC-FLD (Thermo Scientific modelo ACCELA 600 con detector de fluorescencia Ultimate 3000). Para la preparación del OPA se disolvieron 40 mg de OPA en 1mL de metanol y se adicionaron 5mL de tetraborato de sodio 0.1 M y 50 µL de 2-mercaptoetanol. Posteriormente, 20 µL de la solución derivatizada se inyectaron al sistema de cromatografía líquida de alta resolución. Como fase móvil se utilizó metanol:fosfato de sodio monohidratado 0.1 M en proporción 70:30 (v/v). La fase estacionaria utilizada en el sistema cromatográfico fue una

columna C18 fase reversa (150 x 4.0 mm<sup>2</sup> x 4.5 µm; Varian). La velocidad de flujo utilizada fue de 1.2 mL/min. Los derivados fluorescentes se detectaron a una longitud de onda de excitación de 335 nm y 440 nm de emisión (Gallardo-Reyes, *et al.*, 2006). La determinación la concentración de las fumonisinas se llevó a cabo mediante la ecuación de la recta usando el área bajo la curva.

### **5.5. Preparación de las curvas de calibración**

Se prepararon curvas de calibración a partir de una solución estándar de fumonisina B1 (FB1), fumonisina B2 (FB2) y fumonisina B3 (FB3), para lo cual se disolvieron 1 mg del estándar en 1 mL de acetonitrilo:agua (1:1, v/v); de la solución estándar se tomaron volúmenes de 5, 15, 25, 35 y 45 µL y de se les adicionó 250 µL de OPA para llevar acabo su derivatización. Finalmente, de las soluciones de concentración conocida que se generaron se tomaron 20 µL de cada una de ellas y se inyectaron al sistema HPLC-FLD y con los datos obtenidos se construyó la curva de calibración correspondiente (Gallardo-Reyes, *et al.*, 2006).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En distintas regiones se han identificado diversas especies de *Fusarium* como agentes etiológicos de las parasitosis del espárrago (Chenglan Lui, *et al.* 2005; Quilambaqui, *et al.* 2005), en la región esparraguera de Caborca, Sonora se han aislado e identificado varios géneros de *Fusarium*, encontrándose como especie predominante *Fusarium proliferatum* (datos en proceso de publicación, Dra. Yolanda Flores Lara, Universidad de Sonora), esta especie se aisló de muestras obtenidas de los campos Angostura, Candelaria y Los Pinos; mientras que del campo El coyote se aisló *Fusarium oxysporum*.

En este trabajo de investigación se utilizaron las cepas *Fusarium proliferatum* proveniente del campo la Angostura y *Fusarium oxysporum* aislada del campo El coyote. Ambos aislamientos fueron donados por la Dra. Flores Lara. Para la reactivación de los hongos se cultivaron en agar papa dextrosa enriquecido con espárrago fresco. Posterior a la reactivación de las cepas se procedió a la extracción de las fumonisinas de acuerdo a la descrito por Gallardo-Reyes y colaboradores en el 2006.

Las fumonisinas fueron identificadas y cuantificadas utilizando estándares comerciales (Sigma) de fumonisina B1, fumonisina B2 y fumonisina B3; las cuales se utilizaron debido a que estas están reportadas en la literatura como las principales micotoxinas producidas por diversas especies de *Fusarium* (Chenglan Lui, *et al.*, 2007). En la figura 2 se muestra el cromatograma de HPLC-FLD de los estándares de fumonisinas: B1, B2 y B3, obteniéndose tiempos de retención de 7.3 minutos, 18.5 minutos y 26.4 minutos para B1, B2 y B3, respectivamente.

En la figura 3 se observa el cromatograma obtenido por HPLC-FLD de fumonisinas detectadas a una longitud de onda de excitación de 335 nm y 440 nm de emisión correspondientes a las fumonisinas extraídas del cultivo *in vitro* de *Fusarium oxysporum*; en el cual se logra identificar por comparación relativa al tiempo de retención de los estándares B1, B2 y B3 la presencia de estos

metabolitos secundarios. Asimismo, en la figura 4 se muestra el cromatograma de HPLC-FLD de la muestra de extracción de fumonisinas producidas en condiciones de laboratorio por cultivo de *Fusarium proliferatum*. Como se puede observar se detectaron bajo las mismas condiciones experimentales que para los estándares, la presencia de B1, B2 y B3, los cuales se asignaron por comparación con el patrón cromatográfico y tiempo de retención de los estándares comerciales.

Para la cuantificación de las fumonisinas se utilizó la ecuación de la recta calculando el área bajo los picos. En la tabla 1 se muestran los valores de la cuantificación de fumonisinas producidas por *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum* en condiciones de laboratorio. Chenglan Lui y colaboradores en el 2005 analizaron 30 muestras de aislamientos de *Fusarium proliferatum* y encontraron que en promedio B1 se encontraban en una concentración de 123 ng/g y B2 35 ng/g, lo cual mantiene concordancia con nuestros resultados donde observamos mayor producción de B1 que de B2; no se tiene conocimiento de reportes de regiones de México.

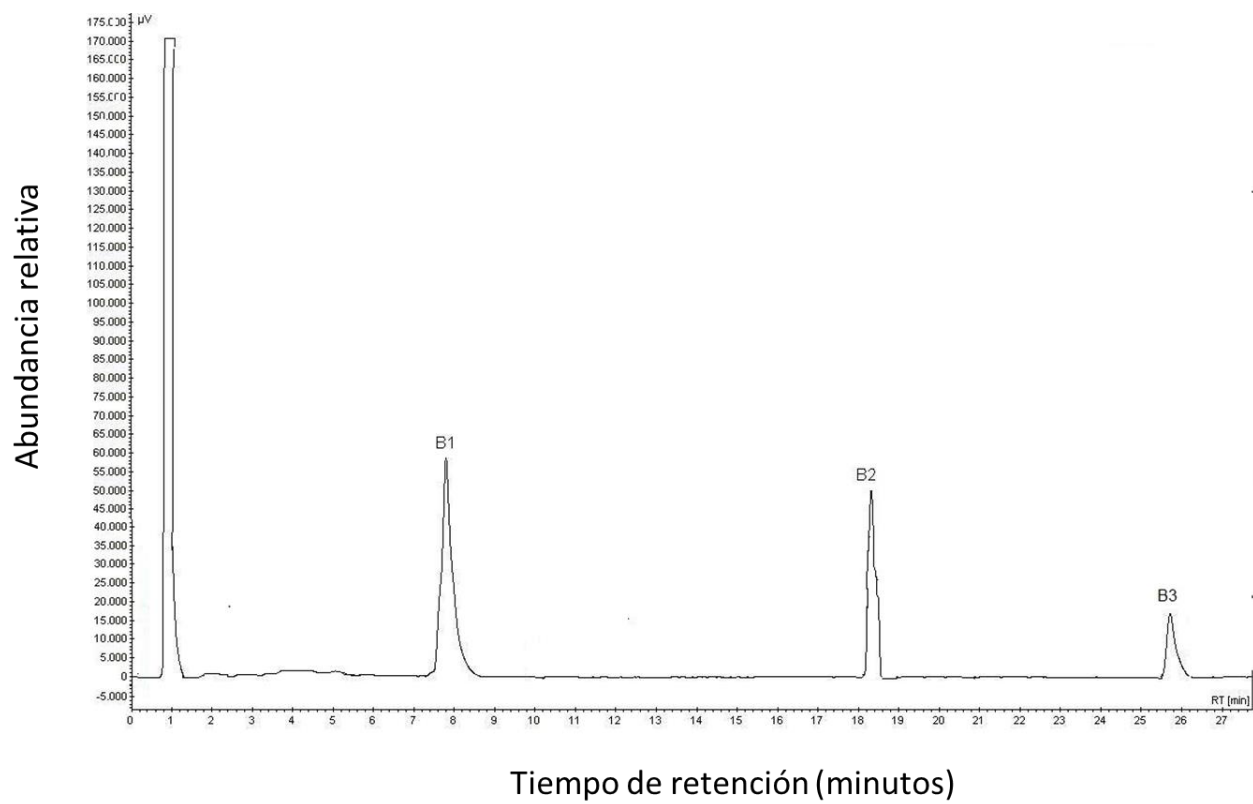


Figura 2. Cromatograma de HPLC-FLD de los estándares de fumonisinas: B1, B2 y B3.

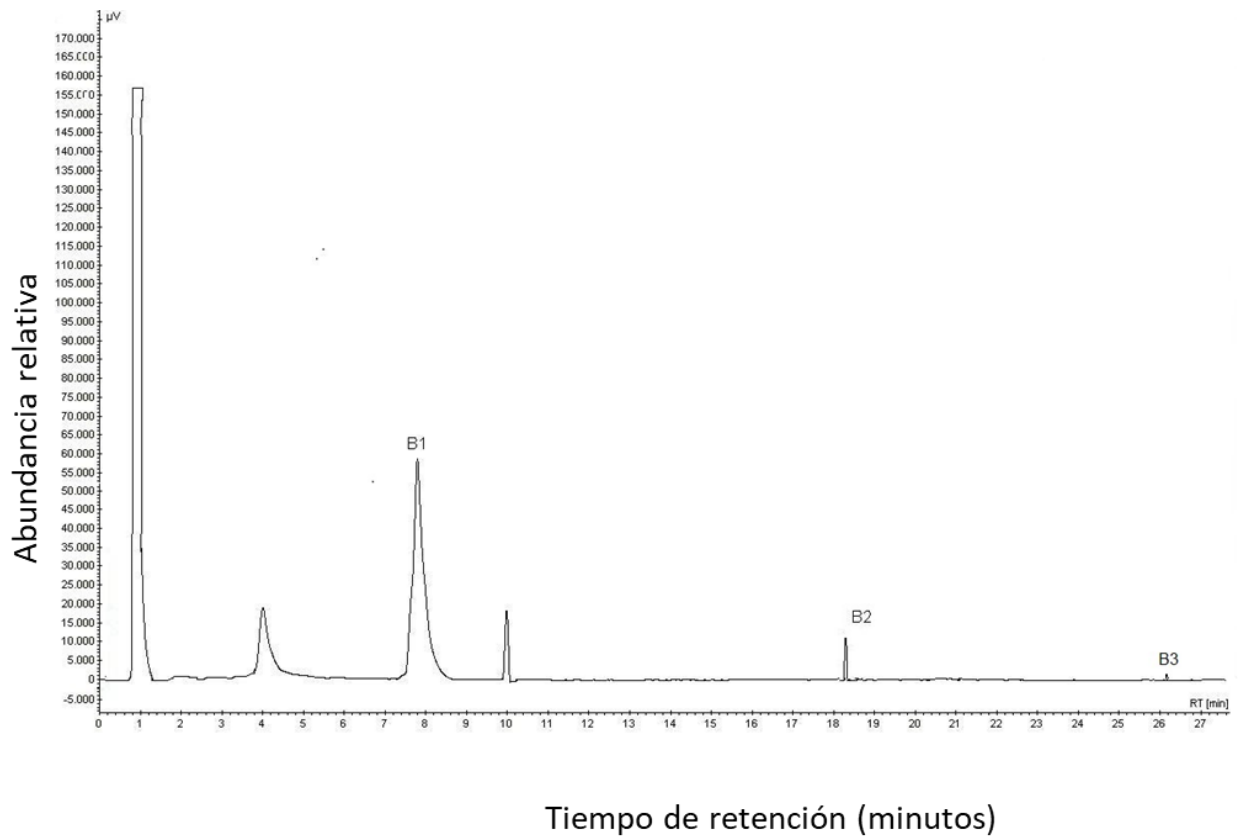


Figura 3. Cromatograma HPLC-FLD de fumonisinas detectadas a una longitud de onda de excitación de 335 nm y 440 nm de emisión de fumonisinas extraídas del cultivo *in vitro* de *Fusarium oxysporum*.



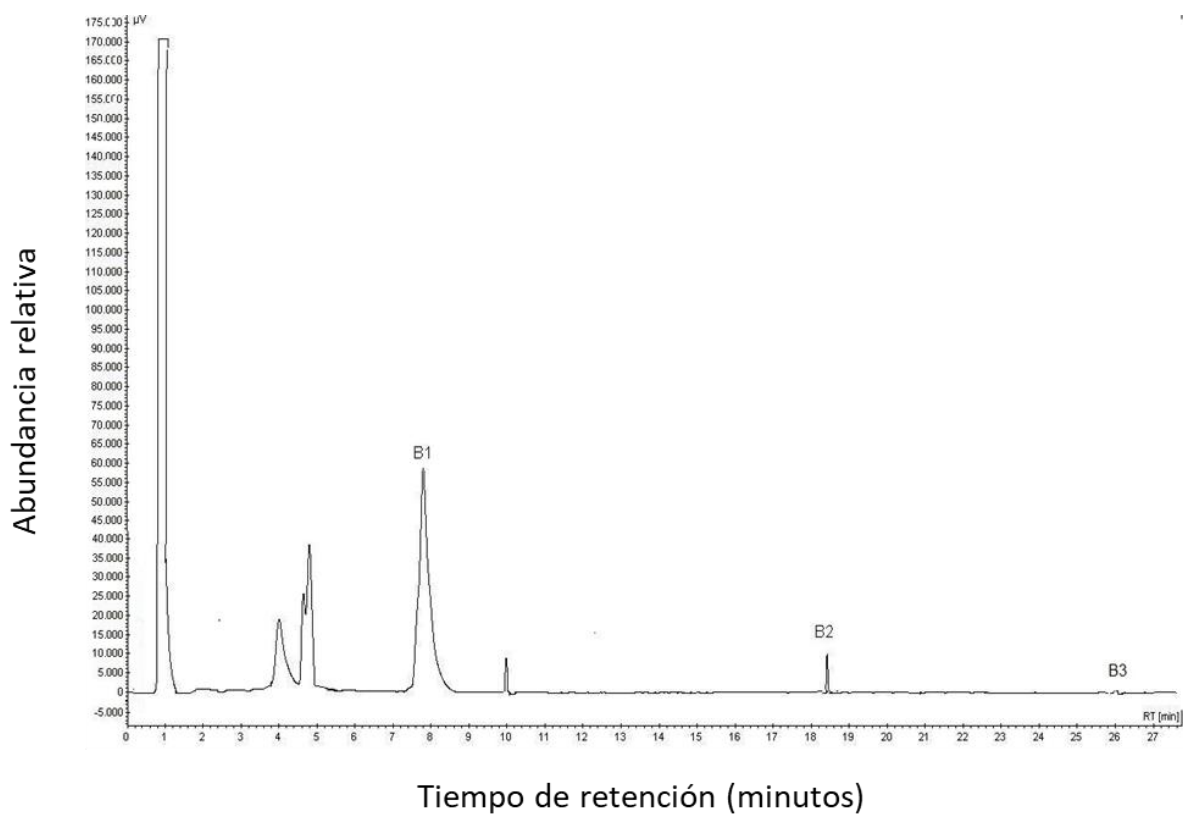


Figura 4. Cromatograma HPLC-FLD de fumonisinas detectadas a una longitud de onda de excitación de 335 nm y 440 nm de emisión de fumonisinas extraídas del cultivo in vitro de *Fusarium proliferatum*.

Tabla 1. Cantidad de fumonisina B1, B2 y B3 producidas por cepas de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum* aisladas de espárrago (*Asparagus Officinalis* L.) cosechado en Caborca, Sonora México.

<b>Fumonisin</b>	<b><i>Fusarium oxysporum</i></b>	<b><i>Fusarium proliferatum</i></b>
B1	1.57 µg/mL	1.96 µg/mL
B2	0.63 µg/mL	0.006 µg/mL
B3	ND	ND

ND.- No determinado

## 7. CONCLUSIONES

- En la presente investigación fue posible identificar y cuantificar las principales micotoxinas producidas por los géneros de *Fusarium* que se encuentran parasitando los cultivos de esparragueros de los campos La Angostura y El Coyote de la región de Caborca, Sonora, México.
- Las dos especies en estudio, *F. oxysporum* y *F. proliferatum* secretaron en condiciones de laboratorio fumonisinas B1 y B2, y en concentraciones no cuantificables por HPLC-FLD B3.
- Las dos especies en estudio produjeron en condiciones *in vitro* mayor cantidad de fumonisina B1 en comparación de las otras dos fumonisinas identificadas (B2 y B3).
- Asimismo, se detectaron otros metabolitos secundarios los cuales podrían ser identificados y cuantificados.

## 8. RECOMENDACIONES

- Optimizar el método de producción de fumonisinas *in vitro* con el objetivo de mejorar el rendimiento de esta producción.
- Optimizar el método de extracción de fumonisinas variando las condiciones de extracción.
- Realizar extracción de otro tipo de metabolitos (diferentes a fumonisinas).
- Llevar a cabo la identificación y cuantificación de las señales observadas en los cromatogramas con el objetivo de determinar metabolitos secundarios diferentes a B1, B2 y B3.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

Almehdar, H., Abdallah, H.M., Osman, A.M., Abdel-Sattar, E.A. 2012. In vitro cytotoxic screening of selected saudi medicinal plants. *Journal of Natural Medicines*. 66, 406-412.

Alvarado Almonacid Pilar Andrea. 2005. Tesis: Identificación de cepas patógenas de *Fusarium Link*. Causantes de nueva patología en el cultivo de calas de colores bajo condiciones productivas de invernadero en Chile. Universidad Austral de Chile.

Arbeláez Torres Germán. 2000. Some aspects of *Fusarium* genus and the *Fusarium oxysporum* species. *Agronomía Colombiana*. 17: 11-22.

Bast, A. 2005. Functional food of nutraceuticals. In: Proceedings of the XI International Asparagus Symposium. International Society for Horticultural Science. *Acta Horticulturae*.

Bohórquez Parra Luisa Fernanda y Díaz Torres Yulieth Katherin. 2010. Tesis: Evaluación de aislamientos de *Fusarium spp.* de diferentes orígenes, frente a factores de crecimiento asociados a patogenicidad. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Castagnino, A.M.\*, Díaz, K.E., Rosini, M.B., Marina, J. 2014. Productivity of a plantation of asparagus (*Asparagus officinalis* var. *Atilis*) initiated green seedlings over four growing seasons. *BIO CIENCIAS*. ISSN 2007-3380. 2(4): 271-281.

Celar, F. and Valič, N. 2002. Diseases of asparagus. *Sodobno Kmetijstvo*. 35(5):225-227.

Charudattan, R.1991. The mycoherbicide approach with plants pathogens. En D.Q. TeBeest (ed.). *Microbial control of weeds*. Chapman and Hall. New York. 24-57.

Chenglan Liu, Fengmao Liu, Wenna Xu, Andreas Kofoet, Hnas-Ulrch Humpf, and Shuren Jiang. 2005. Occurrence of fumonisins B1 and B2 in asparagus from Shandong province, P.R. China. *Food Additives and Contaminants*. 22(7): 673–676.

Chenglan Liu, Wenna Xu, Fengmao Liu and Shuren Jiang. 2007. Fumonisins production by *Fusarium proliferatum* strains isolated from asparagus crown. *Mycopathologia*.164:127–134.

Cunnington James H. and Irvine Gisele. 2005. Purple spot of asparagus caused by *Stemphylium vesicarium* in Victoria. *Australasian Plant Pathology*. 34: 421–422.

Del Pozo Alejandro. 1999. *El Cultivo Del Espárrago*. Capítulo 1 Morfología y funcionamiento de la planta. INIA. ISSN: 0717-4828.

Fuentes Alventosa. 2009. *Caracterización De Componentes Bioactivos Del Espárrago Verde: Obtención de Ingredientes Funcionales a partir de los Subproductos Generados Durante su Transformación Industrial*. Servicio De Publicaciones de la Universidad de Córdoba. ISBN-13: 978-84-692-9388-1.

Gallardo-Reyes Ema Doraly, Ibarra-Moreno Griselda Macrina, Sánchez-Mariñez Reyna Isabel, Cuamea-Cruz Guillermo, Molina-Gil David, Parra- Vergara Norma Violeta, Rosas-Burgos Ema Carina, Cortez-Rocha Mario Onofre. 2006. Micobiota de Maíz (*Zea mays* L.) Recién Cosechado y Producción de Fumonisina B1 por Cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 24 (1), 27-34.

Gatti, I., López Anido, F., Picardi, L and Cointry, E. Selección de Progenitores en Espárrago. *Horticultura Brasileira*, 21 (2):162-165.

González Castañón María Luisa, Eloísa Langa Sanz, Angel Arqued Bueno, Tomás Asensio Ferrerueta, Jesús Brosed Lahoz, José María Marcén Letosa, Manuel Martín Pascual y Antonio Seral Casorrán. 2006. Utilización del cultivo de

espárrago verde en bandas para el control de la erosión en terrenos de mediana pendiente. *Informaciones técnicas*. 174:1-8.

Japon Quintero José. 1987. Cultivo del espárrago verde. Hojas Divulgadoras del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1-20. I.S.B.N.: 84-341-0534-9.

Jhonson, Dennis A. 1986. Two components of slow-rusting in asparagus with *Puccinia asparagi*. *Phytopathology*. 76 (2):208-211.

Jhonson, Dennis A. 2012. Stability of Slow-Rusting Resistance to *Puccinia asparagi* and Managing Rust in Asparagus. *Plant Disease*. 96 (7): 997-1000.

Kamat J., Bolor K., Devasagayam P.A., Venkatachalam S.R. 2000. Antioxidant properties of *Asparagus racemosus* against damage induced by irradiation in rat liver mitochondria. *Journal. Ethnopharmacol.* 71, 425–435.

Kongkaneromit, L., Witoonsaridsilp, W., Peungvicha, P., Ingkaninan, K., Waranuch, N., Sarisuta, N. 2011. Antioxidant activity of antiapoptotic effect of asparagus *racemosus* root extracts in human lung epithelial H460 cells. *Experimental of Therapeutic Medicine*. 2, 143-148.

Lacy, M. L. 1982. Purple spot: a new disease of young asparagus spears caused by *Stemphylium vesicarium*. *Plant Disease*. 66 (12):1198-1200.

Morrison William R. and Szendrei Zsofia. 2014. The Common Asparagus Beetle and Spotted Asparagus Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Identification, Ecology, and Management. *Journal of Integrated Pest Management*. 5(3): 1-6.

Quilambaqui J. Miguel A. 2005. Aislamiento e Identificación de Especies de *Fusarium* spp Asociadas al Declinamiento del Espárrago (*Asparagus officinalis* L.) en Cinco Municipios de Guanajuato, México. *Revista Tecnológica ESPOL*. 18 (1):135-140.

Quilambaqui-Jara Miguel, Zavaleta-Mejía Emma, Mora-Aguilera Gustavo, Delgadillo-Sánchez Felipe, and Marín-Jarillo Antonio. 2004. Patogenicidad de Tres Especies de *Fusarium* Asociadas con el Declinamiento del Espárrago

(*Asparagus officinalis* L.) en Guanajuato, México. Revista mexicana de fitopatología. 22 (1):30-36.

SAGARPA. 2107. Fecha de publicación. Querétaro Qro., lunes 30 de enero de 2017.

<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/queretaro/boletines/Paginas/2017b011.aspx>

Tapia Cecilia and Amaro José. 2014. Género *Fusarium* (Retrato microbiológico). Revista Chilena de Infectología. 31 (1): 85-86.

Templeton, G.E. and Heiny, D.K. 1990. New directions in biological control. Alternatives for suppressing agricultural pest and diseases. Mycoherbicides. p. 279-286.

Torres-Sánchez Luisa and López-Carrillo Lizbeth. 2010. Fumonisin intake and human health. Salud Publica Mex. 52:461-467.

Waśkiewicz Agnieszka, Irzykowskab Lidia, Bocianowskic Jan, Karolewskib Zbigniew, Weberb Zbigniew and Piotr Golińskia. 2013. Fusariotoxins in asparagus – their biosynthesis and migration. Food Additives and Contaminants: Part A. 30 (7): 1332–1338.

Wiboonpun, P., Phuwapraisirisan, P., Tip-pyang, S. 2004. Identification of antioxidant compound from *Asparagus racemosus*. Phytotherapy Research. 18, 771-773.

World Health Organization. 2002. Evaluation of certain mycotoxins in food. Fifty-sixth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA). WHO technical report 906: 16-2.

Yu, S., Chee-Kok, C., Chi-Tang, H., Wei, M., Garrison, S.A. Ho, C. Huang, M.-T. 1996. Anti-tumor activity of the crude saponins obtained from *Asparagus*. Cancer Letters. 104, 31-36.



Zamora Camarillo Marco Antonio.1999. Tesis: Principales plagas y enfermedades en el cultivo del espárrago (*Asparagus officinalis* L.). Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.