



Scientia Agropecuaria

Web page: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo

RESEARCH ARTICLE



Characterization of *Fusarium* species that affect the asparagus crops cultivation in Veracruz, Mexico

Caracterización de especies de *Fusarium* que afectan al cultivo de espárrago en Veracruz, México

Jennifer Andrea Sierra-Moya¹ ; César Espinoza² ; Oswaldo Guzmán-López³ ; Ángel Trigos² ; Alejandro Salinas-Castro² * 

¹ Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, Barrio Santa Helena Parte Alta Cl 42 1-02, Ibagué. Colombia.

² Centro de Investigación en Micología Aplicada. Universidad Veracruzana. Médicos No. 5, Unidad del Bosque, 91010, Xalapa, Veracruz. México.

³ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Avenida Universidad km 7.5 Coatzacoalcos, Veracruz. México.

* Corresponding author: asalinas@uv.mx (A. Salinas-Castro).

Received: 5 July 2022. Accepted: 21 November 2022. Published: 15 December 2022.

Abstract

Asparagus cultivation is highly profitable and is appreciated in international gourmet cuisine. In Mexico, the production of this vegetable is mainly for export, in the state of Veracruz it has been recently introduced. The objective of the research was to characterize by morphology, molecular techniques and pathogenicity test the *Fusarium* species isolated from symptomatic tissues of asparagus shoot. A directed sampling was carried out on plants that showed rot, wilting and dark brown spots. Fungal isolates were obtained from diseased shoots, which were disinfected and seeded on potato dextrose agar. Isolates were purified in monospore cultures by hyphal tip. Four species of *Fusarium* were identified by taxonomic morphology, in a selective carnation leaf agar medium, then pathogenicity tests were carried out, complying with Koch's postulates. Next, the strains that were pathogenic were characterized by molecular techniques, and their identity as *Fusarium oxysporum* and *Fusarium proliferatum* was confirmed. The information obtained allows the implementation of appropriate management strategies for pathogenic species and thereby avoids economic losses in the short, medium, and long term in the asparagus crop.

Keywords: Fusariosis; Identification; Pathogenicity; Shoot; Molecular characterization; Morphometric characterization

Resumen

El cultivo de espárragos es altamente rentable, y es apreciado en la gastronomía gourmet internacional. En México la producción de este vegetal es principalmente de exportación, en el estado de Veracruz es de reciente introducción. El objetivo de la investigación fue caracterizar por morfología, técnicas moleculares y pruebas de patogenicidad las especies de *Fusarium* aislados de tejidos sintomáticos de turiones de espárrago. Se realizó un muestreo dirigido en plantas que presentaban pudrición, marchitez y manchas de color marrón oscuro. Los aislamientos fúngicos se obtuvieron a partir de turiones enfermos, que fueron desinfectados y sembrados en papa dextrosa agar. Los aislamientos se purificaron en cultivos monospóricos por punta de hifa. Se identificaron cuatro especies de *Fusarium* por morfología taxonómica, en medio selectivo agar hoja de clavel, luego se realizaron pruebas de patogenicidad cumpliendo con los postulados de Koch. En seguida se caracterizaron por técnicas moleculares a las cepas que resultaron patógenas, y se corroboró su identidad como *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum*. La información obtenida permite implementar estrategias de manejo apropiadas para las especies patógenas, y con ello evitar pérdidas económicas a corto, mediano y largo plazo en el cultivo de espárrago.

Palabras clave: Fusariosis; Identificación; Patogenicidad; Turiones; Caracterización molecular; Caracterización morfométrica.

DOI: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.031>

Cite this article:

Sierra-Moya, J. A., Espinoza, C., Guzmán-Lopez, O., Trigos, Á., Salinas-Castro, A. (2022). Caracterización de especies de *Fusarium* que afectan al cultivo de espárrago en Veracruz, México. *Scientia Agropecuaria*, 13(4), 343-349.

1. Introducción

En México los principales estados productores de espárragos son Sonora, Guanajuato, Baja California Sur y Baja California, en el 2021 se sembraron un total de 37,489.40 ha, de ellas 22, 073.80 ha fueron para

exportación con un valor de \$8, 414,014.56 (SIAP, 2022). En Veracruz es de reciente introducción.

Una de las enfermedades de importancia mundial que afecta a cultivos agrícolas es la fusariosis, conocida también como podredumbre de raíces y corona (Elmer & Pignatello, 2001; Quilambaqui et al., 2004; Borrego-

Benjumea et al., 2014). Se ha reportado que el cultivo de espárrago es susceptible al ataque de microorganismos del género *Fusarium* (Corpas-Hervias et al., 2006; Hu et al., 2021), que causa importantes pérdidas económicas por las afectaciones en el rendimiento y producción (Mašková et al., 2021). Las especies reportadas en México son *Fusarium oxysporum* Schldtl (1984), *Fusarium moniliforme* Sheldon (1904) y *Fusarium solani* Mart. (1842) (Quilambaqui et al., 2004; Quilambaqui & Miguel, 2005), que producen síntomas como clorosis, amarillamiento, marchitez, decoloración de la raíz, podredumbre, lesiones de color castaño en la superficie de tallos, raíces y disminución en el tamaño de los turiones (Quilambaqui & Miguel, 2005; Corpas-Hervias et al., 2006; Kato-Noguchi et al., 2017). Estos patógenos se presentan en cualquier etapa del desarrollo del cultivo, lo que se asocia a factores de edad, temperatura, estrés y un mal manejo agrícola (Parikh et al., 2018). El cultivo de espárrago en áreas donde no se cultivaba, pueden ser susceptibles a plagas y enfermedades endémicas (Dietzel et al., 2019; Ristaino et al., 2021), por lo tanto, se debe realizar estudios de identificación de especies de *Fusarium* para su posterior manejo (Arie, 2019).

El objetivo de la investigación fue caracterizar por morfología, técnicas moleculares y pruebas de patogenicidad las especies de *Fusarium* aislados de tejidos sintomáticos de turiones de espárrago.

2. Materiales y métodos

2.1 Área de estudio y muestreo

Se realizó un muestreo dirigido a 40 plantas de espárrago de cuatro años de edad en febrero 2020 y abril 2021, en una superficie de cuatro hectáreas, ubicada en Perote, Veracruz, México a una altitud de 2358 m.s.n.m, con coordenadas geográficas 19°37'34.2" N, -97°14'53.6" O. Se cortaron turiones con síntomas característicos de daños causados por hongos. Las muestras se almacenaron en bolsas de plástico y refrigeraron a 4 °C.

2.2 Aislamiento y purificación de los hongos

Se recolectaron raíces, tallos y turiones, y se cortaron en pequeños cilindros de tamaño de tres milímetros, fueron desinfectados de acuerdo con Hernández et al. (2011), se realizaron enjuagues, uno con agua corriente, dos con NaClO al 2% y dos lavadas con agua destilada estéril, cada uno durante un minuto. Para el crecimiento y desarrollo del hongo, el tejido vegetal fue colocado en cajas de Petri con agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a 25±2 °C durante cinco días o hasta observar crecimiento micelial. De cada aislamiento fúngico, se obtuvieron cultivos monospóricos, luego se tomaron con un asa bacteriológica cinco porciones de 0,5 cm² de micelio crecido en PDA, el cual se resuspendió en 5 ml de agua estéril y se agitó por un minuto para posteriormente realizar diluciones seriadas de las esporas (10⁻¹ a 10⁻⁶) en placa vaciada en PDA, se incubó a 25 ± 2 °C hasta observar crecimiento micelial (Cañedo & Ames, 2004). En seguida se aislaron las colonias y se observó que las cepas estuvieran purificadas.

2.3 Caracterización morfológica y morfométrica

Con agar hojas de clavel (CLA) se estimuló la producción

de macro y microconidios, las hojas se maceraron con agua destilada en un mortero, se filtraron a través de una gasa, se agregó agar (15 g/L) y se esterilizó. Se colocó un cuadro de un cm² de cada cultivo purificado y se incubó por doce días a 27± 2 °C. La identificación taxonómica se realizó con base en la morfología de fíalides, micro y macroconidios (Leslie et al., 2006). Para la caracterización morfométrica, se realizaron 50 mediciones de cada una de las estructuras identificadas (macroconidios, microconidios, monofíalides) calculando la media aritmética.

2.4 Pruebas de patogenicidad

Para realizar los postulados de Koch se utilizaron turiones de espárragos sanos en un estado de madurez fisiológica, los cuales se desinfectaron de acuerdo con lo descrito por Hernández et al. (2011). Los turiones de 20 a 25 cm de largo se inocularon con cada una de las especies aisladas de *Fusarium*; para esto, se hizo un cultivo previo en medio PDA y a los siete días de edad se inocularon en cada pedazo de turión, se hicieron pequeñas heridas superficiales con un bisturí estéril, y se colocó un trozo de agar con micelio del hongo (5 mm aprox.) en la parte apical y basal de cada turión. Todas las especies de *Fusarium* fueron inoculadas por triplicado y un control sin inocular. A continuación, se colocaron en recipientes de polietileno con tapa hermética se colocaron toallas absorbentes humedecidas con agua destilada estéril, para generar una humedad relativa cercana al 80% y se incubaron a 25 ± 2 °C. Después del periodo de incubación se observó crecimiento, signos y síntomas característicos de daños causados por las especies de *Fusarium* a las 48, 72, 96 y 144 h. Finalmente, se aislaron los hongos que aparecieron en las lesiones inducidas en los tratamientos de turiones, con el fin de corroborar que las características morfológicas en medio PDA y CLA coincidieran con el agente causal.

2.5 Caracterización molecular de las especies patógenas

La extracción de ADN se realizó según el método descrito por Möller et al. (1992). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se logró mediante una reacción de amplificación con volumen final de 50 µL que contenía: 1X de buffer de PCR, 3 mM de MgCl₂, 200 µM de dNTP'S, 0,4 pM de iniciador ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3'), 0,4 pM de iniciador ITS4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3'), 2,5 U de Taq Polimerasa, agua libre de nucleasas grado molecular 31,5 µL y 50 ng de ADN. Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C por 45 s, 53 °C por 30 s y 72 °C por 90 min y una extensión final a 72 °C por 10 min. Los amplificados se purificaron con el kit Wizard (Pro-mega®, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante y fueron secuenciados en un secuenciador (Applied Biosystems, modelo 391). La búsqueda de la similitud de las secuencias de ADN se desarrolló por medio del programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), y se compararon con las secuencias del GenBank. Las secuencias se alinearon con el algoritmo ClustalW del software MegAlign de Mega 6 (Tamura et al., 2013). Los árboles filogenéticos fueron construidos usando el algoritmo de máxima verosimilitud (K2+G) del software Mega 6, con un bootstrap de 1000 réplicas.

3. Resultados y discusión

3.1 Aislamientos fúngicos y sintomatología

La sintomatología observada en las plantas enfermas de espárrago, como pudrición, amarillamiento y marchitez (Figura 1), coincide a lo reportado por Fusariosis (Schreuder et al., 1995; Corpas-Hervías, 2016). De las 40 plantas que se muestrearon, se obtuvieron 50 aislamientos que pertenecieron al género *Fusarium* caracterizados con base en sus estructuras microscópicas (Leslie et al., 2006).

3.2 Identificación morfológica y morfométrica

La identificación de los 50 aislados se agruparon en cuatro tipos de especies que coincidieron con la descripción de *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. graminearum* y *F. avenaceum*. Para *F. oxysporum* se observó una colonia con micelio aéreo de color blanco y pigmentación rosa en el reverso de la colonia y bordes irregulares en medio PDA (Figura 2. 1 y 2). En medio CLA se observaron macroconidios agrupados en esporodocios de color amarillo claro, los cuales tenían células apicales con ganchos, célula basal en forma de pie bien desarrollada, con 3 septos y con promedio de 27 μm de largo por 3 μm de ancho (Figura 2A). Abundantes clamidosporas grandes esféricas, de pared gruesa, agrupadas en pares o en cadenas (Figura 2B). Monofialides cortas en forma de botella de tamaño aproximado de 13 μm de largo (Figura 2C). Microconidios, agrupados en falsas cabezuelas, de forma ovalada con un largo entre 7-10 μm , y con un ancho de 3 μm , sin septos (Figura 2D); los datos de morfometría corresponden a lo descrito por Arbeláez (2000).

Para el caso de *F. proliferatum*, la colonia presentó micelio aéreo algodonoso de color blanco y por el reverso pigmentación color durazno (Figura 3. 1 y 2). En medio CLA se observaron microconidios ovalados, sin septos y con un tamaño promedio de 6 μm de largo por 2 μm de ancho, unidos en cadenas cortas (Figura 3A). Forma pseudoclamidosporas (Figura 3B). Los macroconidios son delgados con 43 μm de largo por 1 μm de ancho, con

célula apical curva y célula basal poco desarrollada (Figura 3C). Monofialides largas con un tamaño que oscila entre 20-40 μm de largo y 2 μm de ancho, con ausencia de polifialides (Figura 3D). Los datos morfométricos se ajustan a lo reportado por Martínez et al. (2015).

Para *F. graminearum* se observó micelio aéreo, algodonoso, blanco, con un halo amarillo y otro blanco. Al reverso fue de color naranja, con halo marcado de color marrón y bordes amarillos. Se observaron abundantes macroconidios con 3 a 5 septos, delgados, con célula apical en forma de gancho y con un tamaño entre 27 a 45 μm de largo por 2 μm de ancho. Presencia de abundantes esporodocios de color naranja en medio CLA; clamidosporas intercalares, globosas; monofialides cortas y medianas, con un promedio de 25 μm de largas; microconidios ausentes. Con respecto a *F. avenaceum*, ésta presentó micelio algodonoso blanco, con halo amarillo y borde irregular, al reverso fue amarillo con borde blanco. Abundantes macroconidios, delgados, curvos, con célula basal en forma de pie, agrupados en esporodocios de color amarillo claro en medio CLA. Su tamaño va entre 50 a 68 μm de largo. Hay presencia de clamidosporas intercalares, monofialides cortas y microconidios ovalados, sin septos con un tamaño de 5 μm .

3.3 Pruebas de patogenicidad

En las pruebas de patogenicidad, de las cuatro especies de *Fusarium* spp. asociadas al cultivo de espárrago, sólo las especies *F. oxysporum* y *F. proliferatum* indujeron crecimiento micelial algodonoso de color blanco y sintomatología de marchitez de la parte inferior de la planta después de las primeras 48 h de incubación (Figura 4A y 4E), respectivamente. Comparado con el testigo, el cual no presentó crecimiento de micelio. Con respecto al cultivo de *F. oxysporum*, a las 144 h se desarrolló pudrición húmeda en los turiones (Figura 4D), mientras que con el cultivo de *F. proliferatum*, en el mismo tiempo el hongo colonizó el resto del turión lo que provocó su deshidratación (Figura 4H).



Figura 1. Espárragos colectados con síntomas característicos de Fusariosis.

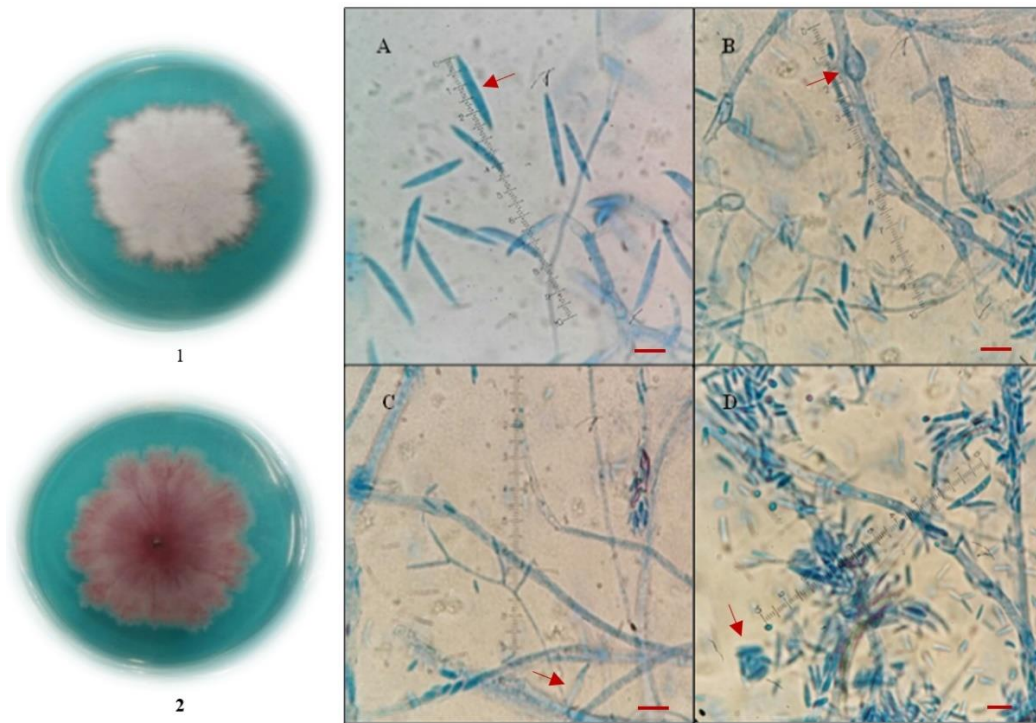


Figura 2. Colonia de *F. oxysporum* en medio PDA incubada a 25 ± 2 °C durante 7 días. **1.** Vista de frente. **2.** Vista de reverso. Estructuras microscópicas a 100x de *F. oxysporum* desarrolladas en medio CLA incubada a 25 ± 2 °C durante 7 días. **A.** Macroconidios. **B.** Clamidosporas, **C.** Monofialides cortas en forma de botella. **D.** Microconidios, algunos agrupados en falsas cabezuelas. Las barras de escala representan 10 μ m.

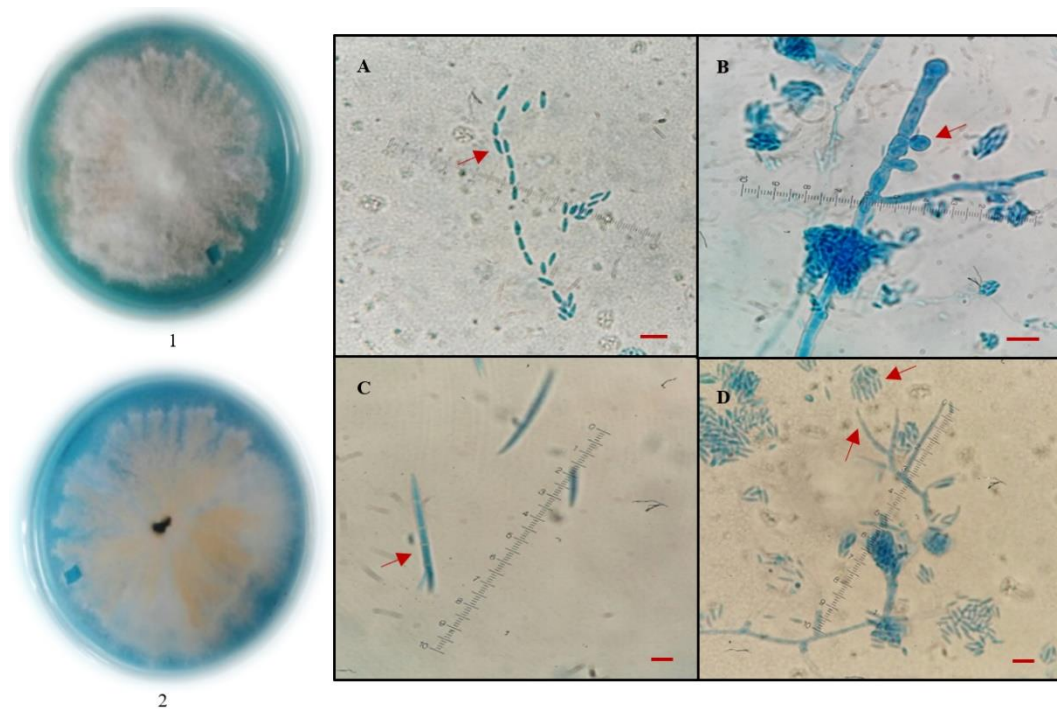


Figura 3. Colonia de *F. proliferatum* en medio PDA incubada a 25 ± 2 °C durante 7 días. **1)** vista de frente y **2)** vista de reverso de la colonia. Estructuras microscópicas de *F. proliferatum* 100x desarrolladas en medio CLA incubada a 25 ± 2 °C durante 7 días. **A.** Microconidios. **B.** Pseudoclamidosporas. **C.** Macroconidios. **D.** Monofialides y falsas cabezuelas. Las barras de escala representan 10 μ m.

De esta manera, los postulados de Koch confirmaron la patogenicidad de las cepas, se observó desarrollo de estructuras asexuales en medio de cultivo PDA para *F. oxysporum* y en CLA para *F. proliferatum*, las cuales fueron reaisladas del crecimiento micelial de los turiones utilizados en las pruebas de patogenicidad (Figura 5). Por

lo tanto, se asocian estas dos especies de *Fusarium* a la pudrición en raíces y tallos, con síntomas claramente visibles, ambos pueden causar daños, como lo observado en este estudio sobre la pudrición y deshidratación de turiones, lo que conlleva a la muerte de la planta (Schreuder et al., 1995; Corpas-Hervías et al., 2006).

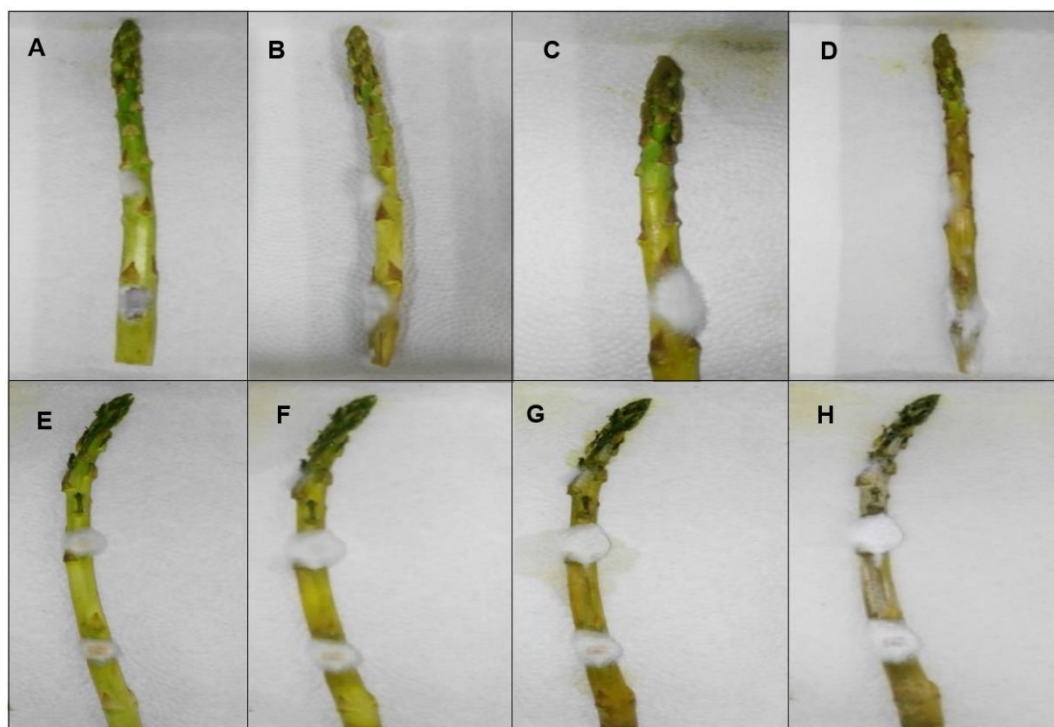


Figura 4. Prueba de patogenicidad en espárrago observando crecimiento micelial y síntomas de enfermedad. En *F. oxysporum* a las 48 (A), 72 (B), 96 (C) y 144 h (D). En *F. proliferatum* a las 48 (E), 72 (F), 96 (G) y 144 h (H).

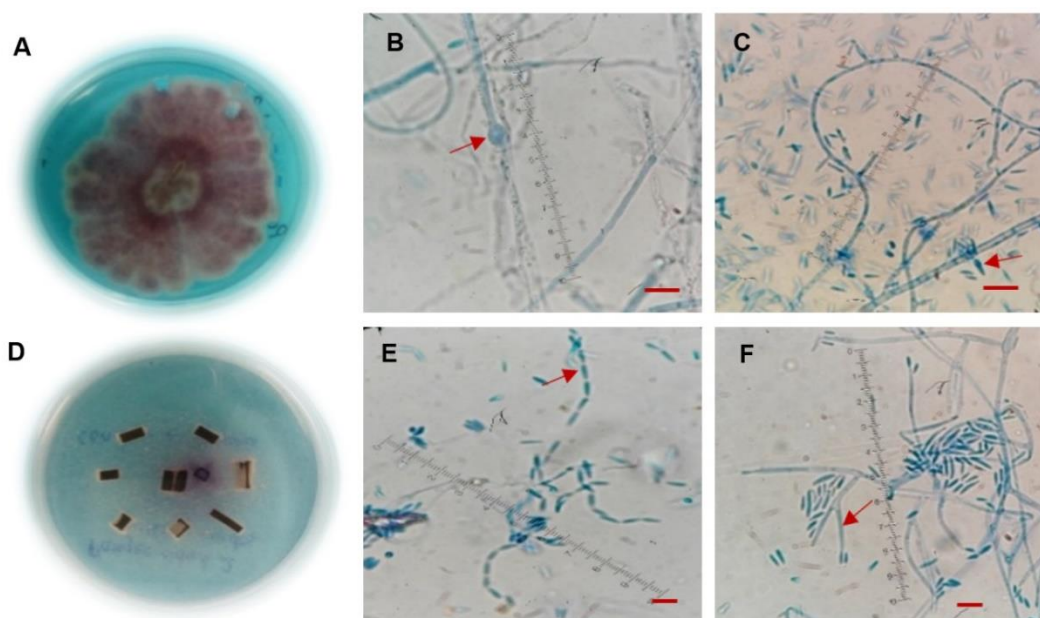


Figura 5. Postulado de Koch de *F. oxysporum* y *F. proliferatum* reaislados de los turiones utilizados en la prueba de patogenicidad. A. Colonia típica en PDA. B. Clamidospora y C. Monofílide corta en forma de botella características de *F. oxysporum*. D. Desarrollo micelial en CLA, E. Microconidios en cadena. F. monofíldes largas características de *F. proliferatum*. Las barras de escala representan 10 µm.

3.4 Identificación molecular

Las cepas patógenas obtenidas con los postulados de Koch, se corroboraron la identidad mediante el análisis molecular del gen ADN ribosomal y sus espaciadores internos ITS1 e ITS4. Los cuales mostraron un 99% de similitud con secuencias de *F. oxysporum* y *F. proliferatum* depositadas en el GeneBank, situada la cepa CIMA-JSM-01 en el clado de *F. oxysporum* y CIMA-JSM-02 en el clado correspondiente de *F. proliferatum* (Figura 6). Las dos especies de *Fusarium* identificadas como patógenas en espárrago ya fueron reportadas en cultivos de Guanajuato, México por Quilambaqui & Miguel (2005). También se han reportado en Estados Unidos (California, Carolina del Norte), donde el patógeno dominante en los cultivos de espárrago ha sido *F. proliferatum*, lo que coincide también con reportes en México y Perú (Elmer, 2000). Por otra parte, en el sur de España se ha reportado a *F. proliferatum*, *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*, *F. moniliforme* y *F. solani* (Corpas-Hervias et al., 2006).

El hongo *F. oxysporum* se ha reportado en zonas templadas y tropicales lo que indica la plasticidad que tiene el hongo para adaptarse a diferentes climas, ocasiona podredumbre radicular, las plantas maduras son las más susceptibles, sin embargo, también pueden afectar a plántulas y trasplantes jóvenes (Elmer, 2015). En el trabajo de Quilambaqui & Miguel (2005) realizaron un estudio de inductividad de suelo, encontraron que se podría considerar a *F. oxysporum* como la especie más prevalente y severa, probablemente por su adaptación al conjunto de factores físicos, químicos y biológicos que determinan la inductividad de un suelo. Respecto a las pruebas de patogenicidad *in vitro* se ha indicado que se podría sobreestimar que las plántulas sean más susceptibles que las cultivadas en campo, en condiciones *in vitro* el patógeno tiene ventajas, debido a que no compete con otros microorganismos, tampoco está expuesto a condiciones ambientales adversas (Quilambaqui & Miguel, 2005), estas pruebas serían útiles

solo para tener resultados preliminares, lo óptimo es llevarlas a cabo en los cultivos a campo abierto (Corpas-Hervias et al., 2006). Por otra parte, las especies aisladas de *Fusarium* pueden tener cierta variación en cuanto a incidencia y severidad en el daño de las plántulas, lo cual depende del grado de patogenicidad y virulencia (Quilambaqui & Miguel, 2005).

La identificación de especies de *Fusarium* se ha realizado en algunos estudios con los espaciadores internos ITS1 e ITS4 y por amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD, Random Amplification of Polymorphic DNA en inglés) en plantas de tomate (Singha et al., 2016); Corpas-Hervias et al. (2006) estudiaron 19 cepas de *Fusarium* por RAPD, lograron identificar 15 de ellas (*F. oxysporum* (8), *F. proliferatum* (4) y *F. moniliforme* (3), sin embargo con *F. solani* no se agruparon los dendogramas, esto se debe a la diversidad genética entre estas especies.

Es esencial realizar estudios de identificación morfológica y pruebas de patogenicidad en los hongos de *Fusarium* que dañan a los espárragos, se ha reportado que el estudio de los síntomas de la enfermedad en las raíces, también indican la virulencia del patógeno (Farahani-Kofoet et al., 2020).

En el estado de Veracruz, el cultivo de espárrago es de reciente introducción, existen alrededor de 100 ha sembradas, se desconocían los agentes patógenos que causaron daño y afectaron la calidad y el rendimiento de la producción, en este primer trabajo de investigación científica se logró elucidar la problemática en la zona de estudio, con el propósito de que se implementen las medidas fitosanitarias para el manejo adecuado de las especies de *F. oxysporum* y *F. proliferatum*. Al no aplicar la regulación fitosanitaria los patógenos que causan enfermedades se dispersan con facilidad a través del material vegetativo de un lugar a otro, lo que provoca mayores gastos económicos y contaminación ambiental por excesos de aplicaciones de agroquímicos, para el manejo específico de la fusariosis en espárrago.

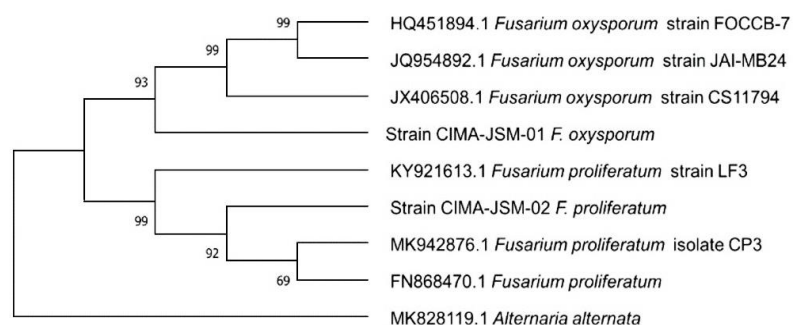


Figura 6. Cladograma de las especies de *F. oxysporum* y *F. proliferatum*.

4. Conclusiones

En esta investigación se caracterizaron las cepas de *F. oxysporum* y *F. proliferatum*, de forma morfológica, por técnicas moleculares y por pruebas de patogenicidad, a las dos especies patógenas causantes de la pudrición y deshidratación en plantas de espárragos en el estado de Veracruz. Esto ayudará al productor en la toma de decisiones para el manejo del cultivo.

Derivado del trabajo en campo, se llevó a cabo la aplicación de composta de ganado bovino por medio de aspersiones foliares, y se observó de forma general en el cultivo de espárrago una baja incidencia de la fusariosis. Por lo que se justifica hacer estudios posteriores que enriquezcan la estrategia, para mejorar la calidad y producción del espárrago.

Agradecimientos

A los productores agrícolas de espárragos del Valle de Perote, Veracruz, que colaboraron con esta investigación.

ORCID

J. A. Sierra-Moya  <https://orcid.org/0000-0003-3227-0008>

C. Espinoza  <https://orcid.org/0000-0002-9989-0503>

O. Guzmán-López  <https://orcid.org/0000-0002-7803-4513>

Á. Trigos  <https://orcid.org/0000-0001-6112-2288>

A. Salinas-Castro  <https://orcid.org/0000-0001-7169-7675>

Referencias bibliográficas

- Arbeláez, G. (2000). Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Colombiana*, 17, 11-22.
- Arie, T. (2019). *Fusarium* diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *Journal of Pest Science*, 44(4), 275-281.
- Borrego-Benjumea, A., Basallote-Ureba, M.J., Melero-Vara, J.M. & Abbasi, P.A. (2014). Characterization of *Fusarium* isolates from asparagus fields in southwestern Ontario and influence of soil organic amendments on *Fusarium* crown and root rot. *Phytopathology*, 104(4), 403-415.
- Cañedo, V. & Ames, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), 62 p. Lima, Perú.
- Corpas-Hervias, C., Melero-Vara, J. M., Molinero-Ruiz, M. L., Zurera-Muñoz, C. & Basallote-Ureba, M. J. (2006). Characterization of isolates of *Fusarium* spp. obtained from asparagus in Spain. *Plant Disease*, 90, 1441-1451.
- Dietzel, K., Valle, D., Fierer, N., U'ren, J. M. & Barberán, A. (2019). Geographical distribution of fungal plant pathogens in dust across the United States. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7, 304.
- Elmer, W. H. (2000). Incidence of infection of asparagus spears marketed in Connecticut by *Fusarium* spp. *Plant Disease*, 84, 831-834.
- Elmer, W. D. & Pignatello, J. J. (2001). Effect of biochar amendments on mycorrhizal associations and *Fusarium* crown and root rot of asparagus in replant soils. *Plant Disease*, 95, 960-966.
- Elmer, W. H. (2015). Management of *Fusarium* crown and root rot of asparagus. *Crop Protection*, 73, 2-6.
- Farahani-Kofoet, R.D., Witzel, K., Graefe, J., Grosch, R. & Zrenner, R. (2020). Species-specific impact of *Fusarium* infection on the root and shoot characteristics of asparagus. *Pathogens*, 9, 509.
- Hernández, M. A., Muiño, B. L., Roson, A. C. & Cazola, G. C. (2011). Hongos y oomicetes fitopatógenos en viveros de piña *Ananas comosus* (L.) merrill en Ciego de Ávila, Cuba. *Fitosanidad*, 15(3), 137-142.
- Hu, W., Zhang, X., Godana, E.A., Gu, X., Zhao, L. & Zhang H. (2021). *Yarrowia lipolytica* reduces the disease incidence of asparagus infected by *Fusarium proliferatum* by affecting respiratory metabolism and energy status. *Biological control*, 159, 104625.
- Hunjan, M.S. & Lore, J.S. (2020). Climate change: Impact on plant pathogens, diseases, and their management. In K. Jabran, S. Florentine and B.S. Chauhan, eds. *Crop protection under changing climate*, Springer International Publishing, 85-100 p.
- Kato-Noguchi, H., Nakamura, K., Ohno, O., Suenaga, K. & Okuda, N. (2017). Asparagus decline: Autotoxicity and autotoxic compounds in asparagus rhizomes. *Journal of Plant Physiology*, 213, 23-29.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. & Bullock, S. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA.
- Martínez, F. E., Martínez, J. P., Guillen, S. D., Peña, C. G. & Hernández-Hernández, V. (2015). Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología*, 42, 33-43.
- Mašková, L., Simmons, R. W., Deeks, L. K. & Baets, S. D. (2021). Best management practices to alleviate deep-seated compaction in asparagus (*Asparagus officinalis*) interrows (UK). *Soil and Tillage Research*, 213, 105124.
- Möller, E.M., Bahnweg, G., Sandermann & H. Geiger, H. (1992). A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. *Nucleic Acids Research*, 20(22), 6115-6116.
- Parikh, L., Kodati, S., Eskelson, M. J., & Adesemoye, A. O. (2018). Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. in row crops in Nebraska. *Crop Protection*, 108, 120-127.
- 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, J. M., Zavaleta, M. E. & Mora, A. G. (2004). Patogenicidad de tres especies de *Fusarium* asociadas con el declinamiento de espárrago (*Asparagus officinalis* L.) en Guanajuato. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(1), 30-34.
- Ristaino, J. B., Anderson, P. K., Bebbler, D. P., Brauman, K. A., Cunniffe, N. J., et al. (2021). The persistent threat of emerging plant disease pandemics to global food security. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(23), e2022239118.
- Schreuder, W., Lamprecht, S. C., Marasas, W. F. O. & Calitz, F. J. (1995). Pathogenicity of three *Fusarium* species associated with asparagus decline in South Africa. *Plant Disease*, 79(2), 177-181.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2021). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Singha, I. M., Kakoty, Y., Unni, B. G., Das, J. & Kalita, M. C. (2016). Identification and characterization of *Fusarium* sp. using ITS and RAPD causing fusarium wilt of tomato isolated from Assam, North East India. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, 14(1), 99-105.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729.