

Establecimiento de un banco de germoplasma *in vitro* de tubérculo-semilla de papa libre de *Fusarium* spp.

Establishment of an *in vitro* germplasm bank of potato seed tubers free of *Fusarium* spp.

José Manuel López-Castro¹ , Laura B. Valle-Castillo² , Luis Manuel Rojo-Zamora¹ ,
Patricio Arce-Johnson³ , Jesús L. Romero-Romero^{1*} 

¹ Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes 250, San Joachin, 81100, Guasave, Sinaloa, México.

² Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Guasave, avenida Universidad s/n, Fraccionamiento Villa Universidad, 81044, Guasave, Sinaloa, México.

³ Universidad Autónoma de Chile, Facultad de ingeniería, Del Valle sur 534, 858851, Huechuraba, Santiago de Chile, Chile.

*Autor para correspondencia: jromeror@ipn.mx

Fecha de recepción:

21 de abril de 2026

Fecha de aceptación:

12 de junio de 2026

Disponible en línea:

25 de septiembre de 2026

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



Reconocimiento-
NoComercial-
CompartirIgual 4.0
Internacional
(CC BY-NC-SA 4.0)

Cómo citar:

López-Castro, J. M., Valle-Castillo, L. B., Rojo-Zamora, L. M., Arce-Johnson, P., Romero-Romero, J. L. (2026). Establecimiento de un banco de germoplasma *in vitro* de tubérculo-semilla de papa libre de *Fusarium* spp. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 12 (núm. esp. 2), e12e2001. <https://doi.org/10.30973/aap/2026.12.e12e2001>

RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es un cultivo de gran importancia económica, social y nutricional, cuya productividad depende en gran medida de la calidad fitosanitaria del tubérculo-semilla. El uso de semilla libre de patógenos favorece el establecimiento y rendimiento del cultivo, además de reducir la incidencia y dispersión de enfermedades transmitidas por semilla. Asimismo, la conservación de germoplasma sano es esencial para preservar recursos genéticos y disponer de material vegetal de calidad para investigación, mejoramiento genético y producción comercial. En este estudio se estableció un banco de germoplasma *in vitro* de tubérculo-semilla de papa variedad Fianna libre de especies de *Fusarium*. Se analizaron 30 tubérculos-semilla, de los cuales se aislaron dos cepas fúngicas identificadas molecularmente como *Fusarium falciforme* y *Fusarium thapsinum*. Finalmente, se obtuvo y validó mediante PCR un banco de germoplasma *in vitro* de plántulas de papa libres de *Fusarium* spp.

PALABRAS CLAVE

Solanum tuberosum, cultivo de tejidos vegetales, hongos, pudrición seca.

ABSTRACT

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is a crop of major economic, social, and nutritional importance, whose productivity largely depends on the phytosanitary quality of seed tubers. The use of pathogen-free seed promotes crop establishment and yield, while reducing the incidence and spread of seed-borne diseases. Furthermore, the conservation of healthy germplasm is essential to preserve genetic resources and ensure the availability of high-quality plant material for research, breeding, and commercial production. In this study, an *in vitro* germplasm bank of *Fusarium*-free seed tubers from the potato cultivar Fianna was established. Thirty seed tubers were analyzed, from which two fungal strains were isolated and molecularly identified as *Fusarium falciforme* and *Fusarium thapsinum*. Finally, an *in vitro* germplasm bank of potato plantlets free of *Fusarium* spp. was obtained and validated by PCR.

KEYWORDS

Solanum tuberosum, plant tissue culture, fungi, dry rot.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L., Solanaceae) es el tercer cultivo alimenticio más importante en el mundo en términos de consumo después del trigo y el arroz (International Potato Center, 2022). Durante el 2024, este cultivo se posicionó en el cuarto lugar de producción mundial con 390 millones de toneladas, solo por detrás de los principales cereales (maíz, arroz y trigo) (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2025). En México, la papa se cultiva en 22 de las 32 entidades federativas, destacando Sonora, Sinaloa, Estado de México, Veracruz, Nuevo León y Puebla, con el 79.5 % del total de la producción nacional, de la cual, el 56 % se destina al mercado en fresco, el 29 % a la industria y el 15 % se utiliza para semilla (Haro Encinas, 2024).

El tubérculo de papa es considerado un alimento de alta calidad nutricional debido a su elevada densidad de nutrientes y a su contribución a una dieta equilibrada. Está constituido aproximadamente por 80 % de agua y 20 % de materia seca, de la cual la mayor proporción corresponde a carbohidratos, principalmente almidón. Además, contiene entre 1 % y 2 % de proteínas de alto valor biológico, una cantidad mínima de lípidos (< 0.2 %), fibra dietética, vitaminas —especialmente C y B6—, así como minerales esenciales, destacando el potasio. Asimismo, la papa aporta diversos compuestos bioactivos con actividad antioxidante, como polifenoles y carotenoides, cuya concentración varía según la variedad y las condiciones de cultivo y procesamiento (Beals, 2019). Históricamente, este cultivo ha enfrentado diversas problemáticas fitopatológicas, las cuales están estrechamente asociadas a su principal método de propagación vegetativa mediante tubérculos-semilla. Esta forma de multiplicación favorece la acumulación y dispersión de patógenos de arrastre, que ocasionan diversos síntomas como marchitez y necrosis en el follaje y/o tubérculos, lo que impacta negativamente la productividad del cultivo.

Entre las principales enfermedades de la papa se encuentran el tizón temprano (*Alternaria solani*), el cual puede ocasionar pérdidas que alcanzan hasta un 50 % del rendimiento (Patel et al., 2024); el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), considerado una de las enfermedades más devastadoras y capaz de disminuir la producción del 29 % al 100 % (Seifu, 2017), y

la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*), capaz de disminuir el rendimiento de entre un 50 % a 100 % (Longwe et al., 2023; Muthoni et al., 2014). Por su parte, el virus Y de la papa (PVY) induce a nivel foliar necrosis, mosaicos, enanismo y deformaciones en los tubérculos, siendo uno de los fitopatógenos más severos que ocasiona pérdidas productivas de hasta el 80 % (Molano Bolaños & Sánchez Leal, 2022). Asimismo, los hongos del género *Fusarium* inducen la enfermedad conocida como pudrición seca en los tubérculos, caracterizada por la presencia de lesiones hundidas y deterioro interno. Esta enfermedad puede generar pérdidas que oscilan entre el 6.25 % y el 25 %, alcanzando un 60 % en condiciones favorables, especialmente durante el almacenamiento postcosecha, donde se han reportado pérdidas del 88 % (Xue et al., 2023). Recientemente, en Sinaloa se ha reportado la presencia de diversas especies pertenecientes al género *Fusarium* como *F. brachygibbosum*, *F. oxysporum*, *F. falciforme* y *F. nygamai*, en cultivos de gran relevancia como tomate, cebolla, maíz y papa (Castillo-Batista et al., 2025; Douriet-Angulo et al., 2019; Molina-Cárdenas et al., 2025; Tirado-Ramírez et al., 2018; Vega-Gutiérrez et al., 2019).

En conjunto, estos organismos fitopatógenos son capaces de persistir tanto en los suelos de cultivo como en los tubérculos utilizados como semilla (Tessema & Tesfaye, 2023). En este sentido, los tubérculos-semilla constituyen una fuente primaria de inóculo, pues favorecen su dispersión en ciclos subsecuentes de cultivo, promueven la infección de rizosferas, los tubérculos en desarrollo y del suelo circundante, lo cual afecta de manera continua el rendimiento y la calidad del cultivo (Soler et al., 2012).

Con base en lo anterior, se han desarrollado diversas estrategias de manejo integrado para reducir el impacto de las enfermedades en el cultivo de papa, entre las que destacan el uso de variedades con distintos niveles de resistencia genética y la aplicación de fungicidas con diferentes mecanismos de acción. Estudios recientes han demostrado que la combinación de variedades tolerantes con programas de control químico permite disminuir significativamente la severidad del tizón tardío, incrementar el rendimiento y mejorar la rentabilidad del cultivo (Kilonzi et al., 2024). Además de los fungicidas tradicionalmente utilizados, actualmente se emplean moléculas de nueva generación como cyazofamid, mandipropamid y la mezcla

oxathiapiprolin + benthiavalicarb, las cuales han mostrado una mayor eficacia en el control de *P. infestans* en comparación con fungicidas convencionales como el mancozeb (Ben Naim & Cohen, 2023). Sin embargo, estas estrategias no garantizan la eliminación total de los patógenos asociados al material de propagación, particularmente aquellos de arrastre que pueden mantenerse de manera latente en los tubérculos-semilla. En este contexto, han surgido alternativas biotecnológicas complementarias, entre las que destaca el cultivo *in vitro*, el cual permite la obtención y multiplicación masiva de plantas libres de patógenos mediante técnicas como el cultivo de meristemas, la micropropagación y la producción de microtubérculos, constituyendo una de las estrategias más prometedoras para asegurar la calidad fitosanitaria y la disponibilidad de semilla de alta calidad en el cultivo de papa (Jácome Sarchi et al., 2025; Kulus & Tymoszek, 2024).

La variedad Fianna es una de las de mayor importancia económica en México debido a su alto potencial productivo, capacidad de adaptación y calidad comercial. Su cultivo se concentra principalmente en Sinaloa y Sonora, estados que aportan aproximadamente el 52 % de la producción nacional de papa. Esta variedad se destina para el mercado de consumo fresco y pertenece al grupo de cáscara lisa de color blanco o amarillo. Fianna ha sido considerada una de las variedades comerciales más importantes y es ampliamente utilizada en estudios relacionados con nutrición, fertilización y manejo agronómico (Consejo Nacional de Productores de Papa, 2024; Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2017; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2025; Sifuentes Ibarra, 2013).

Por todo lo anterior, este estudio tuvo como objetivo establecer un banco de germoplasma *in vitro* de tubérculo-semilla de papa variedad Fianna, libre de especies de *Fusarium*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y selección del material biológico

Los tubérculos-semilla de papa de la variedad Fianna (G2) fueron donados por la Agrícola Félix ubicada en la ciudad de Los Mochis, Sinaloa, México (25° 46'9.14" N, 109° 3'25.60" O) y correspondían al ciclo agrícola

2024-2025. Para la detección e identificación de fitopatógenos, se seleccionaron 30 tubérculos con signos de infección superficial, tales como: crecimiento de micelio, pudrición y/o manchas de color café oscuro.

AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS DE ARRASTRE

Para el aislamiento de los hongos, a partir de los 30 tubérculos de papa seleccionados, se colectó tejido sintomático de 1 cm² de longitud y se realizó una desinfección bajo campana de flujo laminar, con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1 % durante 1 min, seguido de tres a cinco lavados con agua destilada estéril. Posteriormente, el tejido fue sembrado en medio agar papa dextrosa (PDA) (Koch, 1985), suplementado con ampicilina (500 mg·L⁻¹). Finalmente, las placas se incubaron a 28 °C durante un período de 15 días en oscuridad. Posterior al tiempo de incubación, se realizó la purificación de los aislados fúngicos apoyados de un microscopio óptico compuesto binocular modelo B120C (AmScope, Irvine, Estados Unidos), utilizando el objetivo 10x se tomó con la ayuda de una aguja de disección estéril un fragmento de la punta de la hifa, la cual se colocó en el centro de una placa Petri de 60 mm con medio PDA con 50 mg·L⁻¹ de ampicilina y se incubó a 28 °C durante 48 h.

Caracterización morfométrica

A partir del desarrollo micelial, se realizó la caracterización morfométrica utilizando la técnica de impresión con cinta transparente para observar las estructuras fúngicas presentes, con ayuda de un microscopio óptico binocular B120C (AmScope, Irvine, Estados Unidos) con el objetivo 40x (Maharachchikumbura et al., 2011). Las estructuras fueron medidas (largo y ancho) apoyados en el *software* Fiji (ImageJ) v4.0.6-SNAPSHOT (National Institutes of Health, Bethesda, Estados Unidos).

Identificación molecular

Para la identificación molecular de los hongos aislados, se inició con la extracción de ADN a partir de 5 mm³ de micelio de las colonias puras *in vitro*, mediante el método de CTAB (Bromuro de cetil-trimetil-amonio) al

3 % con ligeras modificaciones (Zhang et al., 1998). La amplificación por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, se realizó utilizando los marcadores moleculares diseñados por White et al. (1990), ITS 1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG- 3') e ITS 4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC- 3'), los cuales amplifican una región entre los genes 18S ADNr y 25S ADNr. La reacción de PCR se realizó en un volumen total de mezcla de 25 μ L, que contenía 50 mM de $MgCl_2$, buffer de reacción de PCR 10 X, 10 mM de mezcla de dNTP, 10 pmol de cada *primer*, cinco unidades/ μ L de Taq DNA polimerasa y 2 μ L del ADN de cada muestra. Las muestras fueron incubadas en termociclador por 40 ciclos de reacción. Cada ciclo consistió en desnaturalización a 94 °C por 30 s, alineamiento a 40 °C durante 1 min, extensión a 72 °C por 1 min y una fase de extensión final a 72 °C durante 10 min (White et al., 1990). La visualización de productos amplificados se realizó por electroforesis en geles de agarosa al 1 % (Sambrook & Russell, 2001), con buffer de corrida TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM y ácido acético glacial) y los productos se visualizaron en el equipo ChemiDoc™ MP Imaging System (Bio-Rad Laboratories®, Hercules, Estados Unidos). Los fragmentos amplificados fueron secuenciados por el método de terminación en cadena del dideoxinucleótido con Sequenasa (Sanger et al., 1977). Para el análisis de las secuencias se utilizó la base de datos del GenBank del NCBI, se estableció el porcentaje de similitud con la herramienta BLAST y se realizó un alineamiento múltiple utilizando el algoritmo MUSCLE (Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation) apoyándose en el *software* MegAlign del DNASTAR (versión 1.02; DNASTAR Inc., Madison, Estados Unidos). Luego, se procedió a la inferencia filogenética mediante el método Neighbor-Joining, evaluando la robustez estadística de las ramas del árbol mediante remuestreo Bootstrap (1,000 repeticiones). Finalmente, se generaron los cladogramas, visualizando las relaciones filogenéticas y determinando la identidad taxonómica de los aislamientos fúngicos.

Establecimiento de un banco de germoplasma *in vitro*

El establecimiento del banco de germoplasma *in vitro* partió con la desinfección superficial de tubérculo-semilla de papa con NaClO al 5 % provisto con cinco gotas de Tween® 20 (Sigma-Aldrich, St. Louis, Estados

Unidos) durante 5 min, seguido de tres a cinco lavados consecutivos con agua destilada estéril y una desinfección con etanol (EtOH) al 70 % durante 5 min, el proceso de desinfección se realizó basándose en lo descrito por Silva Agurto (2022). Los tubérculos desinfectados se colocaron en una cámara de crecimiento durante tres meses en completa oscuridad. Seguido, brotes etiolados con una longitud de 2-3 cm, se sumergieron en EtOH al 70 % durante 40 segundos y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Posteriormente, los brotes se desinfectaron con NaClO a tres diferentes concentraciones: 10 % (0.18 M) para el tratamiento 1 (TD1), 15 % (0.27 M) para el tratamiento 2 (TD2) y 20 % (0.36 M) para el tratamiento 3 (TD3), todos con la adición de Tween® 20, durante 20 min. Finalmente, los brotes desinfectados se cultivaron en frascos de vidrio provistos de medio MS (Murashige & Skoog, 1962), 30 g·L⁻¹ de sacarosa y 8 g·L⁻¹ de agar (Vanegas Paredes, 2022). Los frascos se incubaron en un cuarto de crecimiento con una temperatura de 23 ± 2°C, y un fotoperíodo de 16 h, provisto por lámparas fluorescentes cool-white, con una intensidad lumínica de 58 μ mol·2s⁻¹. El diseño experimental consistió en tres repeticiones de tres réplicas con un total de 30 brotes por tratamiento. Se registraron los porcentajes de sobrevivencia (brotes no necrosados y/o contaminados) por cada tratamiento de desinfección. Para la masificación *in vitro* del banco de germoplasma, se siguieron las metodologías descritas por Pal et al. (2012) y Silva Agurto (2022). Microestacas de aproximadamente 1.5 cm de largo (dos a tres yemas) se cortaron transversalmente y fueron colocadas de forma horizontal en contacto con el medio. El cultivo se realizó en frascos de vidrio con dos medios diferentes: un medio adicionado con 0.25 mg·L⁻¹ de zeatina, 30 g·L⁻¹ de sacarosa y 8 g·L⁻¹ de agar, y el segundo variando la zeatina por ácido indol-butírico (AIB) a una concentración de 0.05 mg·L⁻¹. Como tratamiento control se utilizó medio MS desprovisto de fitohormonas. El pH de todos los medios de cultivo utilizados se ajustó a 5.6 ± 1 con NaOH y/o HCl y estos se esterilizaron en autoclave a 121 °C y 1.2 kg/cm² de presión (20 psi) durante 15 min. El diseño experimental consistió en tres repeticiones de tres réplicas con un total de 30 brotes por tratamiento. La validación de ausencia de fitopatógenos de arrastre en las plántulas de papa establecidas *in vitro* se realizó mediante PCR, utilizando la metodología previamente descrita con los marcadores moleculares ITS 1/ITS 4.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron en el *software* Statgraphics 19 Centurion, utilizando un ANOVA simple, seguido de prueba de comparación de medias de Fisher (LSD) con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sintomatología en tubérculo-semilla y caracterización morfométrica de hongos fitopatógenos

La revisión visual de los tubérculos-semilla mostró diversas sintomatologías asociadas a hongos, las cuales fueron de ligeras pigmentaciones marrones a lesiones severas como hundimiento de apariencia rugosa y desarrollo micelial (Figura 1), dichos síntomas han sido reportados por diversos autores como Bojanowski et al. (2013), Castillo-Batista et al. (2025) y Lacy y Hammerschmidt (1993), quienes asociaron dicha sintomatología a especies de *Fusarium*, indicando que los síntomas iniciales de la pudrición seca son pequeñas pigmentaciones de color marrón o lesiones hundidas en los tubérculos.

A partir del procesamiento de los 30 tubérculos-semilla sintomáticos, se obtuvieron dos aislamientos fúngicos puros denominados HF-3 y HF-2. El primer morfotipo aislado HF-3 presentó micelio de color blanco y pigmentación amarilla al reverso de la placa. A nivel microscópico, mostró hifas nucleadas, filamentosas y ramificadas, con un ancho promedio de $0.9 \mu\text{m}$, así como microconidios fusiformes que presentaban un ancho promedio de $0.9 \mu\text{m}$ y un largo promedio de $2.33 \mu\text{m}$ (Figura 2).

Por su parte, el segundo morfotipo aislado HF-2, mostró micelio algodonoso de color gris claro, observándose al reverso de la placa un color grisáceo. A nivel microscópico, se observaron hifas hialinas, septadas, filamentosas y ramificadas, que presentaban un ancho promedio de $1 \mu\text{m}$. Asimismo, se identificaron conidios con forma ovalada, un ancho promedio de $0.5 \mu\text{m}$ y un largo promedio de $2.0 \mu\text{m}$ (Figura 2).

Las características macroscópicas y resultados morfométricos obtenidos en el presente estudio permiten establecer diferencias claras entre los morfotipos aislados HF-2 y HF-3. Estudios realizados por López-

López et al. (2011) señalan que existen pigmentos naturales como las naftoquinonas que son aisladas de hongos; asimismo, Medentsev et al. (2005) indicaron que la síntesis de metabolitos de naftoquinona por hongos del género *Fusarium*, podría estar asociada a mecanismos de respuesta a condiciones de estrés, considerando que se inicia durante la inhibición del crecimiento del hongo.

El análisis de las estructuras de los morfotipos aislados, mostró variaciones en tamaño, forma y número de septos; estos caracteres morfológicos sugieren que los aislados pertenecen al género *Fusarium*, considerando que concuerdan con las reportadas por Nuangmek et al. (2023) para este género de hongos fitopatógenos. Es relevante destacar que algunas especies de *Fusarium* pueden desarrollar conidios con tamaños de hasta $72.5 \mu\text{m}$, superiores a las encontradas en nuestros aislados; sin embargo, estas variaciones pueden estar asociadas a diferencias en el hospedero, así como a las condiciones ambientales bajo las cuales se realiza el aislamiento. Se ha reportado que las características de los conidios, incluyendo su tamaño, forma y propiedades estructurales, pueden modificarse en función de factores como temperatura, disponibilidad de nutrientes y condiciones de cultivo, reflejando la capacidad adaptativa de los hongos frente a cambios en su entorno (Seekles et al., 2023). De manera consistente, en el género *Fusarium*, se ha documentado que las condiciones ambientales pueden inducir variaciones en la morfología de los conidios, incluyendo cambios en su tamaño y forma (Ekwomadu & Mwanza, 2023). Por lo anterior, las diferencias observadas en los aislados HF-2 y HF-3 posiblemente no representan una desviación atípica, sino una manifestación de la plasticidad morfológica característica de este género.

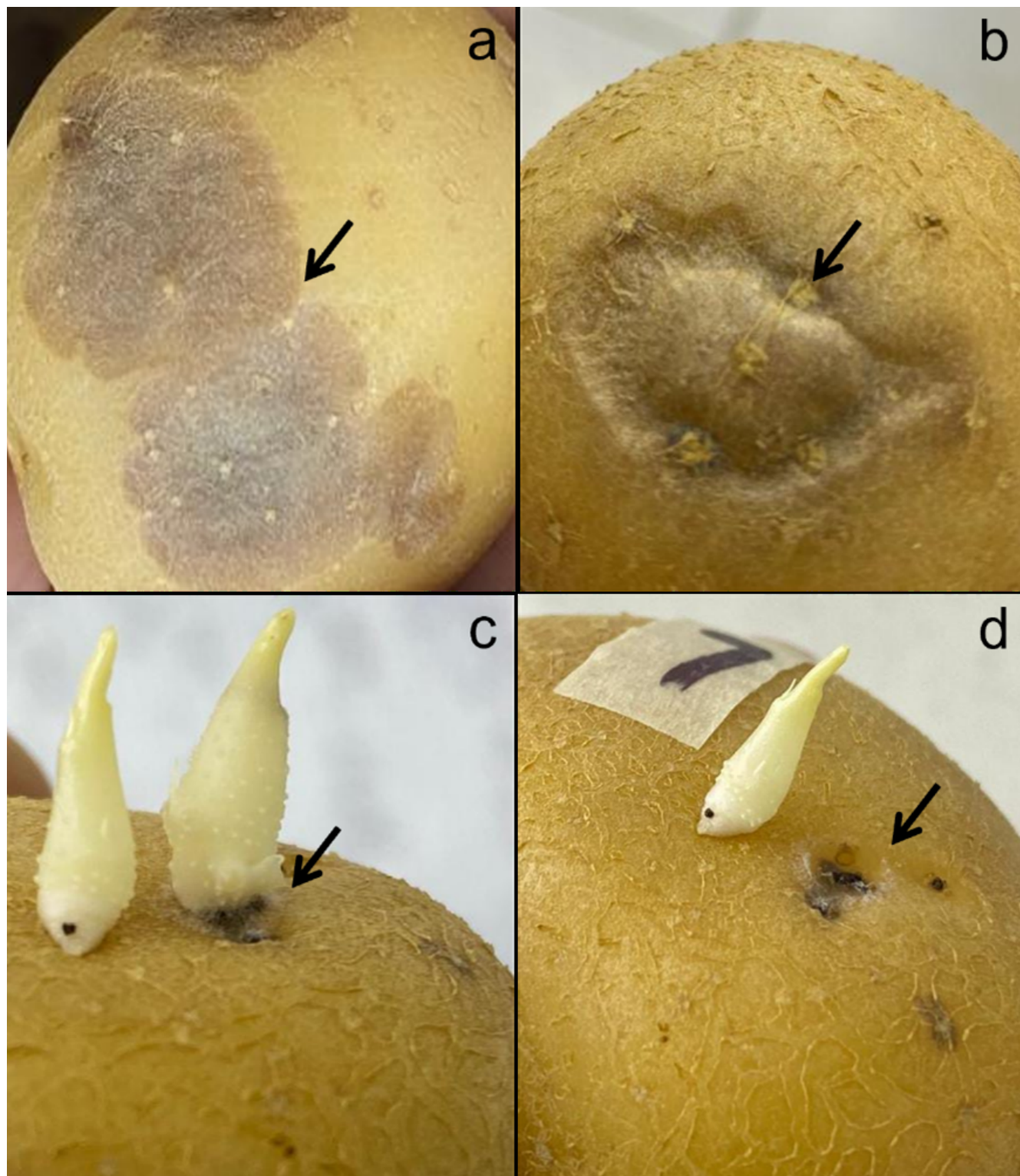


Figura 1. Sintomatología superficial observada en tubérculos-semilla de papa variedad Fianna; a-b) lesiones marrones y hundimientos rugosos, c-d) micelio en la superficie del tubérculo.

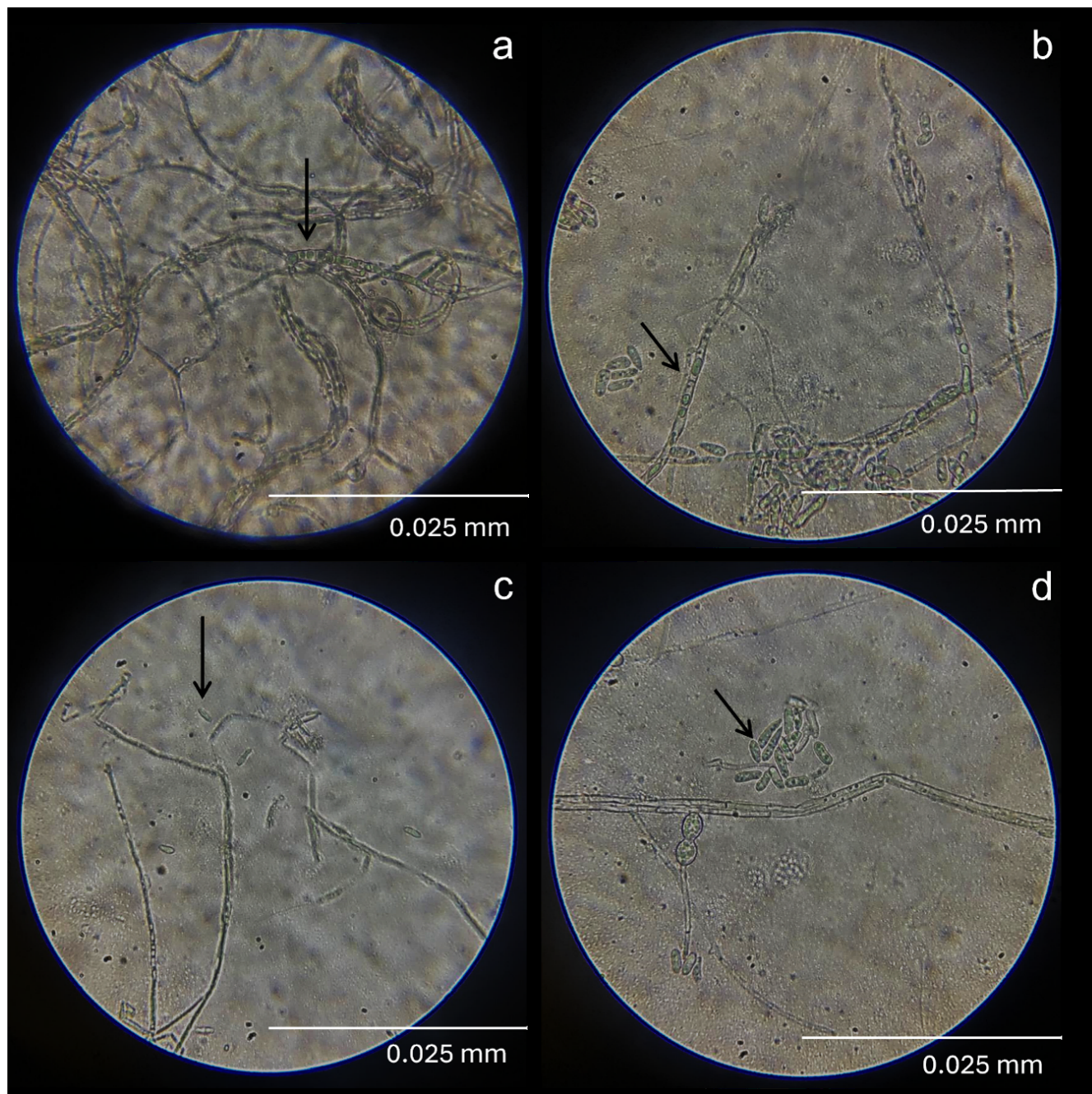


Figura 2. Características morfológicas de los aislados de hongos del género *Fusarium* observadas por microscopía óptica (40x); a) hifas del aislado HF-2, b) hifas del aislado HF-3, c) conidios del aislado HF-2, d) conidios del aislado HF-3.

Identificación molecular de hongos fitopatógenos de arrastre

La amplificación por PCR con los *primers* ITS 1/ITS 4 diseñados en las regiones ribosomales de los genes 18S rDNA y 25S rDNA, generó un fragmento aproximado de ~600 pb, como se muestra en la Figura 3.

El análisis de las secuencias mostró que el aislado HF-3 presentó un porcentaje de similitud de 92 % con la especie *F. falciforme*, mientras que el aislado HF-2 mostró más cercanía a *F. thapsinum*, con un 96 % de similitud (Figura 4).

El cladograma obtenido muestra una clara estructuración del género *Fusarium* en clados que corresponden, en términos generales, a complejos de especies bien definidos, destacando principalmente el *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC), el *Fusarium solani* species complex (FSSC) y, en menor medida, el *Fusarium oxysporum* species complex (FOSC). Cabe des-

tacar que el cladograma presenta valores de soporte superiores al 90 %, lo que evidencia un elevado soporte estadístico en la topología obtenida.

El aislado HF-2 se ubica dentro del clado correspondiente al FFSC, mostrando una estrecha relación filogenética con *F. thapsinum*, mientras que el aislado HF-3 se agrupa dentro del clado del FSSC en estrecha proximidad con *F. falciforme*, lo anterior concuerda con el mayor porcentaje de similitud obtenido en el análisis mediante NCBI BLAST. En concordancia con estos resultados, el análisis de similitud realizado mediante NCBI BLAST permitió corroborar que ambos aislados pertenecen al género *Fusarium*, además de inferir que aun cuando los valores de similitud son menores al umbral generalmente aceptado (> 97 %), estos se asocian potencialmente a *Fusarium falciforme* y *Fusarium thapsinum*, respectivamente, al ser las especies con las cuales mostraron mayor porcentaje de similitud (Nilsson et al., 2018).

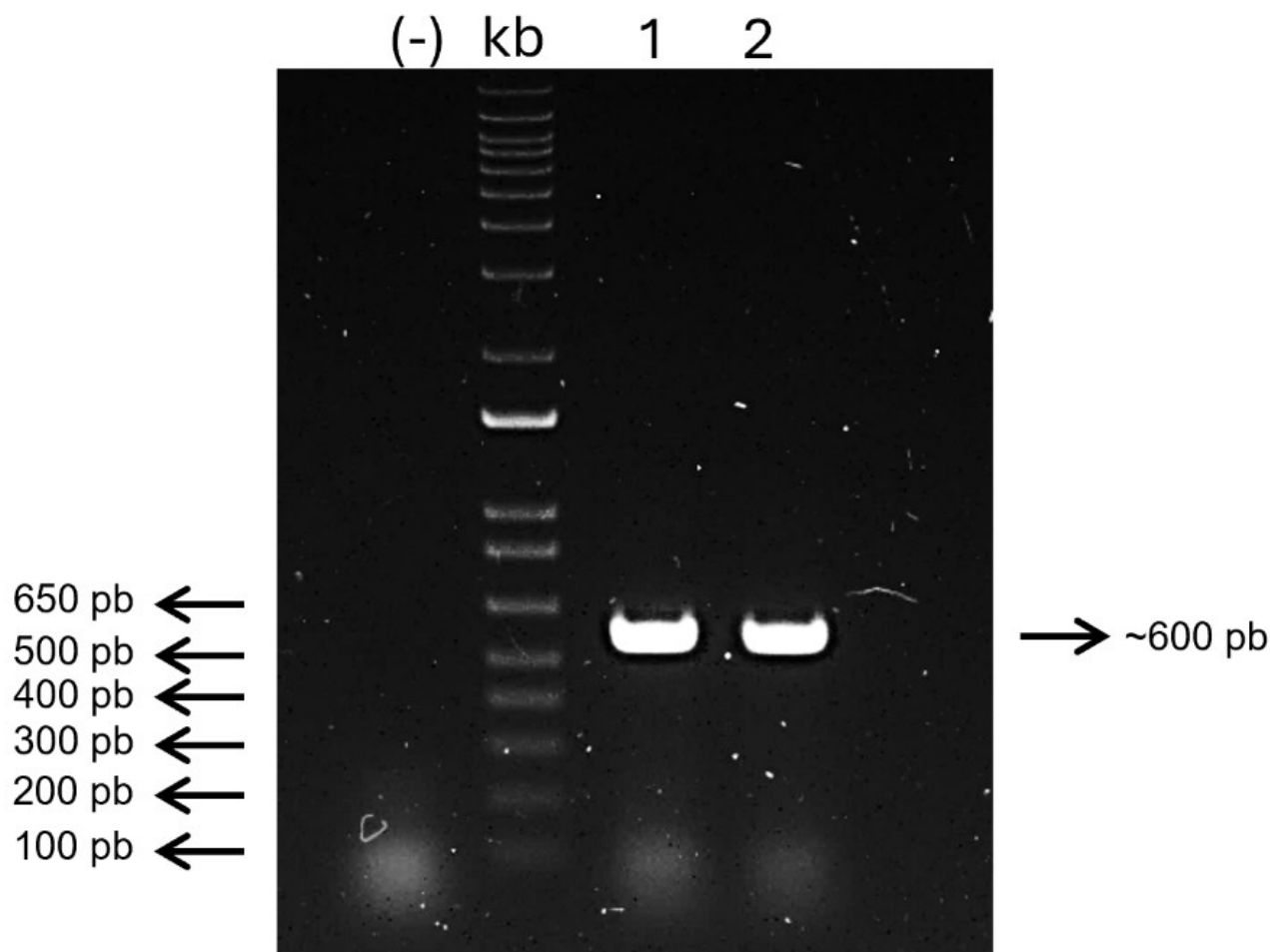


Figura 3. Fragmentos amplificados por PCR de los aislamientos fúngicos con los *primers* ITS 1 / ITS 4. kb, Marcador de peso molecular (1 Kb plus, Invitrogen Life Technologies, Brasil). Carril (-): control negativo, carril 1: aislado HF-3, carril 2: aislado HF-2.



La región ITS ha sido ampliamente validada como una herramienta eficaz para la identificación de hongos a nivel de género; sin embargo, Summerell (2019) menciona que la región ITS no es informativa para un grupo de especies de *Fusarium*. Por su parte, Schoch et al. (2012) establecieron que la región ITS presenta niveles de similitud superiores al 90 % dentro de un mismo género fúngico, proponiendo este umbral como referencia para su uso como código de barras universal. Por su parte, Al-Hatmi et al. (2016) señalan que las secuencias ITS en hongos *Fusarium* spp. presentan porcentajes de similitud que oscilan entre el 92 % y 99 %, con secuencias depositadas en GenBank, pueden utilizarse para la identificación del género, lo que concuerda con lo obtenido en este estudio. De igual manera, se alinea con lo descrito por Leslie y Summerell (2006), quienes indican que el género *Fusarium* presenta una alta diversidad genética, lo cual se refleja en variaciones en los porcentajes de similitud, incluso entre secuencias del mismo género. En este contexto, valores superiores al 90 % han sido considerados adecuados para la identificación a nivel de género cuando se emplean regiones conservadas como ITS, lo cual es congruente con los resultados obtenidos en esta investigación.

En la actualidad, los hongos del género *Fusarium* constituyen una de las principales problemáticas fitosanitarias en Sinaloa, debido a su amplia distribución en los sistemas de producción agrícola. Estudios realizados por Tirado-Ramírez et al. (2018), señalan a *F. falciforme* como agente causal de la podredumbre basal de la cebolla en Angostura, Sinaloa. Por su parte, Vega-Gutiérrez et al. (2019) identificaron a esta misma especie como causante de pudrición y marchitez del pie en el cultivo de tomate. Asimismo, Douriet-Angulo et al. (2019) reportaron a *F. falciforme* ocasionando la rotura del tallo en maíz en el municipio de Culiacán, Sinaloa, y recientemente, Molina-Cárdenas et al. (2025), documentaron la presencia de *F. brachygibbosum* en el cultivo de papa, asociada a síntomas de marchitez y necrosis vascular. Con base a lo anterior, la detección de hongos del género *Fusarium* en tubérculos-semilla de papa adquiere una relevancia significativa para la sanidad, calidad y rendimiento del cultivo. La identificación oportuna de estos patógenos aporta en el ámbito de la implementación de estrategias de manejo más adecuadas, favoreciendo la productividad y sostenibilidad del cultivo en la región.

Establecimiento de un banco de germoplasma *in vitro*

Como resultado del proceso de desinfección superficial de los brotes etiolados de papa, se obtuvo un 100 % de asepsia en todos los tratamientos utilizados. El tratamiento TD1 (NaClO al 10 %) presentó el mayor porcentaje de brotación con un 92 %, mostrando diferencias significativas con respecto a los tratamientos TD2 y TD3, los cuales registraron un 65 % y 52 % de brotación, respectivamente. Adicionalmente, el tratamiento TD1 mostró un mayor desarrollo de los brotes en comparación con los demás evaluados; este comportamiento puede atribuirse a que dicho tratamiento resultó menos agresivo y ocasionó un menor daño en los tejidos vegetales (Figura 5a-5b).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Araque Barrera et al. (2018), quienes, al utilizar un tratamiento similar de desinfección, obtuvieron un 100 % de establecimiento óptimo *in vitro* de brotes etiolados de papa, mismos que presentaron un buen desarrollo foliar. Asimismo, Dalleh et al. (2023) reportaron que un tratamiento de desinfección con NaClO al 5 % durante 10 min generaba una supervivencia de hasta el 90 % de los brotes etiolados, lo que de igual manera coincide con los resultados en esta investigación. Por su parte, López Gómez (2019), al utilizar brotes apicales de papa (variedad Purén) desinfectados con NaClO al 20 %, obtuvo porcentajes de supervivencia que ascendían al 52 %. Todo lo anterior refuerza la idea de que tratamientos menos agresivos para el establecimiento *in vitro* de brotes etiolados de papa permiten mayores porcentajes de supervivencia de los brotes.

En lo que respecta a la masificación *in vitro*, el mayor porcentaje de inducción de brotación de yemas axilares se presentó en el medio provisto de la fitohormona zeatina a una concentración 0.25 mg·L⁻¹ alcanzando un 38 %; mientras que en el medio con AIB se generó un 29 % y en el tratamiento control, es decir, el medio sin fitohormonas, la inducción de brotes fue del 31 %; sin embargo, dichas diferencias no fueron significativas (Figura 5c-5d).

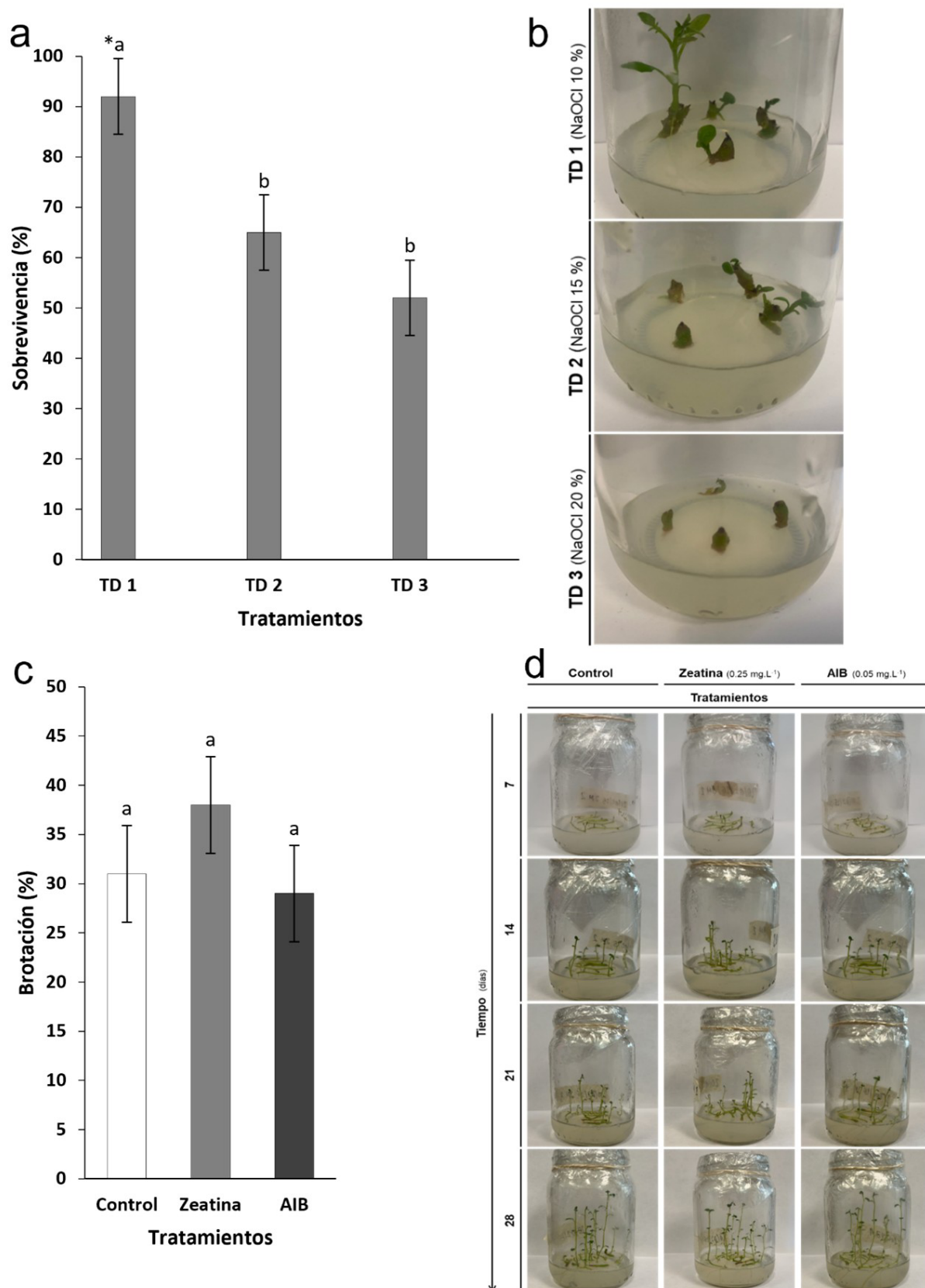


Figura 5. Establecimiento de banco de germoplasma *in vitro* de papa variedad Fianna; a) porcentaje de viabilidad de brotes etiolados, b) desarrollo de los brotes en medio *ms in vitro*, c) porcentaje de brotación, d) desarrollo semanal de los brotes en medio *ms* suplementado con los diferentes reguladores de crecimiento. Los datos se representan como media $\pm$ desviación estándar; el asterisco señala diferencias significativas entre los tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).

Como resultado de la masificación *in vitro* de las plántulas, se logró establecer un banco de germoplasma de papa variedad Fianna con plántulas libres de *Fusarium* spp., lo que fue confirmado por la nula amplificación de bandas mediante PCR con los marcadores moleculares ITS para hongos.

Estos resultados son consistentes con los reportados por Pérez-Pazos et al. (2023), quienes, al utilizar un protocolo similar, lograron establecer un banco de germoplasma *in vitro* de camote (*Ipomoea batatas* L.) libre de contaminación. En la actualidad, se continúa trabajando con la aclimatación *ex vitro* de las plántulas y la formación de microtubérculos de primera generación (G1), mismos que serán utilizados como material de propagación (tubérculo-semilla) para la obtención de nuevas plantas libres de *Fusarium* spp. Esta estrategia contribuirá a reforzar la eficiencia del proceso de saneamiento vegetal de la papa, aportará una base experimental sólida para el establecimiento de un sistema de propagación clonal que garantice la calidad fitosanitaria del material vegetal y podrá ser fácilmente transferible al ámbito agrícola del estado.

CONCLUSIONES

En el presente estudio, se obtuvieron dos aislados fúngicos puros a partir de tubérculo-semilla de papa variedad Fianna, los cuales fueron caracterizados morfológicamente e identificados molecularmente como *Fusarium* spp.; adicionalmente, mediante análisis bioinformáticos se asociaron específicamente a *F. falciforme* y *F. thapsinum*. La detección e identificación precisa de estos fitopatógenos aporta información relevante para el conocimiento de los agentes asociados al deterioro fitosanitario de la semilla de papa, y constituye una base para el desarrollo de estrategias de prevención y manejo de enfermedades transmitidas por tubérculo-semilla en la zona centro-norte de Sinaloa. Asimismo, se establecieron procedimientos eficientes para el cultivo *in vitro* de brotes etiolados y para la inducción de brotación de yemas axilares mediante micropropagación y la aplicación de zeatina, lo que permitió la obtención exitosa de un banco de germoplasma *in vitro* de papa variedad Fianna libre de *Fusarium* spp., validado mediante PCR. Este banco representa una herramienta valiosa para la conservación de recursos genéticos de interés agronómico, la producción de material vegetal

con alta calidad fitosanitaria y el fortalecimiento de programas de investigación, además del mejoramiento genético y la producción sostenible de semilla de papa. Por otro lado, cabe destacar que, en la actualidad, el grupo de trabajo se encuentra corroborando mediante análisis moleculares las especies identificadas con el gen TEF1- α , dada la aportación significativa que esta investigación tiene para el cultivo de papa en la zona centro-norte de Sinaloa.

Agradecimientos

Al ingeniero Roberto Carlos Félix Verduzco por su apoyo para la obtención de los tubérculos-semilla de papa. Este trabajo fue financiado por el proyecto SIP 20260354 y del SECIHTI CBF-2025-I-1825 y la beca de posgrado de SECIHTI (CVU 2207428).

LITERATURA CITADA

- Al-Hatmi, A. M. S., Meis, J. F., & de Hoog, G. S. (2016). *Fusarium*: Molecular diversity and intrinsic drug resistance. *PLoS Pathogens*, 12(4), e1005464. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005464>
- Araque Barrera, E. J., Bohórquez Quintero, M. de los A., Pacheco Díaz, J. E., Correa Mora, L. Y., Urquijo Ruiz, J. S., Castañeda Garzón, S. L., & Pacheco Maldonado, J. C. (2018). Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa. *Ciencia en Desarrollo*, 9(1), 21-31. <https://doi.org/10.19053/01217488.v9.n1.2018.7132>
- Ben Naim, Y., & Cohen, Y. (2023). Replacing mancozeb with alternative fungicides for the control of late blight in potato. *Journal of Fungi*, 9(11), 1046. <https://doi.org/10.3390/jof9111046>
- Beals, K. A. (2019). Potatoes, nutrition and health. *American Journal of Potato Research*, 96(2), 102-110. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-09705-4>
- Bojanowski, A., Avis, T. J., Pelletier, S., & Tweddell, R. J. (2013). Management of potato dry rot. *Postharvest Biology and Technology*, 84, 99-109. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.04.008>
- Castillo-Batista, J. C., Quiroz-Figueroa, F. R., Rodríguez-Negrete, E. A., Diarte-Plata, G., Félix-Gastélum, R., Leyva-López, N. E., & Santos-Cervantes, M. E. (2025). Identification of *Fusarium* species associated with dry rot of potato tubers in Sinaloa, Mexico. *Journal of*

- Phytopathology*, 173(3), e70102. <https://doi.org/10.1111/jph.70102>
- Consejo Nacional de Productores de Papa. (2024). *Sector papa*. <https://conpapa.org.mx/sectorpapa>
- Dalleh, M., Borjac, J., Younes, G., Choueiri, E., Chegade, A., & Elbitar, A. (2023). *In vitro* propagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) Spunta variety in Lebanon. *Advances in Horticultural Science*, 37(3), 243-253. <https://doi.org/10.36253/ahsc-13895>
- Douriet-Angulo, A., López-Orona, C. A., López-Urquidez, G. A., Vega-Gutiérrez, T. A., Tirado-Ramírez, M. A., Estrada-Acosta, M. D., Ayala-Tafoya, F., & Yáñez-Juárez, M. G. (2019). Maize stalk rot caused by *Fusarium falciforme* (FSSC 3 + 4) in Mexico. *Plant Disease*, 103(11), 2951. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1055-PDN>
- Ekwomadu, T. I., & Mwanza, M. (2023). *Fusarium* fungi pathogens: Identification, adverse effects, disease management, and global food security: A review of the latest research. *Agriculture*, 13(9), 1810. <https://doi.org/10.3390/agriculture13091810>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2025). *Crops and livestock products production*. FAO. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Haro Encinas, L. F. (2024). *La importancia de la producción de papa en México*. Tierra Fértil. <https://tierrafertil.com.mx/2024/07/05/la-importancia-de-la-produccion-de-papa-en-mexico/>
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (2017). *Agenda técnica agrícola Guanajuato*. INIFAP.
- International Potato Center. (2022). *Potato facts and figures*. ipc. <https://cipotato.org/potato/potato-facts-and-figures/>
- Jácome Sarchi, G. A., Coronel Montesdeoca, N. T., Hernández, F., & Todos Santos Martínez, R. (2025). *In vitro* techniques for seed potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber production: A systematic review. *Plants*, 14(17), 2777. <https://doi.org/10.3390/plants14172777>
- Koch, A. L. (1985). Potato dextrose agar (PDA) formulation and use for fungi. En D. L. Hawksworth (Ed.), *Methods in Mycology* (pp. 13-17). Academic Press.
- Kilonzi, J. M., Nyongesa, M. W., Amata, R. L., Pwaiswai, P., Githui, D., Omondi, S., Lusike, W., Kirugua, V., & Mafurah, J. J. (2024). Combined effects of fungicides formulations and potato varieties on late blight management, yield and net farm income in Kenya. *European Journal of Plant Pathology*, 169, 625-642. <https://doi.org/10.1007/s10658-024-02862-9>
- Kulus, D., & Tymoszek, A. (2024). Advancements in *in vitro* technology: A comprehensive exploration of micro-propagated plants. *Horticulturae*, 10(1), 88. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10010088>
- Lacy, M. L., & Hammerschmidt, R. (1993). *Diseases of Potato: Fusarium Dry Rot*. Michigan State University Extension. https://archive.lib.msu.edu/DMC/extension_publications/e2448/E2448-1993.PDF
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell.
- Longwe, K., Akiniwale, G., Mwenye, O. J., Van Vugt, D., Chiipanthenga, M., & Phiri, A. T. (2023). Effects of soil amendments on bacterial wilt incidences and potato tuber yield across different environments in Malawi. *Resources, Environment and Sustainability*, 13, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2023.100116>
- López Gómez, G. A. (2019). *Establecimiento in vitro de papa (Solanum tuberosum L.) —variedad Purén— a partir de meristemos* [Tesis de licenciatura inédita]. Escuela Agrícola Panamericana.
- López-López, L. I., Leyva, E., & García de la Cruz, R. F. (2011). Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 42(1), 6-17.
- Maharachchikumbura, S. S. N., Guo, L.-D., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H., & Hyde, K. D. (2011). *Pestalotiopsis*— morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal Diversity*, 50, 167-187. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0125-x>
- Medentsev, A. G., Arinbasarova, A. Y., & Akimenko, V. K. (2005). Biosynthesis of naphthoquinone pigments by fungi of the genus *Fusarium*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41, 503-507. <https://doi.org/10.1007/s10438-005-0091-8>
- Molano Bolaños, N. A., & Sánchez Leal, L. C. (2022). Respuestas de defensa de la papa (*Solanum tuberosum*) frente a virus, hongos y bacterias. *Biociencias*, 6(1), 35-48. <https://doi.org/10.22490/26194759.6274>
- Molina-Cárdenas, L., López-Orona, C. A., Román-Román, L., Tirado-Ramírez, M. A., Vega-Gutiérrez, T. A., Payán-Arzapalo, M. A., & López-Urquidez, G. A. (2025). First report of *Fusarium brachygibbosum* causing wilt and vascular necrosis in commercial potato crops in Sinaloa, Mexico. *Plant Disease*, 109(9), 1985. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-25-0625-PDN>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cul-

- tures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Muthoni, J., Shimelis, H., Melis, R., & Kinyua, Z. (2014). Response of potato genotypes to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith)(Yabuuchi et al.) in the tropical highlands. *American Journal of Potato Research*, 91, 215-232. <https://doi.org/10.1007/s12230-013-9340-1>
- Nilsson, R. H., Larsson, K.-H., Taylor, A. F. S., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T. S., Schigel, D., Kennedy, P., Picard, K., Glöckner, F. O., Tedersoo, L., Saar, I., Kõljalg, U., & Abarenkov, K. (2018). The UNITE database for molecular identification of fungi: Handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D259-D264. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>
- Nuangmek, W., Kumla, J., Khuna, S., Lumyong, S., & Suwannarach, N. (2023). Identification and characterization of *Fusarium* species causing watermelon fruit rot in northern Thailand. *Plants*, 12(4), 956. <https://doi.org/10.3390/plants12040956>
- Pal, A. K., Acharya, K., & Ahuja, P. S. (2012). Endogenous auxin level is a critical determinant for *in vitro* adventitious shoot regeneration in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 21, 205-212. <https://doi.org/10.1007/s13562-011-0092-z>
- Patel, J. V., Gohel, N. M., Prajapati, D., & Parmar, D. M. (2024). Effect of weather factors on severity of early blight incited by *Alternaria solani* in potato (Ellis and Martin) Jones and Grout in potato. *International Journal of Plant & Soil Science*, 36(3), 69-75. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2024/v36i34399>
- Pérez-Pazos, J., Rosero, A., Cardinale, M., & Gámez, R. (2023). Development of control strategies for bacteria and fungi associated with a micropropagated new cultivar of orange-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* cv. Agrosavia-Aurora). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 64, 859-875. <https://doi.org/10.1007/s13580-023-00521-2>
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P. W., Miller, A. N., Wingfield, M. J., Aime, M. C., An, K.-D., Bai, F.-Y., Barreto, R. W., Begerow, D., Bergeron, M.-J., Blackwell, M., Boekhout, T., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), 6241-6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Seekles, S. J., Van den Brule, T., Punt, M., Dijksterhuis, J., Arentshorst, M., Ijadpanahsaravi, M., Roseboom, W., Meuken, G., Ongenae, V., Zwerus, J., Ohm, R. A., Kramer, G., Wösten, H. A. B., De Winde, J. H., & Ram, A. F. J. (2023). Compatible solutes determine the heat resistance of conidia. *Fungal Biology and Biotechnology*, 10, 21. <https://doi.org/10.1186/s40694-023-00168-9>
- Seifu, Y. W. (2017). Reducing severity of late blight (*Phytophthora infestans*) and improving potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber yield with pre-harvest application of calcium nutrients. *Agronomy*, 7(4), 69. <https://doi.org/10.3390/agronomy7040069>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2025). *Panorama agroalimentario 2025*. SIAP. https://nube.agricultura.gob.mx/panorama_siap/
- Sifuentes Ibarra, E., Ojeda Bustamante, W., Mendoza Pérez, C., Cervantes, J., Flores Gallardo, H., Macías Cervantes, J., & Gómez Arroyo, H. (2013). Nutrición del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) considerando variabilidad climática en el Valle del Fuerte, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(4), 585-597. <https://doi.org/10.29312/remexca.v4i4.1191>
- Silva Agurto, C. L. (2022). *Establecimiento in vitro de un banco de plantas donantes de Solanum tuberosum var. Cecilia* [Tesis de licenciatura inédita]. Universidad Técnica de Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/37022>
- Soler Arango, J., Posada Uribe, L. F., & Pérez Naranjo, J. C. (2012). Distribución diferencial de bacterias con potencial biocontrolador de *Spongospora subterranea* en plantas de papa (*Solanum tuberosum* cv. Diacol Capiro). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(1), 6337-6348.
- Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 323-339. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>

- Tessema, L., & Tesfaye, M. (2023). Understanding and managing seed degeneration in potato: Implications for potato resilient seed system and food security: A review. *CABI Reviews*, 18, 49. <https://doi.org/10.1079/cabireviews.2023.0049>
- Tirado-Ramírez, M. A., López-Orona, C. A., Velázquez-Alcaraz, T. de J., Díaz-Valdés, T., Velarde-Félix, S., Martínez-Campos, A. R., & Retes-Manjarrez, J. E. (2018). First report of onion basal rot caused by *Fusarium falciforme* in Mexico. *Plant Disease*, 102(12), 2646. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0757-PDN>
- Vanegas Paredes, A. I. (2022). *Implementación de un protocolo de cultivo in vitro de papa (Solanum tuberosum L.) variedad Superchola a partir de brotes etiolados* [Tesis de licenciatura inédita]. Universidad de las Fuerzas Armadas.
- Vega-Gutiérrez, T. A., López-Urquidez, G. A., Allende-Molar, R., Amarillas-Bueno, L. A., Romero-Gómez, S. de J., & López-Orona, C. A. (2019). Aggressiveness and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated with foot rot and wilt in tomato in Sinaloa, Mexico. *3 Biotech*, 9, 276. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1808-3>
- White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315-322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Xue, H., Liu, Q., & Yang, Z. (2023). Pathogenicity, mycotoxin production, and control of potato dry rot caused by *Fusarium* spp.: A review. *Journal of Fungi*, 9(8), 843. <https://doi.org/10.3390/jof9080843>
- Zhang, Y.-p., Uyemoto, J. K., & Kirkpatrick, B. C. (1998). A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. *Journal of Virological Methods*, 71(1), 45-50. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(97\)00190-0](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(97)00190-0)