



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**DIVERSIDAD GENÉTICA EN CEPAS DE FUSARIUM VERTICILLIODES
REFLEJADA POR LA TOLERANCIA A BENZOXAZOLINONAS Y PRODUCCIÓN
DE FUMONISINA.**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:

ANA FABIOLA CAMACHO GAMIÑO



CDMX

2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: **MEJIA CHAVEZ ADRIANA GUADALUPE**

VOCAL: Profesor: **PLASENCIA DE LA PARRA FRANCISCO**
JAVIER

SECRETARIO: Profesor: **AVILA CHAVEZ EUCLIDES**

1er. SUPLENTE: Profesor: **GUTIERREZ AGUILAR MANUEL**

2° SUPLENTE: Profesor: **JIMENEZ REYES GENARO**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, LABORATORIO 101, EDIFICIO E. FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

PROYECTO FINANCIADO POR DGAPA-PAPIIT IN217720: **FUNCIÓN DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA PREFORMADOS DE MAÍZ EN LA INTERACCIÓN CON EL PATÓGENO *FUSARIUM VERTICILLIOIDES*.**

ASESOR DEL TEMA: DR. F. JAVIER PLASENCIA DE LA PARRA

SUSTENTANTE: ANA FABIOLA CAMACHO GAMIÑO



AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto: DGAPA-PAPIIT IN217720: "Función de los mecanismos de defensa preformados de maíz en la interacción con el patógeno *Fusarium verticillioides*".

Ana Fabiola Camacho Gamiño recibió una Beca Conclusión de Estudios y una Beca Tesis para la realización de este trabajo de titulación, otorgada por la UNAM en el periodo de mayo a octubre del 2021.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, sobre todo a la Facultad de Química y al Departamento de Bioquímica, por acogerme y brindarme una infinita cantidad de enseñanzas.

Al Dr. Javier Plasencia, por abrirme las puertas de su laboratorio, por su paciencia, su dedicación a la enseñanza, por su calidez como persona, por enseñarme a hacer bien las cosas, pero sobre todo por transmitirme la pasión que tiene por su línea de investigación, un gran ejemplo a seguir Dr., y claro que espero que esto no quede aquí, aun vamos por más en esta línea de investigación.

A los miembros del jurado, a la QFB Adriana Guadalupe Mejía Chávez y al Dr. Euclides Avila Chávez por la revisión del trabajo y sus aportaciones para el mejoramiento de este trabajo.

A M. Sc. Manuela Nájera, por tus enseñanzas en muchos ámbitos, no solo de técnicas en el laboratorio

Contenido

Resumen:.....	13
1. Introducción.....	14
I. <i>Fusarium verticillioides</i> : Patógeno del maíz (<i>Zea mays</i>).....	14
I.A. Taxonomía de <i>Fusarium verticillioides</i>	14
I.B. Morfología de <i>Fusarium verticillioides</i>	15
I.C. Enfermedades en el maíz causadas por <i>F. verticillioides</i>	17
I.D. Rutas de Infección de <i>F. verticillioides</i>	19
I.E. Producción de micotoxinas por <i>F. verticillioides</i>	20
I.F. Importancia del cultivo del maíz.....	20
II. Fumonisinias.....	22
II.A. Estructura de las fumonisinias.....	22
II.B. Biosíntesis de fumonisinias y estructura del Locus <i>FUM</i>	24
II.C. Niveles de fumonisinias en el maíz.....	25
III. Mecanismos de Defensa de las plantas.....	30
III.A. Mecanismos de defensa constitutivos: Estructurales.....	30
III.B. Mecanismos de defensa constitutivos: No estructurales.....	33
IV. Las benzoxazolinonas.....	34
IV.A. Estructura de las benzoxazolinonas.....	34
IV.B. Biosíntesis de los benzoxazinoideos.....	36
IV.C. Actividad insecticida de las benzoxazolinonas.....	37
IV.D. Actividad antifúngica de las benzoxazolinonas.....	42
IV.E. Actividad antibacteriana de las benzoxazolinonas.....	45
2. Justificación.....	48
3. Objetivos.....	48
3. Metodología:.....	49
4. Resultados.....	51
4.A. Diversidad de producción de fumonisinias entre las cepas de <i>Fusarium verticillioides</i>	51
4.B. Función de las benzoxazolinonas en la interacción <i>F. verticillioides</i> – maíz.....	54
4.C. Metabolismo de benzoxazolinonas en <i>F. verticillioides</i>	58
4.D. Rutas metabólicas alternas tras la formación 2-aminofenol (AP).....	62

4.E. Variabilidad en la resistencia a benzoxazolinonas en <i>F. verticillioides</i>	67
5. Discusión	72
6. Conclusiones	76
7. Perspectivas	77
8. Bibliografía:.....	78

INDICE DE FIGURAS:

	Página
Figura 1. <i>Fusarium verticillioides</i> al microscopio.	15
Figura 2. Variabilidad de pigmentación entre distintas cepas de <i>F. verticillioides</i> .	16
Figura 3. Cepa de <i>F. verticillioides</i> (MY3).	16
Figura 4. Mazorca de maíz que presenta pudrición.	18
Figura 5. Estructura química de las fumonisinas del grupo B.	23
Figura 6. Estructura de esfinganina.	23
Figura 7. Biosíntesis de fumonisinas.	25
Figura 8. Estructura hipotética de una red de cutina.	32
Figura 9. Estructura hipotética de una red de suberina.	32
Figura 10. Estructura hipotética de una red de lignina.	33
Figura 11. Benzoxazinoides y sus productos de degradación Benzoxazolinonas.	35
Figura 12. Biosíntesis y compartimentación en células vegetales.	37
Figura 13. Efecto de DIMBOA (0.3 mM) sobre el crecimiento de <i>Erwinia spp.</i> (SR-53) y ECZ (SR-120).	46
Figura 14. Promedio de aislamientos por planta obtenidos en medio de cultivo suplementado con 2-BOA.	55
Figura 15. Crecimiento de <i>Trichoderma viride</i> en presencia de BOA, BOA-6-OH, 6-metoxi-4- nitro-benzoxazolin-2(3 H)-ona (NMBOA), PIC-AC (ácido picolínico), MBOA (6-metoxibenzoxazolinona), 2-AP (2-aminofenol) y APO.	57
Figura 16. TLC de extractos de disolvente elaborados a partir de cultivos líquidos de <i>F. verticillioides</i> complementados con BOA o 2-aminofenol (2-AP).	59
Figura 17. Desintoxicación del BOA mediado por <i>F. verticillioides</i> .	61

- Figura 18.** Generación de BOA a partir de benzoxazinonas y metabolismo por hongos, bacterias y la planta. **63**
- Figura 19.** Modelo del posible mecanismo acción basado en la inhibición de HDAC mediado por los aleloquímicos APO y AMPO. **65**
- Figura 20.** Vía para nitración BOA-6-OH y MBOA. **67**
- Figura 21.** Patrón de crecimiento radial en cepas de *F. verticillioides* crecidas en medio PDA suplementado con BOA (0.5 mg/mL) durante 8 día. **68**
- Figura 22.** Efecto del BOA sobre en el crecimiento radial de las cepas FQPOOL (A) y MY3 (B). **69**
- Figura 23.** Tolerancia a benzoxazolinonas y producción de fumonisinas, dos metabolismos que contribuyen a la agresividad y colonización de maíz en *F. verticillioides* **76**

INDICE DE TABLAS:

	Página
Tabla 1. Producción de maíz en diferentes regiones.	21
Tabla 2. Niveles de fumonisinas presentes en diferentes productos de maíz.	26
Tabla 3. Efecto toxico de las fumonisinas en diferentes animales.	28
Tabla 4. Estructura química y sustituyentes de las principales benzoxazinonas y benzoxazolinonas.	35
Tabla 5. Valores de EC50 para BOA y MBOA de tres hongos patógenos de cereales.	43
Tabla 6. Valores de EC50 para APO, AAPO y o-AP de tres hongos patógenos de cereales.	44
Tabla 7. Estudios sobre la capacidad de producción de fumonisinas en distintas cepas de <i>F. verticillioides</i> aisladas de diversas fuentes en varias regiones geográficas.	52 y 53
Tabla 8. Estudios sobre la capacidad de tolerancia a BOA en distintas cepas de <i>F. verticillioides</i> aisladas de diversas fuentes en varias regiones geográficas.	69
Tabla 9. Estudios sobre la capacidad de tolerancia a BOA en distintas cepas de <i>F. verticillioides</i> aisladas de diversas fuentes en varias regiones geográficas.	70 y 71

ABREVIATURAS

µg- Microgramo

6-PAP- 6-pentil- α -pirona

AAMPO- 2-acetilamino-7-metoxi-3H-fenoxazin-3-ona

AAP o BOA-X - 2-acetamidofenol

AAPO- 2-acetilamino-3 H - fenoxazin-3-ona

ADN- Ácido desoxirribonucleico

AP- 2-aminofenol

APO- 2-amino- 3H -fenoxazin-3-ona

BCL- Bases esfingoideas de cadena larga

BOA- 1,3- benzoxazol-2-ona / 2-benzoxazolinona

BX- Benzoxazolinonas

BXD-Benzoxazinoides

CLA- Carnation Leaf Agar/ Agar Hoja de Clavel

CONABIO- Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la biodiversidad.

Conc.- Concentración

DIBOA-2,4-dihidroxi-2H-1,4-benzoxazin-3-ona

DIMBOA-2,4-dihidroxi-7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3-ona

DMSO- Dimetilsulfóxido

DON- Deoxinivalenol

FAO- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FB- Fumonisinias del grupo B

FB1- Fumonisina B1

FB2- Fumonisina B2

FB3- Fumonisina B3

GST-Glutación-S-transferasas

HDAC- histonas desacetilasas

HMPMA- N- Ácido (2-hidroxi-4-metoxifenil) malonámico

HPMA- ácido N- (2-hidroxifenil) malonámico

ITS- Región del espaciador transcrito interno

MBOA- 6-metoxi-1,3-benzoxazol-2-ona

Mpb- Millones de pares de bases

NBOA-6-OH- (6-hidroxi-5-nitrobenzo[d]oxazol-2(3H)-ona)

o-AP- o-aminofenol

OMS- Organización Mundial de la Salud

PDA- Agar Papa Dextrosa

PEN- Pendimetalina PKS-Policétido sintasa

SAMS- Sphinganine-Analog/
Análogo de esfingosina

TCA- Ciclo de Krebs.

TLC- Cromatografía en capa fina

TRIMBOA-Glc- 2-(2,4,7-trihidroxi-
8-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona)- β -
D - glucopiranososa

UGT- UDP-glucosiltransferasas

USDA- Departamento de agricultura
de EE. UU.

Resumen:

El maíz es un cereal que constituye la base de la alimentación de millones de personas en el mundo, y su productividad es limitada tanto por factores bióticos como abióticos. Entre los factores bióticos, el hongo ascomiceto *Fusarium verticillioides* es considerado el principal patógeno del maíz, por su ubicuidad y por provocar enfermedades a nivel de plántula, raíz, tallo, mazorca y grano. Este patógeno sintetiza y excreta una serie de micotoxinas, como la fumonisina B1 (FB1), que es un factor de virulencia, ya que su producción se asocia con una mayor agresividad de las cepas. Además, la presencia de la toxina merma la calidad de los granos y alimentos derivados de maíz. Las plantas han desarrollado un repertorio diverso de metabolitos de defensa contra fitopatógenos y plagas de insectos. Dentro de estos metabolitos destacan las benzoxazolinonas producidas en algunas gramíneas, incluyendo al maíz. Las benzoxazolinonas (1,3-benzoxazol-2-ona y 6-metoxi-1,3-benzoxazol-2-ona; BOA y MBOA, respectivamente), son ácidos hidroxámicos cíclicos, que tienen una amplia gama de actividades antialimentarias, antifúngicas, insecticidas, antimicrobianas y alelopáticas. Sin embargo, *F. verticillioides* ha evolucionado al metabolizar estos compuestos y entonces es tolerante a concentraciones que resultan inhibitorias para otros hongos. Esta capacidad de biotransformación de BX constituye una ventaja ecológica para *F. verticillioides* y explica su alta frecuencia en campos de maíz. La tolerancia está asociada con la conversión metabólica de MBOA y BOA a ácido N-(2-hidroxi-4-metoxifenil) malonámico y ácido N-(2-hidroxi-fenil) malonámico, respectivamente. El presente trabajo recopila evidencias sobre la amplia diversidad en la capacidad de producción de fumonisinas entre cepas de *F. verticillioides* reportados en la literatura. También explora la variabilidad en la capacidad de metabolizar BX para tratar de establecer una relación entre estas características como promotores de la virulencia de *F. verticillioides*.

1. Introducción

I. *Fusarium verticillioides*: Patógeno del maíz (*Zea mays*)

I.A. Taxonomía de *Fusarium verticillioides*

Fusarium es un género anamórfico (Forma teleomorfa: *Gibberella fujikuroi*) perteneciente a los ascomicetos del orden *Hypocreales* (clase *Sordariomycetes*) que agrupa a un gran número de especies. En el pasado y debido a su importancia en la agricultura la taxonomía de este género se basaba principalmente en criterios morfológicos del hongo en medios de cultivo, así como del tipo de planta huésped de donde se aislaba (Guarro, 2012).

Los criterios morfológicos más utilizados son la forma de reproducción (sexual y asexual), la presencia de clamidoconidias y/o la forma perfecta del hongo. Sin embargo, esta clasificación no describe totalmente la complejidad de este género y ha resultado en varias revisiones y reclasificaciones por lo que se han empleado secuencias de múltiples loci (ITS-genes de RNA ribosomal nuclear, *EF-1 α* , β -tubulina, Calmodulina y *RPB2*) para su certera identificación.

El uso de la región espaciadora transcrita interna (ITS-RNA ribosomal) para identificación por medio de PCR acompañado de secuenciación y uso de base de datos, es frecuente sobre todo en el ámbito clínico, ya que es un gen ortólogo, tiene un alto nivel de variación entre especies además de ser de fácil amplificación, sin embargo existen algunas desventajas con este gen, ya que la variabilidad de este es insuficiente para distinguir las diversas especies, complejos de especies de *Fusarium*, básicamente con el uso de esta secuencia se tiene cierta incapacidad para distinguir entre especies estrechamente relacionadas. Por lo anterior se ha optado por usar secuencias que han aportado mayor resolución, como el factor de elongación de la traducción 1 α (*EF-1 α*), y la subunidad 2 de la RNA polimerasa II (*RPB2*) (Balajee et al. 2020).

I.B. Morfología de *Fusarium verticillioides*

En muchas especies del género *Fusarium spp.* se observan macroconidias, que son un tipo estructura de reproducción anamórfica (asexual). Debido a que su morfología varía entre especies, este criterio no es concluyente y se emplean otras características como: la formación de cadenas monofiálides de conidias, la presencia o ausencia de clamidoconidias, los cuales son otro tipo de estructura de reproducción anamórfica, del tipo taloconidios y la presencia de esporodoquios que son estromas pequeños en forma de almohadilla, cubierta de conidióforos que se pueden observar en un medio CLA (*Carnation Leaf Agar*) el cual también promueve la formación de conidióforos. También se pueden formar esporodoquios los cuales son una masa compacta de hifas (Fig. 1) (Nelson et al. 1983).

En *F. verticillioides* se ha observado en mayor proporción la presencia de microconidias, ocasionalmente se observan macroconidias las cuales son pluricelulares, polimorfas y de mayor tamaño que las microconidias, además de no presentar clamidoconidias a diferencia de otras especies como *F. oxysporum* o *F. solani*.

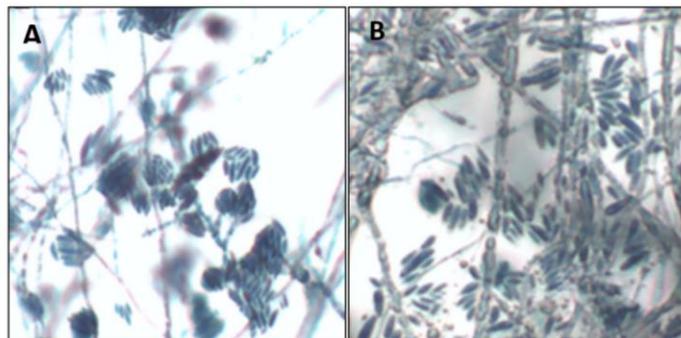


Figura 1. Morfología microscópica de *Fusarium verticillioides*. Microconidias de *F. verticillioides* producidas en esporodoquios **(A)** y en cadenas **(B)**. Tomado de: De la Torre-Hernández et al. (2014).

A nivel macroscópico algo que caracteriza a las colonias de *F. verticillioides* es la diversidad de pigmentación entre cepas de la misma especie, incubadas en el mismo medio, por lo que la morfología colonial no suele ser un criterio definitivo. Un claro ejemplo de esta diversidad puede observarse en la Figura 2, donde se presentan micelios vegetativos de 4 cepas distintas de *F. verticillioides* en agar papa dextrosa (PDA).

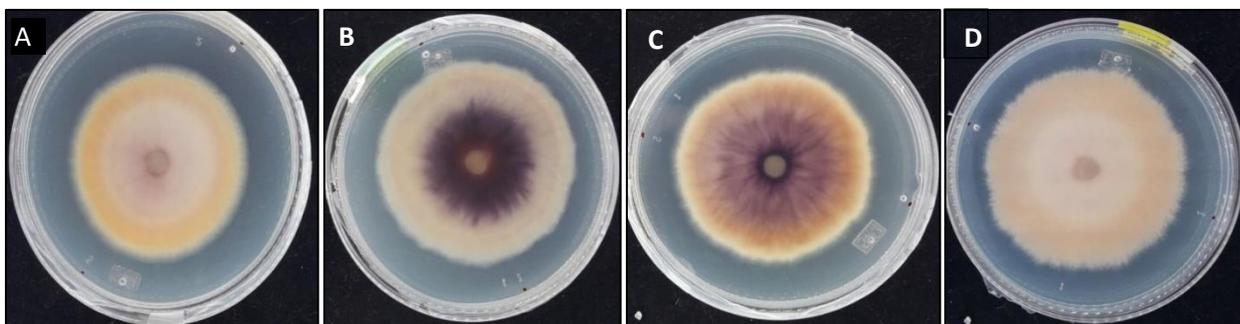


Figura 2. Variabilidad de pigmentación entre distintas cepas de *F. verticillioides*. FQZR24 (A), PAL1 (B), MY3 (C), FQ65 (D) Se observan colonias micelio vegetativo de *F. verticillioides* crecidas en un medio PDA durante 8 días de crecimiento.



Figura 3. Diferencias morfológicas de *F. verticillioides* (MY3) en medio agar papa dextrosa. Se observa colonia (Micelio aéreo y vegetativo) en un medio PDA con 8 días de crecimiento.

Por ejemplo, en el caso del medio PDA se presenta un micelio aéreo blanco algodonoso y un micelio vegetativo que va de naranja a púrpura (Figura 3). Actualmente ya se cuenta con el genoma de *F. verticillioides* completamente secuenciado, el cual tiene un tamaño aproximado de 42 Mb distribuidos en 12 cromosomas y su anotación predice más de 14,000 genes (Ma et al. 2010).

I.C. Enfermedades en el maíz causadas por *F. verticillioides*

F. verticillioides es capaz de infectar la planta de maíz en todas las etapas de crecimiento, causando varios tipos de enfermedades, como el tizón de las plántulas y la pudrición del tallo, semilla, raíz y el grano o mazorca (Kommedahl et al. 1981). A continuación, se describen con mayor detalle estas enfermedades.

I.C.1. Tizón de la plántula

Esta enfermedad ocurre por la presencia de *F. verticillioides* en la semilla pues sobrevive como endófito bajo el pericarpio, o bien en el suelo donde se siembra. Se le denomina plántula a los primeros estadios de desarrollo de la planta desde que germina la semilla hasta que se presenten las primeras hojas verdaderas. El tizón de la planta es un tipo de enfermedad que se caracteriza por la destrucción rápida y generalizada de hojas y tallos. Los síntomas distintivos pueden presentarse como una decoloración café de las plántulas o de un verde pálido a amarillentas. Esto puede variar cuando el sistema radicular se ve afectado, ya que las zonas café pueden ser las raíces y el coleóptilo lo que conduce a una reducción del tamaño y del vigor de las plántulas o una decoloración negra que indica la pudrición total de la raíz (Oldenburg et al. 2017).

Para que se presenten los síntomas del tizón de la plántula como lo son: la reducción del peso de las raíces, retraso del crecimiento y las lesiones en las

hojas es necesaria la producción de la micotoxina fumonisina, que se describirá más adelante (Glenn et al. 2008).

Por ello, las cepas de *F. verticillioides* productoras de fumonisinas son más agresivas y tienen una mayor capacidad de colonización de plántulas de maíz (Desjardins et al. 2007; Galeana-Sánchez et al. 2017).

I.C.2. Pudrición de mazorca y grano.

La pudrición de la mazorca se caracteriza por la decoloración y un número reducido de granos. Los granos infectados desarrollan un crecimiento algodonoso o polvoso de color blanco-rosado, además se observan líneas blancas por debajo del pericarpio con un patrón radial. Estos signos y síntomas se muestran en la Figura 4 (Mesterhazy et al. 2012).



Figura 4. Mazorca de maíz que presenta pudrición. Se observan rayas blancas debajo del pericarpio del grano, características de esta enfermedad. Tomado de: Jeschke 2020).

Esta enfermedad disminuye el rendimiento de la producción del maíz e influye en la calidad de las semillas (Lanubile et al. 2017), lo que da paso a una segunda infección completando así el ciclo de infección de este patógeno.

Se ha comprobado que la incidencia de cepas de *F. verticillioides* a lo largo de la planta es mayor si se trata de cepas que provocan inicialmente pudrición de la mazorca, en comparación con las cepas que causan pudrición del tallo en un inicio. Debido a la relación en la etiología entre estas dos enfermedades, regularmente se da una infección cruzada (Gai et al. 2018).

La severidad de la pudrición del grano de maíz depende de muchos factores como condiciones ambientales, densidad del cultivo, presencia de plagas de insectos, así como aspectos de la cosecha y almacenamiento. Asimismo, características de las distintas variedades de maíz, como: cobertura de la mazorca, tipo del endospermo y composición del pericarpio afectan también el grado de colonización y la producción de fumonisinas (Kowalska et al. 2017). A diferencia del tizón de la plántula, la síntesis de fumonisinas no es indispensable para que ocurra la pudrición de mazorca y grano, pero su presencia merma la calidad (Desjardins et al. 2002).

I.D. Rutas de Infección de *F. verticillioides*

La infección de la mazorca por *F. verticillioides* procede por dos principales rutas. La primera es a través del estigma cuando se trata de un inóculo aéreo; las conidias transportadas por el agua se depositan en este tejido. A partir del acceso por esta apertura natural, el patógeno puede infectar a las células del pericarpio, además la hifa del hongo crece en la superficie de la cutícula para poder llegar al grano, a través de la parte inferior del canal estilar (Duncan & Howard, 2010). La segunda ruta de infección la constituyen las heridas mecánicas provocadas por insectos, por lo que la alta incidencia de estas plagas contribuye al aumento en la gravedad de la pudrición de la mazorca en el maíz (Mazzoni et al. 2011).

La estrategia más eficiente para controlar la pudrición de mazorca y minimizar las pérdidas, es mediante la selección y uso de genotipos con niveles altos

de resistencia. En los híbridos y líneas endogámicas de maíz que presentan resistencia a la enfermedad, ésta se encuentra bajo un control poligénico con heredabilidad de baja a media, y está fuertemente influenciada por el medio ambiente. Esta complejidad se refleja en que aún no se ha logrado obtener algún genotipo completamente resistente (Kuki et al. 2020).

Se han descrito correlaciones genéticas positivas entre la pudrición de la mazorca y la concentración de fumonisinas del grano, esto sugiere que la selección directa contra la pudrición de la mazorca también debería mejorar la resistencia a la contaminación por fumonisinas de grano. Sin embargo, la naturaleza poligénica de la resistencia a la pudrición de la mazorca, ha dificultado incorporar altos niveles de esta característica en genotipos de maíz comercial (Hung & Holland, 2012; Robertson et al. 2006).

I.E. Producción de micotoxinas por *F. verticillioides*

F. verticillioides tiene la capacidad de producir una serie de toxinas que afectan la calidad y valor de los granos pues tienen efectos nocivos en animales y humanos cuando los consumen. La variedad de micotoxinas que produce este hongo es amplia, las más destacables y estudiadas son las zearalenonas, la moniliformina, las fusarinas, el ácido fusárico y las fumonisinas entre otras que se producen en menor abundancia en la naturaleza (Takitani et al. 1979; Desjardins et al. 2001; Nelson et al. 1992). Más adelante se abundará sobre las fumonisinas que son las principales micotoxinas producidas por este patógeno.

I.F. Importancia del cultivo del maíz

El maíz (*Zea mays L.*) es un cereal indispensable en la dieta de grandes segmentos de población en distintas regiones geográficas en el mundo por lo que

tiene una alta importancia económica. De acuerdo con los datos recopilados por la USDA (Departamento de Agricultura de EE. UU.), en el periodo 2020/2021 la producción de maíz fue la mayor entre todos los cereales, superando así al arroz y al trigo (Tabla 1).

Tabla 1. Producción de maíz en diferentes regiones. Tomado de: USDA (2022).

País / Región	Producción de maíz (millones de toneladas).	
	2019/2020	2020/2021
Mundial	1234.25	1237.68
México	29.38	30.15
China	287.45	287.33

En México este cereal es la base de la alimentación al ser la fuente principal de energía en la dieta. Según la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) el consumo per cápita es de alrededor de 350 g por día principalmente como tortilla y otros productos nixtamalizados. Además, México cuenta con una gran diversidad de genotipos de maíz. La producción de maíz se ve limitada por factores abióticos como: temperaturas extremas, sequía, suelos ácidos, salinidad, entre otros, y por factores bióticos tales como: microorganismos patógenos, insectos e incluso algunos roedores. Debido a la importancia del maíz a nivel mundial se busca incrementar su producción y la calidad del grano, buscando fuentes de tolerancia y resistencia a plagas y enfermedades entre la amplia diversidad genética de este cultivo (Showkath Babu et al. 2020).

Existe una amplia variedad de patógenos que residen en el maíz causando enfermedades que disminuyen el rendimiento de los cultivos.

Sin embargo, *Fusarium verticillioides* destaca dentro de estos patógenos ya que es causante de infecciones en campo durante todas las etapas de desarrollo de la planta infectando raíces, tallos y semillas además tiene la capacidad de producir micotoxinas que afectan la calidad del grano (Bacon et al. 1992; Munkvold et al. 1997). Aunque este hongo esté relacionado principalmente con el maíz, otras especies del género *Fusarium* pueden causar enfermedades también.

II. Fumonisin

II.A. Estructura de las fumonisin

Las fumonisin comprenden un amplio grupo de micotoxinas, conformado por más de 60 moléculas y compuestos análogos. Hasta el momento, se han clasificado veintiocho fumonisin en cuatro grupos principales, que incluyen las series A, B, C y P (Farhadi et al. 2021). Las fumonisin más abundantes en condiciones de campo e incidencia natural pertenecen al grupo B, derivadas de la mayoría de las cepas de *F. verticillioides*

Las fumonisin B (FB) contienen un esqueleto lineal de 20 carbonos, con un grupo amino en el C-2 y residuos de ácidos tricarbóxicos esterificados en C-14 y C-15. Estos compuestos difieren por la presencia o la ausencia de un grupo hidroxilo en los C-5 y C-10. Dentro de esta familia predominan las fumonisin B1, B2 y B3, y es la FB1 la que conforma más del 75% del total de las fumonisin (Fig. 5) (de la Torre-Hernández et al. 2014).

La FB1 es una micotoxina análoga estructuralmente a la esfinganina, por lo que se acuñó el término SAM (Sphinganine-Analog Mycotoxin) (Sánchez-Rangel et al. 2012). La esfinganina es una base esfingoidea de cadena larga (BCL), que es precursor en la biosíntesis de esfingolípidos; su estructura la compone un esqueleto lineal de 18 carbonos donde se encuentran dos grupos hidroxilo en el

C-1 y el C-3, además de un grupo amino en el C-2 (Fig. 6). La considerable similitud estructural de la FB1 con la cadena principal de la BCL explica el modo de acción de la FB1 como un potente inhibidor competitivo de la esfinganina-N-acetiltransferasa. Esta enzima cataliza la condensación entre la BCL con un ácido graso para formar ceramida, por lo que su inhibición causa la acumulación de BCL como esfinganina, esfingosina y fitoesfingosina (Wang et al. 1991).

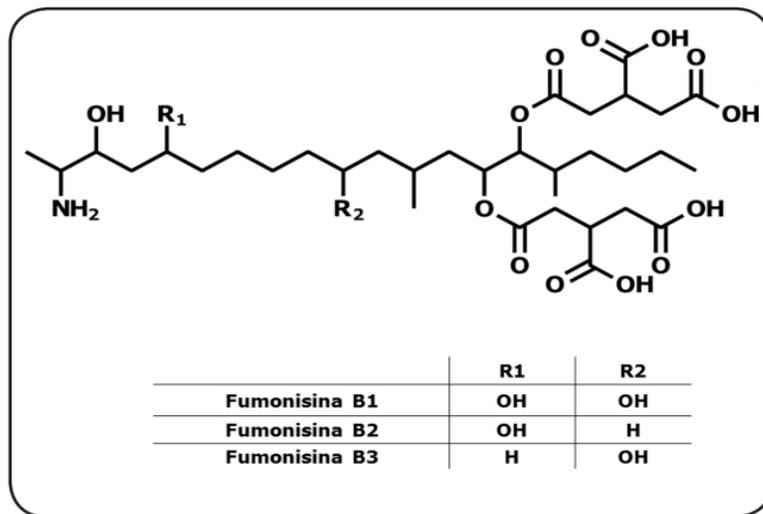


Figura 5. Estructura química de las fumonisinas del grupo B (FB1, FB2 y FB3).
Tomado de: de la Torre-Hernández et al. (2014).

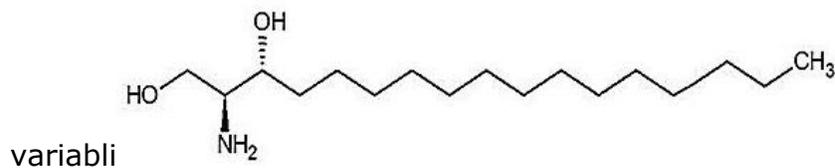


Figura 6. Estructura química de esfinganina.

II.B. Biosíntesis de fumonisinas y estructura del Locus *FUM*

La biosíntesis de las FB es mediada por una serie de enzimas y proteínas accesorias codificadas por un conjunto de genes agrupados en el locus *FUM*. Éste se localiza en el cromosoma 1 de *F. verticillioides* y consta de 17 genes (Fig. 7A) co-regulados transcripcionalmente (Visentin et al. 2012).

Estas toxinas se sintetizan mediante el metabolismo de los policétidos, partiendo del acetato. Por evidencias genéticas y bioquímicas se propone la siguiente ruta: la fase inicial es catalizada por una policétido sintasa (PKS), codificada por el gen *FUM1* responsable del ensamblaje del esqueleto de la molécula (Fig. 7B). El producto del gen *FUM8*, es una aminotransferasa que acarrea el grupo amino de la alanina al policétido generado previamente por *FUM 1*, completando así la longitud de la molécula (20 carbonos). Estos dos genes son esenciales pues, si existe alguna mutación en alguno de ellos, la producción de FB resulta nula (Proctor et al. 2001). El gen *FUM6* codifica una dioxigenasa, la cual cataliza las hidroxilaciones en los C-14 y C-15 (Uhlig et al. 2012). El producto formado es modificado por la acción del producto del gen *FUM13* el cual es una reductasa que reduce el carbonilo en el C3. Los productos de los genes *FUM7*, *FUM10*, *FUM11* y *FUM14* participan en la esterificación de los ácidos tricarbóxicos en las posiciones C-14 y C-15, que distinguen a estas moléculas y confieren su región polar.

La mayoría de los genes contenidos en este locus participan en la biosíntesis de la toxina, sin embargo, otras funciones también están presentes: el gen *FUM19* codifica un transportador del tipo ABC que participa a la secreción de la toxina, y el producto del gen *FUM21* codifica un factor transcripcional que regula la expresión de otros genes dentro del locus. *FUM21* es una proteína de unión a al DNA con dominios de Zn (II) 2 Cys6 (dedos de zinc) predicha y un factor de transcripción que regula positivamente al locus *FUM* (Brown et al. 2007).

En la naturaleza sobreviven cepas de *F. verticillioides* incapaces de sintetizar fumonisinas, debido a alguna mutación en algún gen indispensable como el gen *FUM1*, o bien tienen alguna inserción/delección en el locus *FUM*. También ocurren mutaciones en otros genes pertenecientes al locus, como aquellos que codifican las oxigenasas responsables de la hidroxilación en C-10 y C-5 del esqueleto; lo anterior provoca que no produzcan FB1 y, entonces, acumulan FB2 y/o FB3 (de la Torre-Hernández et al. 2014).

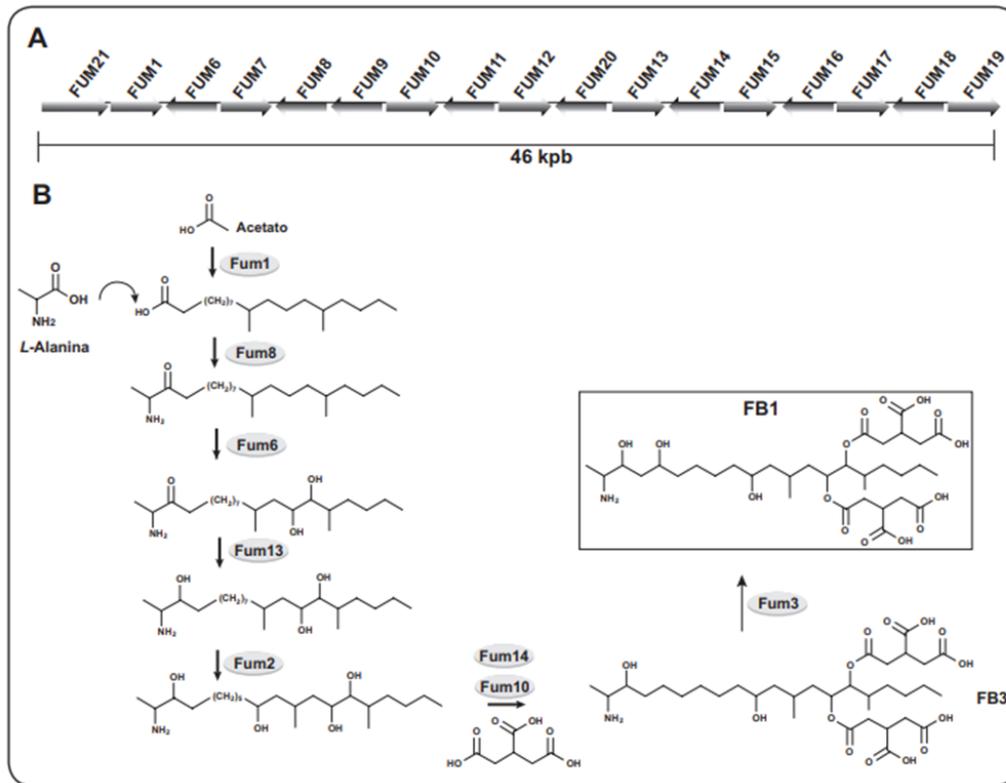


Figura 7. Biosíntesis de fumonisinas. A. Estructura del locus *FUM*. **B.** Ruta de biosíntesis de fumonisinas. Tomado de: de la Torre-Hernández et al. (2014).

II.C. Niveles de fumonisinas en el maíz

Dada la importancia de las fumonisinas para la salud humana, el gobierno y la industria de procesamiento de alimentos de muchos países han implementado programas para monitorear los niveles de micotoxinas en los granos y productos de maíz (Lanza et al. 2017).

Los valores reportados mundialmente (Tabla 2) abarcan distintos tipos de productos donde se realizó un muestreo y detección de fumonisinas, desde rastrojo de maíz, hasta productos alimenticios procesados. El rango de concentración de fumonisinas es muy amplio, pues va de 0.024 µg/g hasta 19.18 µg/g, las concentraciones más bajas presentadas fueron aquellas provenientes de productos a base de maíz para consumo animal y humano, lo que puede atribuirse a la destrucción de estas micotoxinas e incluso de *F. verticillioides* tras el proceso industrial de estos productos.

Tabla 2. Niveles de fumonisinas presentes en diferentes productos de maíz.

Origen	Muestra y Referencia	Niveles de fumonisinas
Jalisco, México.	Rastrojo de maíz (Reyes-Velázquez et al. 2018)	0.23 - 19.18 µg/g
Silesia, Polonia	Harina de maíz (Kowalska et al. 2017)	6,342 µg/g
Silesia, Polonia	Muestras varias de productos de maíz (Kowalska et al. 2017)	0.23 - 6.45 µg/g
Brasil	Granos de maíz (Lanza et al. 2017)	1 - 7.24 µg/g
Colombia	Maíz y productos a base de maíz para consumo animal (Perilla et al. 1998)	0.032 - 2.964 µg/g
Colombia	Maíz y productos a base de maíz para consumo humano (Perilla et al. 1998)	0.024 - 2.170 µg/g
Linxian, China	Granos de maíz, granero/ Producción para venta (Wang et al 2008)	0.30 - 3.20 µg/g
Linxian, China	Granos de maíz, hogar/ consumo (Wang et al 2008)	0.25 - 1.80 µg/g

En cambio, en animales se tienen valores de concentraciones a las que se presentan una variedad de efectos tóxicos (Tabla 3). Se reportan una gran

variedad de efectos tóxicos como disminución del aumento del peso, daño renal e incluso cáncer hepático, y el tiempo en el que se presentan estos efectos varía en su mayoría del caso es dependiente de la dosis. La exposición a concentraciones reportadas en cultivos de maíz (FB1: 1-160 $\mu\text{g/g}$, FB2:1-49 $\mu\text{g/g}$, FB3: 1-2.6 $\mu\text{g/g}$) en periodos largos puede generar algún resultado tóxico, como es el caso del ensayo realizado por el autor Ross et al. (1991), ya que el nivel de fumonisinas al que se reportó leucoencefalomalacia equina fue de solo de $>10 \mu\text{g/g}$, pero la ingesta fue durante un periodo prolongado.

Tabla 3. Efecto tóxico de las fumonisinas en diferentes animales.

Animal	Niveles de fumonisinas	Fumonisina	Periodo de ingestión	Efecto tóxico	Referencia
Ternero (<i>Bos Taurus</i>)	1 mg/kg de peso corporal	FB1	7 días	Daños hepáticos y renales después de 2 a 4 días de la ingestión	Mathur et al. 2001
Cordero (<i>Ovis orientalis aries</i>)	455 mg/día	FB1,FB2 y FB3	7 días	Lesión renal grave	Edrington et al. 1995
Pollo (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	≥200 ppm	FB1	21 días	Necrosis hepática	Ledoux et al.1992
Pollo (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	≥300 ppm	FB1	21 días	Hiperplasia biliar	Ledoux et al.1992
Pollo (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	≥ 100 ppm	FB1	21 días	Atrofia cortical tímica	Ledoux et al.1992
Rata (BD IX) (<i>Rattus norvegicus</i>)	≥50 ppm	FB1	24 meses	Cáncer hepático	Gelderblom et al. 1991
Pato (<i>Anas platyrhynchos</i>)	5 mg/kg de peso corporal	FB1	12 días	Daño hepático	Bailly et al. 2001
Bagre (<i>Siluriformes</i>)	≥20 mg (del material de cultivo)/kg	FB1	10-14 días	Disminución del aumento de peso, parámetros hematológicos alterados, alteraciones morfológicas hepáticas	Lumlertdacha y Lovell, 1995
Cerdo (<i>Sus scrofa domesticus</i>)	0,174 mg de FB1/kg peso corporal.	FB1	7 días	Edema pulmonar e hidrotórax	(Harrison et al. 1990)
Caballo (<i>Equus caballus</i>)	>10 µg/g	FB1	35 días	Leucoencéfalomalacia equina	(Ross et al. 1991)

En el caso de humanos, es complicado relacionar una concentración exacta de ingesta de FB con la aparición de la amplia gama de síntomas reportados (Coradi et al. 2016). El consumo de fumonisinas en humanos se ha relacionado con genotoxicidad (Domijan et al. 2015), neurotoxicidad (Doi & Uetsuka 2011), defectos del desarrollo del tubo neural (Marasas et al. 2004) y cáncer en esófago (Norred et al. 1994). No se cuentan con unas concentraciones exactas de fumonisinas en maíz o sus derivados en el que se presenten estas afecciones. Sin embargo, se han realizado una serie de estudios epidemiológicos que apoyan la asociación entre estos efectos tóxicos y la presencia de fumonisinas en el maíz.

En el caso del cáncer de esófago, en 1989 se recolectaron muestras de maíz del condado de Linxian, un área de alta incidencia de cáncer de esófago, además de un muestreo en Shangqiu, el condado con menor número de pacientes con cáncer de esófago humano en China. Las muestras se analizaron en busca de contaminación por fumonisina (FB1 y FB2). De las muestras positivas para fumonisinas, los niveles medios en el maíz Linxian fueron de 872 ng/g para FB1 y 448 ng/g para FB2 mientras que los maíces Shangqiu tenían 890 ng/g de FB1 y 330 ng/g de FB2. Aunque los niveles no fueron realmente diferentes entre ambos condados, la incidencia e contaminación por fumonisinas del maíz Linxian (48 %) fue aproximadamente dos veces mayor que la del maíz Shangqiu (25 %). (Yoshizawa et al. 1994). Estos datos apoyan la influencia del consumo de alimentos contaminados con fumonisinas con el desarrollo de cáncer de esófago. Uno de los estudios sobre el efecto del consumo de fumonisinas en el desarrollo de defectos del tubo neural se realizó a lo largo de la frontera entre Texas y México, debido al aumento de la prevalencia de estos defectos, y por el alto consumo de maíz por parte de esta población. Evaluaron si la exposición materna aumenta o no el riesgo de defectos del tubo neural en la descendencia mediante un estudio de casos y controles basado en la población. Los resultados del ensayo sugieren que el consumo moderado (301–400 ng/g tortillas en un trimestre, lo que corresponde a 150 – 650 ng de fumonisinas /día/kg de peso materno durante

el primer trimestre está asociado con mayores probabilidades de tener un embarazo afectado por defectos del tubo neural (Missmer et al. 2006).

Además de estos efectos, estudios *in vitro* han revelado que a pesar de no ser mutagénica, la FB1 induce daño clastogénico (induce la fragmentación de cromosomas) en células de mamíferos a través de un mecanismo indirecto (inducción de estrés oxidativo) a una concentración de FB1 de 10 μM después de 48 h de incubación (Knutsen et al. 2018; Pinhão et al. 2020; Mary et al. 2012).

Los resultados aportados por estos estudios y otros han permitido establecer lineamientos por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) junto con la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el sentido de establecer el límite máximo de consumo diario tolerable de fumonisinas a 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal al día para FB1, FB2, y FB3 ocurriendo por separado, o por la cantidad total de fumonisinas (Kowalska et al. 2017).

III. Mecanismos de Defensa de las plantas

Las plantas son comúnmente blanco de una gran variedad de agentes infecciosos, como hongos, bacterias, virus, entre otros. Las plantas poseen varios mecanismos de defensa que previenen la penetración del microorganismo patógeno y/o limitan el grado de colonización a través de respuestas bioquímicas. En general, estos mecanismos de defensa se clasifican en constitutivos e inducidos. Dentro de los mecanismos constitutivos hay estructurales y no estructurales.

III.A. Mecanismos de defensa constitutivos: Estructurales.

Los tejidos vegetales cuentan con barreras estructurales preformadas que ayudan a limitar la infección de los microorganismos patógenos, las cuales son

denominadas barreras físicas, iniciando con la pared celular. Esta juega un papel fundamental en la línea de defensa estructural contra patógenos fúngicos y bacterianos. En ésta se incorporan una variedad de defensas químicas de rápida acción tras la detección de patógenos.

La pared celular vegetal está compuesta principalmente por celulosa, que es un polímero de glucosas unidas por enlaces β (1 \rightarrow 4). Las microfibrillas de celulosa se acomodan en el plano de la superficie celular para formar el andamiaje de la pared. Ésta puede engrosarse por la deposición de nuevas microfibrillas en la cara interna, y también puede expandirse en el área, lo que forma la base del crecimiento de las células y el crecimiento vegetal general.

Comúnmente, la cara interna de la pared celular está en contacto con la membrana plasmática vegetal, aunque la mayor parte del área de la pared no está unida firmemente a la membrana. La adhesión entre células vecinas es mucho más fuerte y se logra a través de la lamela media, que imparte cohesión al tejido. La lamela contiene niveles elevados de pectinas ácidas, que contribuyen a la adhesión. Las pectinas son un grupo heterogéneo de polisacáridos ricos en ácido galacturónico. En particular, las pectinas pueden presentar modificaciones importantes que les permiten tener un papel crítico en las propiedades biomecánicas de la pared celular influyendo sobre su porosidad, permeabilidad y elasticidad, entre otras (Salazar y Gamboa de Buen 2013).

Para su estudio, la pared celular se divide en primaria y secundaria. La pared celular primaria está compuesta por microfibrillas que se incorporan mientras que la estructura aun es capaz de crecer. Ocasionalmente, macromoléculas adicionales como lignina, cutina, suberina y extensinas, se infiltran entre las microfibrillas de una pared primaria haciéndola más fuerte.

La cutina es un polímero formado principalmente por ácidos grasos, hidróxidos y epóxidos, los cuales se encuentran formando enlaces tipo éster entre sí.

Debido a los enlaces covalentes entre sus monómeros, la cutina resiste daños mecánicos (Tafolla-Arellano et al. 2013). La suberina es un poliéster reticulado, formado por hidroxi- o epoxi- ácidos grasos unidos por uniones éster. Sin embargo, la suberina difiere de la cutina en que tiene ácidos dicarboxílicos, componentes de cadena más larga, y una proporción significativa de fenoles como parte de su estructura (Gandini et al. 2006).

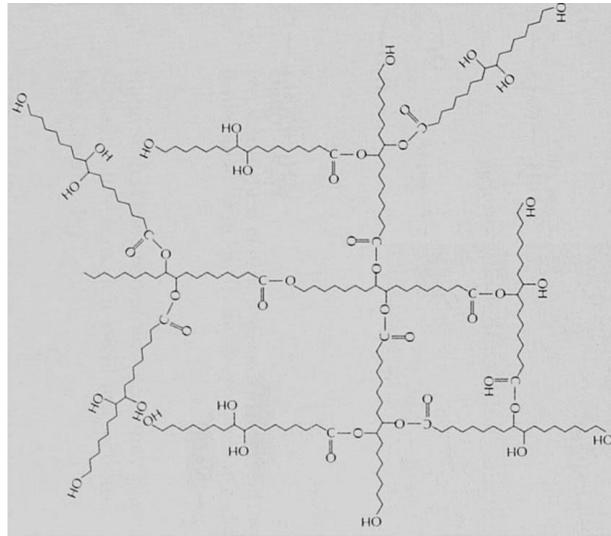


Figura 8. Estructura hipotética de una red de cutina. Tomado de: Buchanan et al. (2000).

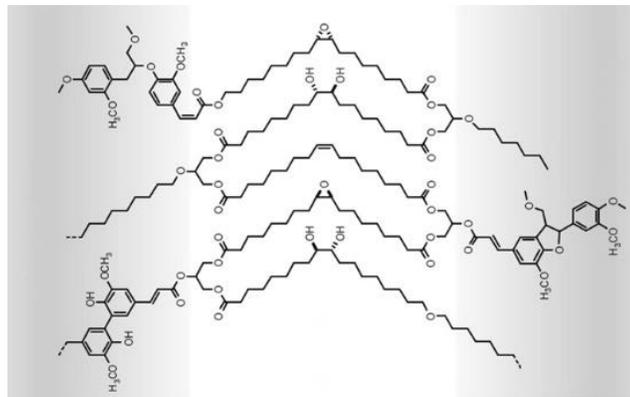


Figura 9. Estructura hipotética de suberina. Tomado de: Graça et al. (2015).

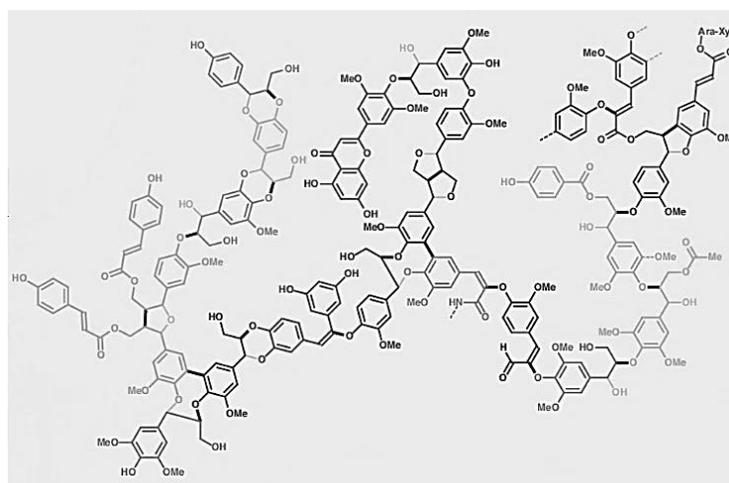


Figura 10. Estructura hipotética de la lignina. Tomado de: Ralph et al. (2019).

IIII.B. Mecanismos de defensa constitutivos: No estructurales

Además de las barreras físicas, las plantas cuentan con una gran variedad de moléculas preformadas que tienen actividad antimicrobiana y/o insecticida. A estos compuestos se les conoce como fitoanticipinas, y generalmente están almacenadas como glucósidos inactivos, que son hidrolizados para liberar el aglicón. Ejemplos de estos, son las saponinas que poseen propiedades surfactantes que tienen actividad lítica sobre membranas biológicas, esencial para su actividad antimicrobiana. Estas moléculas son particularmente efectivas para contener la infección por hongos fitopatógenos.

Otro tipo de compuestos no estructurales que forman parte del mecanismo de defensa de algunas plantas son los glucósidos cianogénicos, los cuales son precursores de ácido cianhídrico (HCN). Este compuesto presenta una gran toxicidad respiratoria en la mayoría de los organismos y es importante en la defensa contra herbívoros y patógenos (Plasencia, 2016).

IV. Las benzoxazolinonas

Entre las moléculas que forman parte de las defensas constitutivas no estructurales en el maíz y otros cereales, se encuentran las benzoxazinonas los cuales se transforman a benzoxazolinonas, su forma activa. En la literatura referida a estos compuestos comúnmente se usa el término benzoxazinoides (BXD) para referirse a ambos compuestos, a las benzoxazinonas (glucósidos y agluconas sin actividad) y sus productos de degradación, benzoxazolinonas (agluconas con actividad) (Wouters et al. 2016). Las benzoxazinonas y benzoxazolinonas son catalogadas como mecanismos de defensa constitutivos, aunque los niveles de algunos de estos compuestos aumentan en respuesta a la infección.

IV.A. Estructura de las benzoxazinonas

Las benzoxazinonas se pueden clasificar según su grupo sustituyente (Tabla 4) R^1 en lactamas ($R^1 = H$), ácidos hidroxámicos ($R^1 = OH$) y derivados N-O-metilados ($R^1 = OMe$), los grupos funcionales y otros sustituyentes modulan la estabilidad y reactividad de estos compuestos y así sus actividades biológicas (Wouters et al. 2016).

Tabla 4. Estructura química de las principales benzoxazinonas y benzoxazolinonas.

Benzoxazinona	R ¹	R ²	R ³	Estructura general
DIBOA	-OH	-H	-H	
DIMBOA	-OH	-O-CH ₃	-H	
HBOA	-H	-H	-H	
HMBOA	-H	-OCH ₃	-H	

Benzoxazolinona	R ²	R ³	Estructura general
BOA	-H	-H	
MBOA	-OCH ₃	-H	

La familia de estas moléculas es muy amplia, sin embargo, las estructuras de origen natural más comunes son: 2,4-dihidroxi-2*H*-1,4-benzoxazin-3-ona (DIBOA) y 2,4-dihidroxi-7-metoxi-2*H*-1,4-benzoxazin-3-ona (DIMBOA). Estos compuestos residen como glucósidos en las vacuolas de células vegetales, son inestables en solución acuosa y se degradan espontáneamente a las correspondientes benzoxazolinonas: 6-metoxi-1,3-benzoxazol-2-ona (MBOA) y 1,3-benzoxazol-2-ona (BOA), las formas biológicamente activas (Fig. 11; Saunders et al. 2008).

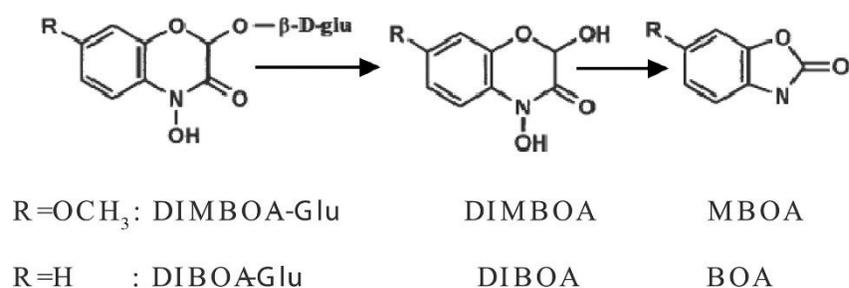


Figura 11. Benzoxazinoides y sus productos de degradación benzoxazolinonas. Tomado de: Saunders et al. (2008).

IV.B. Biosíntesis de los benzoxazinoides

La biosíntesis de estos compuestos inicia en el cloroplasto con la conversión del fosfato de indol-3-glicerol en indol en los cloroplastos por la enzima indol-3-glicerol fosfato liasa (BX1) (Fig. 12.1). El indol formado se convierte en DIBOA mediante la incorporación de cuatro átomos de oxígeno. Estas oxidaciones se llevan a cabo mediante cuatro monooxigenasas de la subfamilia de citocromos P450 (BX2 - BX5), que se encuentran en el retículo endoplásmico y son específicas de sustrato para la introducción secuencial de átomos de oxígeno (Fig. 12.2). El siguiente paso es la glicosilación del DIBOA por la acción de las UDP-glucosiltransferasas (UGT) BX8 y BX9, disminuyendo así su reactividad y proporcionando un intermediario más estable para modificaciones adicionales (Fig. 12.3). A continuación, el DIBOA-Glc puede hidroxilarse mediante la dioxigenasa BX6 dependiente de 2-oxoglutarato, y O-metilarse adicionalmente mediante la O-metiltransferasa BX7, formando DIMBOA-Glc. Luego, se puede formar el HDMBOA-Glc través de un O-reacción de metilación catalizada por un grupo de tres O- metiltransferasas homólogas, BX10, BX11, BX12 y BX14. Recientemente, se ha descrito una rama adicional en la ruta, donde BX13, una dioxigenasa dependiente de 2-oxoglutarato, cataliza la conversión de DIMBOA-Glc en TRIMBOA-Glc; este último puede ser O-metilado por BX7 para formar DIM-2-BOA-Glc, que puede ser metilado adicionalmente por la O-metiltransferasa BX14 para generar HDM 2-BOA-Glc. Se considera que los glucósidos estables de BXD se transportan y almacenan en la vacuola y las β -glucosidasas que hidrolizan estos compuestos, en maíz se encuentran principalmente en los cloroplastos (Fig. 12.4/ 12.5). Sin embargo, esta distribución puede variar según la especie, el tejido y la edad de la planta. Cuando ocurre daño mecánico por herbívoros o ataque por patógenos, los glucósidos estables son hidrolizados por las β -glucosidasas para generar las agluconas reactivas (benzoxazinonas) que se degradan espontáneamente a

benzoxazolinonas, compuestos con actividad biológica (Fig. 12.6) (Wouters et al. 2016).

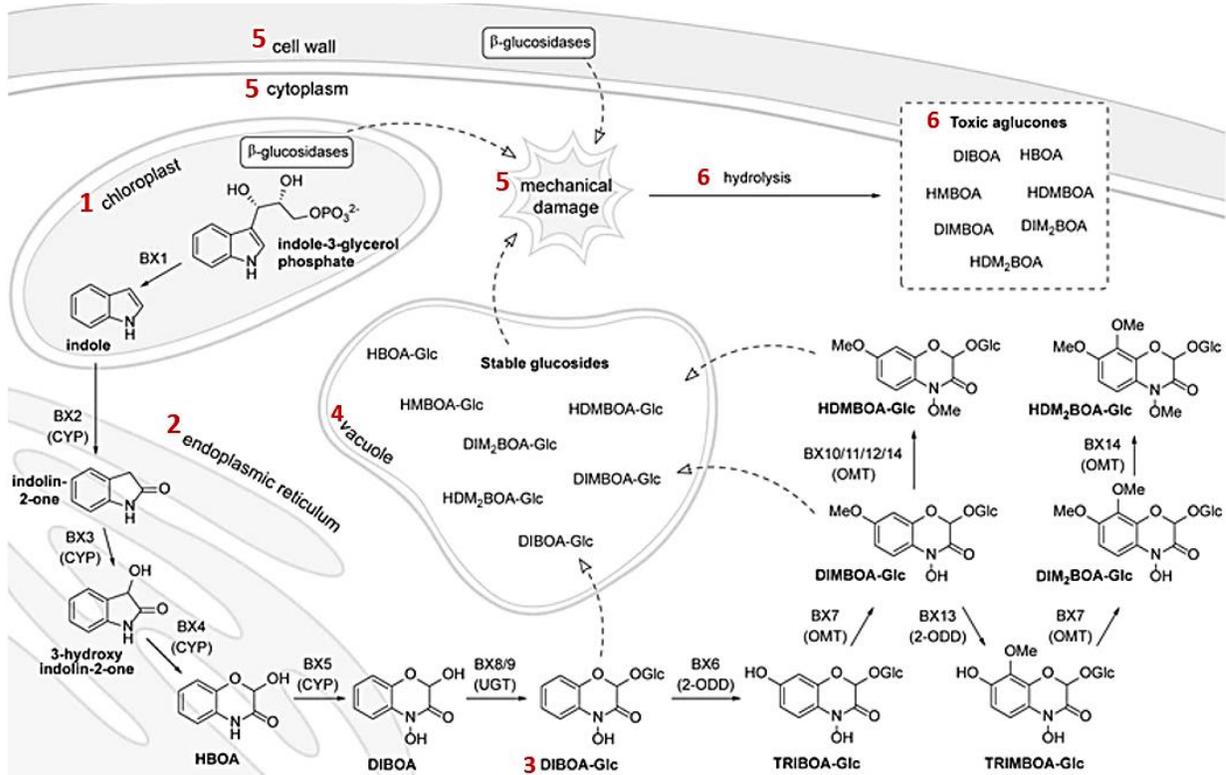


Figura 12. Biosíntesis de benzoxazolinonas y su compartimentación en células vegetales. 1. En los CLOROPLASTOS la enzima BX1 forma el indol. 2. El indol formado se convierte en DIBOA, mediante una serie de monooxigenasas presentes en el RETICULO ENDOPLÁSMICO. 3. El DIBOA es glicosilado. 4. Los glucósidos de benzoxazolinonas son almacenados en la vacuola. 5. Tras un DAÑO MECANICO β -glucosidasas, entran en contacto con los glucósidos almacenados 6. Las β -glucosidasas HIDROLIZAN a los glucósidos formando AGLUCONAS que son transformadas a las formas activas 2-BOA y MBOA. Tomado de: Wouters et al. (2016).

IV.C. Actividad insecticida de las benzoxazolinonas

A pesar de que la actividad insecticida de las benzoxazolinonas se conoce hace muchos años, los mecanismos de acción molecular subyacentes y los mecanismos fisiológicos responsables de estos efectos no se comprenden por completo. Desde el descubrimiento de estos compuestos se han realizado una

vasta cantidad de estudios y bioensayos *in vitro* que han demostrado que estos compuestos tienen efectos inhibidores y tóxicos hacia una amplia gama de enzimas como la glutatión-S-transferasa (Mukanganyama et al. 2003) y la N-desmetilasa entre otras (Feng et al. 1992) y organismos diana en insectos herbívoros. La mayoría de estos ensayos se centran en especies de plagas de cereales que incluyen orugas (herbívoros masticadores), pulgones (herbívoros perforadores-chupadores) y gusanos de las raíces (herbívoros de las raíces) (Wouters et al. 2016; Schulz et al. 2013).

IV.C.1. Orugas (herbívoros masticadores)

Debido a su comportamiento durante su alimentación, los herbívoros masticadores, interrumpen la compartimentación de benzoxazinonas en las células vegetales durante la ingestión y, por lo tanto, están directamente expuestos a altas cantidades de benzoxazolinonas especialmente cuando se alimentan de hojas de plántulas jóvenes donde las concentraciones de estos compuestos son más altas.

Los estudios realizados en lepidópteros y sus respectivas larvas del género *Ostrinia* (*O. nubilalis* y *O. furnacalis*) y del género *Spodoptera* (*S. littoralis* y *S. frugiperda*) han encontrado que las benzoxazinonas como DIMBOA parecen ser más tóxicas para las orugas que las benzoxazolinonas como MBOA. A pesar de ello los autores sugieren que las toxicidades resultantes están relacionadas positivamente con las tasas de degradación de las benzoxazinonas a benzoxazolinonas. De hecho, las lactamas HMBOA y HBOA las cuales no forman benzoxazolinonas tras su degradación, no inhiben el crecimiento larvario. Por tanto, la degradación de las benzoxazinonas a benzoxazolinonas se correlaciona con un aumento de la toxicidad, aunque las propias benzoxazolinonas son menos tóxicas que las benzoxazinonas (Atkinson et al. 1992). Dado que la mayoría de los lepidópteros tienen un pH intestinal alcalino, se favorece la conversión de los ácidos hidroxámicos y los derivados N-O-metilados a benzoxazolinonas, lo que

puede potenciar su actividad contra este tipo de plagas (Berenbaum,1980; Wouters et al. 2016).

Con la toxicidad y los efectos sobre la digestibilidad tanto de las benzoxazinonas como de las benzoxazolinonas en *O. nubilalis*, se logra explicar la tendencia de este insecto al alimentarse principalmente de tallos de maíz viejos, ya que las concentraciones de estos metabolitos de defensa suelen ser más altas en las primeras etapas de crecimiento (Erwin et al. 2001). Estas observaciones son congruentes con la aparente baja capacidad de este herbívoro para desintoxicar estos compuestos. Además, el daño mecánico causado por herbívoros puede inducir la activación de otros metabolismos de defensa (Wu y Baldwin, 2010; Barton & Koricheva, 2010).

En contraste, el cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*) es muy eficiente en desintoxicar DIMBOA por glucosilación. Incluso se ha demostrado que el DIMBOA puede estimular la alimentación en este lepidóptero. Esto no es algo generalizado para este género de lepidópteros ya que en otras especies, *Spodoptera exigua* y *S. littoralis*, estos compuestos provocan una reducción del crecimiento larvario (Glauser et al. 2011).

Los resultados de una serie de ensayos han mostrado que *Spodoptera frugiperda* tiene cierta preferencia por alimentarse de hojas jóvenes, a diferencia con *S. littoralis* la cual opta por hojas maduras. Esto sugiere que los géneros que toleran BXD tiene preferencia por alimentarse de tejido joven de la planta del maíz al ser más nutritiva maximiza su crecimiento (Dimarco et al. 2012). Sin embargo, los géneros como *S. littoralis* que carecen de esta tolerancia optan por tejidos viejos, que aunque tienen un menor valor nutritivo tienen niveles menores de estos metabolitos (Hong et al. 2012).

IV.C.2. Pulgones (herbívoros perforadores-chupadores)

Los áfidos, denominados también pulgones, son insectos del orden *Hemiptera* que se alimentan de las plantas a través de la perforación del tejido con un característico aparato bucal de tipo picador-chupador denominados estiletes. Éste atraviesa la cutícula, la epidermis y las células del mesófilo para extraer su savia (Miñarro, 2011). Debido a que este mecanismo de alimentación provoca daños mínimos al tejido vegetal, no ocurre una exacerbada activación e hidrólisis de las defensas glucosiladas (Pentzold et al.2014).

Sorprendentemente, en comparación con otros insectos, se ha encontrado que los glucósidos de las BXD también tienen un efecto tóxico y antialimentario en algunos pulgones como es el caso de *Schizaphis graminum* y *M. dirhodium* (Corcuera et al. 1985; Cambier et al. 2001), aunque se desconoce si existe alguna modificación por parte del insecto que active a estos glucósidos o la actividad es propia de la molécula.

Además, se ha demostrado que las BXD, específicamente el DIMBOA-glucósido, pueden actuar contra los pulgones al servir como una señal para la deposición de calosa para reforzar el tejido vegetal e inducir otras líneas de defensa de la planta (Maag et al. 2015). Otra acción estudiada de las BXD es la influencia de estos compuestos sobre la susceptibilidad de los pulgones a otras defensas químicas de la planta al disminuir la capacidad de desintoxicación por ejemplo en el pulgón de la avena (*Rhopalosiphum padi*) DIMBOA inhibe la actividad de glutatión-S-transferasas (GST) *in vivo* (Mukanganyama et al. 2003). Las GST son una familia de enzimas que catalizan la conjugación del glutatión endógeno a una variedad de compuestos electrofílicos, protegiendo las macromoléculas biológicas como las proteínas y los ácidos nucleicos de las consecuencias tóxicas de una reacción covalente con algunos insecticidas (Díaz et al. 2004).

IV.C.3. Gusanos de las raíces (herbívoros de las raíces)

Aun no se comprende por completo la liberación de compuestos de defensa por las raíces por la complejidad de realizar estudios en la matriz del suelo. Sin embargo, se tienen resultados de algunos estudios donde se evalúa la acción de las BXD sobre insectos que se alimentan de tejidos vegetales subterráneos.

Tal es el caso del gusano de la raíz del maíz occidental (*Diabrotica virgifera virgifera*), ésta es la plaga de raíces de mayor importancia económica en el cultivo del maíz. La función de estos compuestos se ha demostrado en estudios con *D. v. virgifera*, en los que se observó que éste, creció mejor en la línea con alto contenido de BXD en comparación con una línea mutante con bajo contenido de BXD. Esto podría deberse a que *D. v. virgifera* tiene la capacidad para percibir las BXD y así encontrar los tejidos más nutritivos (Robert et al. 2012), y evadir los efectos dañinos de las BX.

Lo anterior también se ha observado en la mosca del bulbo (*Delia coarctata*) sin embargo, este insecto se encuentra en el trigo, pero contribuye a la hipótesis donde esta clase de insectos utilizan a las BXD como una señal química más para la ubicación del mejor tejido hospedador (Rogers & Evans, 2013).

Para integrar algunos de los datos citados sobre la actividad de las BXD contra insectos es importante definir el término "*Defensa óptima*" (Stamp 2003) el cual explica las variaciones de los metabolitos de defensa dentro de los tejidos, así como a lo largo del desarrollo de la planta (Shroff et al. 2008), pues se habla de gastos metabólicos, donde las concentraciones más altas se presentan en los tejidos con mayor impacto nutricional y en etapas donde se requiere una cantidad sustancial de nutrimentos (Robert et al. 2012).

La *defensa óptima* afecta de manera directa la estrategia de los herbívoros de alimentarse de tejidos vegetales de mayor aporte nutricional, debido a las altas concentraciones de nutrimentos. Es por ello que algunos herbívoros han logrado

desarrollar la capacidad de hacer frente a las defensas de las plantas, como es el caso del efecto semejante que presentan las BXD en el herbívoro masticador *Spodoptera frugiperda* y en el herbívoro de raíz *Diabrotica virgifera virgifera*. Esta capacidad ha contribuido a la coevolución en esta interacción planta-insecto (Robert et al. 2012); y con esto se puede concluir que las defensas de las plantas no solo determinan la abundancia a gran escala de insectos herbívoros (Johnson & Gregory, 2006), sino también su distribución dentro del sistema vegetal.

IV.D. Actividad antifúngica de las benzoxazolinonas

Además de la actividad insecticida, las benzoxazolinonas también tienen propiedades antifúngicas contra una gran variedad de hongos patógenos, e igualmente, el modo de acción a nivel molecular no se conoce. El precursor de las benzoxazolinonas, DIMBOA, inhibe la germinación de esporas y el crecimiento de los tubos germinativos de *Helminthosporium turcicu*, que causa la enfermedad de tizón del maíz. El efecto en germinación del *H. turcicum* se evidenció con un bioensayo usando soluciones de DIMBOA que oscilaban entre 0.001 mg/mL y 0.01 mg/mL para establecer su efecto en la germinación de esporas. A una concentración de 0.005 mg/mL, solamente el 11% de las esporas germinaron y por arriba de esta concentración, se observó una germinación menor al 3%. Asimismo, las esporas que germinaron tenían tubos germinativos mucho más cortos que el control (Couture et al.1971).

Entre los hongos que invaden gramíneas, como trigo o maíz, se encuentran: *Cephalosporium gramineum*, *Gaeumannomyces graminis* y *Fusarium culmorum*. Debido a que estos patógenos están expuestos de forma natural a benzoxazolinonas y sus derivados, se probaron BOA y MBOA en un rango de concentraciones entre 0.125 mM y 4.0 mM (16.89 µg/mL y 0.54 mg/mL) incorporados al Corn Meal Agar (CMA). Los hongos se inocularon en discos de papel estéril de 5 mm, en el centro de la placa y los cultivos se

incubaron durante 10 días en la oscuridad para evaluar el crecimiento radial de la colonia mediante la medición de su diámetro y calcular el % de inhibición y la concentración efectiva al 50% (EC₅₀). Los resultados de este experimento demuestran que hay diferencias en la susceptibilidad a estos compuestos entre estos hongos fitopatógenos (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de EC₅₀ para BOA y MBOA de tres hongos patógenos de cereales. Tomado de Martyniuk et al. (2006).

Hongo patógeno	EC ₅₀	
	BOA	MBOA
<i>Cephalosporium gramineum</i>	189 µg/mL	134 µg/mL
<i>Gaeumannomyces graminis</i>	111 µg/mL	77 µg/mL
<i>Fusarium culmorum</i>	456 µg/mL	271 µg/mL

El compuesto BOA presenta una actividad inhibitoria menor hacia los hongos probados en comparación con el MBOA, por consiguiente, los valores de EC₅₀ de MBOA fueron entre 30% y 40% menores que los de BOA para todos los hongos. De los hongos comparados, *G. graminis* resultó el más sensible a BOA y MBOA, y *F. culmorum* el de mayor tolerancia. El valor de EC₅₀ para MBOA para *F. culmorum* fue casi 2 veces menor al de los valores de BOA EC₅₀. Esta sensibilidad del hongo a MBOA, podría explicarse con resultados previos donde se demostró que *F. culmorum* no es capaz de metabolizar MBOA, en contraste a BOA (Martyniuk et al. 2006).

Con los resultados observados en las distintas concentraciones de BOA y MBOA estudiadas en el ensayo, y con las cantidades detectadas en el tejido de la raíz del trigo que pueden alcanzar hasta 250 µg/g de peso seco, podemos plantear la importancia de estos compuestos para reducir las infecciones en las raíces de trigo contra los patógenos usuales de este cereal.

Para el ensayo de la actividad antifúngica de los productos derivados de la transformación de BOA, se probaron concentraciones considerablemente más bajas, debido a la toxicidad reportada para *C. gramineum* y *G. graminis*. Los resultados se reportan en la tabla 6, donde se observa que APO (2-amino-3H-fenoxazin-3-ona) es el inhibidor más potente del crecimiento micelial de *C. gramineum* y *G. graminis*, por lo que sus valores de EC_{50} , son los más bajos para ambos hongos. Es importante destacar que ninguno de los productos de transformación del BOA utilizados en el ensayo afectó el crecimiento de *F. culmorum* a las concentraciones probadas.

Tabla 6. Valores de EC_{50} para APO, AAPO y o-AP de tres hongos patógenos de cereales. Tomado de Martyniuk et al. (2006).

Hongo patógeno	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		
	APO (2-amino-3H-fenoxazin-3-ona)	AAPO (2-acetilamino-3H-fenoxazin-3-ona)	o-AP (o-aminofenol)
<i>C. gramineum</i>	0.58	4.57	1.40
<i>G. graminis</i>	0.78	2.18	0.80
<i>F. culmorum</i>	-	-	-

En el ensayo también se probaron derivados como: AAMPO (2-acetilamino-7-metoxi-3H-fenoxazin-3-ona), HPMA (ácido N-(2-hidroxifenil)malonámico) y HMPMA (N-Ácido(2-hidroxi-4-metoxifenil) malonámico) en concentraciones de hasta 0.1 mM, sin embargo, no se observó un efecto crítico en el crecimiento micelial de ninguno de los hongos probado.

Los resultados del ensayo de inhibición del crecimiento sugieren que APO es un fuerte inhibidor del crecimiento *in vitro* de *C. gramineum* (Tabla 6), además, de que es el principal producto de transformación de BOA por microorganismos del

suelo, por lo que se realizó un ensayo en macetas de invernadero, con un inóculo de *C. gramineum* tratado con una solución BOA y ver si este tratamiento reduce la infección del trigo por el patógeno. Asimismo, se comparó la actividad del BOA con dos fungicidas (tiuram y carbendazim) por su capacidad de proteger plantas de trigo en contra *C. gramineum* en un ensayo de invernadero. Se observó que la aplicación de una solución de BOA (1%) redujo la incidencia de la enfermedad un 50% con respecto a las plantas no tratadas y previno una mayor pérdida de rendimiento en plantas maduras. Sin embargo, no se lograron los niveles de protección alcanzados por los fungicidas comerciales (Martyniuk et al. 2006).

IV.E. Actividad antibacteriana de las benzoxazolinonas

También se ha documentado la actividad de las benzoxazolinonas contra bacterias fitopatógenas. *Erwinia spp.* es un género de bacterias que causan pudrición y otras enfermedades en una gran variedad de cultivos, incluyendo maíz. Aunque las cepas del género de *Erwinia spp.* comparten muchas características, solamente especies, como *Erwinia chrysanthemi*, pueden provocar la pudrición del tallo del maíz. Para probar si el compuesto responsable de esta resistencia era alguna benzoxazolinona, específicamente, DIMBOA, se probó el efecto antimicrobiano de este compuesto contra una cepa de *Erwinia chrysanthemi* (causante de la pudrición bacteriana del tallo en *Zea mays*: ECZ) y una cepa de *Erwinia carotovora* (aislada de raíces de zanahoria: SR-53, sin actividad negativa en *Zea mays*).

Se compararon las curvas de crecimiento de células viables para ambas cepas en medio suplementado con DIMBOA (0.3 mM), y se observó que la fase de latencia (fase de retraso) tanto de *E. carotovora* como de ECZ se prolongó en medio que contenía el compuesto. Sin embargo, la duración de esta inhibición fue mucho mayor para *E. carotovora* que para ECZ. Las tasas de crecimiento logarítmico no se vieron sustancialmente afectadas (Fig. 13) Corcuera et al. (1978).

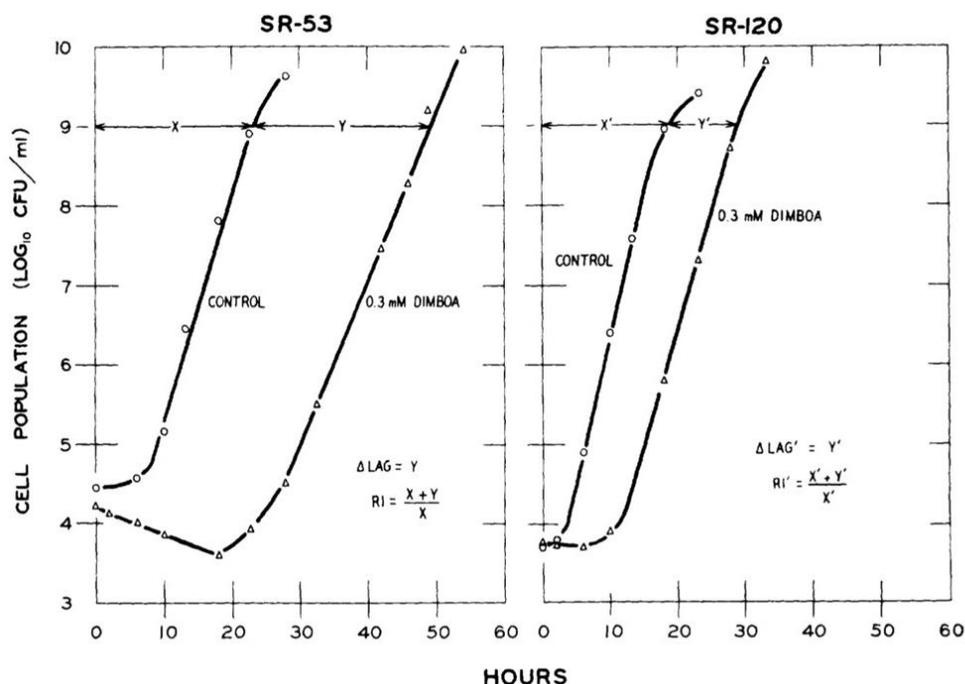


Figura 13. Efecto de DIMBOA (0.3 mM) sobre el crecimiento de dos cepas pertenecientes a *Erwinia* spp. *Erwinia carotovora* (SR-53) y ECZ, *Erwinia chrysanthemi* (SR-120). Las poblaciones se determinaron mediante recuentos de células viables. Tomado de: Corcuera et al. (1978). Se determinaron las población de células (eje X). En ambas gráficas, se presenta a la izquierda la curva control y a su derecha la curva en presencia de DIMBOA. Se puede observar una diferencia en el eje de las Y's (tiempo) entre la curva control y la curva de DIMBOA, esta diferencia entre ambas curvas representa un aumento del tiempo de latencia para ambas bacterias en presencia del DIMBOA.

A partir de hojas de plantas de maíz, se extrajeron benzoxazolinonas, que presentaron el mismo efecto de retrasar el crecimiento de varias especies de *Erwinia* spp. de forma comparable al DIMBOA puro. Basado en la evidencia presentada, se puede concluir que el DIMBOA es probablemente el principal componente inhibitorio observado en los extractos de maíz, presentando así un efecto antimicrobiano. Las cantidades de DIMBOA libre en las plantas según lo reportado en la literatura es baja, pero las cantidades de DIMBOA-glucósido son de al menos 1 $\mu\text{mol/g}$ de peso fresco de tejido en el maíz, y este glucósido puede

hidrolizarse a DIMBOA en presencia de algún patógeno y así, DIMBOA podría actuar como factor de resistencia contra bacterias patógenas (Corcuera et al. 1978).

2. Justificación

Dado que la producción de fumonisinas es una propiedad asociada con mayor agresividad y virulencia en cepas de *F. verticillioides*, y la capacidad de metabolizar benzoxazolinonas le facilita la asociación con el maíz, el objetivo de este proyecto es determinar si existe una relación entre ambos metabolismos. El enfoque fue a través de analizar estas competencias en una colección de cepas de *F. verticillioides* aisladas de maíz. Debido a las restricciones que impuso la pandemia COVID-19 en la realización del trabajo experimental, solamente se completó una parte de éste, por lo que de manera alternativa se realizó el presente Trabajo Monográfico de Actualización con los objetivos que se indican a continuación.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general:

Realizar una revisión crítica de la literatura científica que explore la posible relación entre la producción de fumonisinas en *F. verticillioides* y la tolerancia a benzoxazolinonas en maíz.

3.2. Objetivos particulares:

- Revisar la literatura científica sobre la diversidad de producción de fumonisinas en cepas de *Fusarium verticillioides*.
- Revisar la literatura sobre la diversidad de tolerancia a benzoxazolinonas en cepas de *Fusarium verticillioides*.

3. Metodología:

Se realizó una investigación bibliográfica planteando una estrategia de búsqueda donde se estableció un algoritmo para recopilar datos sobre estudios realizados a lo largo del mundo donde se mostrará tanto la variabilidad en la producción de fumonisinas y diversidad en la tolerancia de las benzoxazolinonas entre distintas cepas de *F. verticillioides*, usando las bases de datos: Scopus, SciELO, ScienceDirect y SpringerLink.

Para la variabilidad de producción de fumonisinas entre distintas cepas de *F. verticillioides*, se siguieron los siguientes criterios de búsqueda a partir del año 2010 hasta el año 2022, usando las siguientes oraciones:

- Variation in fumonisin production / synthesis
- Variability in fumonisin production / synthesis
- *Fusarium verticillioides* fumonisin variability / variation
- *Fusarium verticillioides* fumonisin diversity
- Biosynthesis of fumonisin by *Fusarium verticillioides*
- Variability / Variation of fumonisin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*

En la diversidad en la capacidad de tolerancia a benzoxazolinonas entre distintas cepas de *F. verticillioides*, no se acortaron los años de búsqueda, debido a que la información es muy limitada y en su mayoría del mismo autor. Se usaron las siguientes oraciones de búsqueda:

- Variation / Variability of tolerance to benzoxazolinones
- Variation / Variability of metabolization of benzoxazolinones
- Variation / Variability of tolerance to benzoxazinoids
- Variation / Variability of metabolization of benzoxazinoids
- Variation / Variability of tolerance to benzoxazinones
- Variation / Variability of metabolization of benzoxazinones
- Detoxification of Benzoxazolinones in *Fusarium verticillioides*
- Biotransformation of benzoxazolinones in *Fusarium verticillioides*

Los criterios de inclusión usados para la selección de datos convenientes en la investigación de ambos metabolismos fueron los siguientes:

- Contar con el origen de la cepa
- Solo tratarse de cepas *F. verticillioides*
- Cepas aisladas (Si se trataran de varias cepas saber el número de cepas estudiado)
- Resultados cuantitativos
- Descripción de la técnica utilizada (análisis)

Los criterios de exclusión fueron:

- Cepas de *F. verticillioides* solo fueron identificadas por las características de la colonia
- Cepas que solo fueron probadas por métodos cualitativos
- Cepas de las que se desconozca origen y forma de análisis
- Artículos posteriores al año 2010 (producción de fumonisinas)

Se logró acceder a la mayoría de las publicaciones a través de la cuenta BIDI-UNAM (bidi.unam.mx). Una vez revisada la bibliografía, se recopilaron valores de concentración de producción de fumonisinas y la tolerancia a benzoxalinonas, que evidenciaran la diversidad entre cepas de *F. verticillioides*, los cuales se integraron en tablas.

4. Resultados

4.A. Diversidad de producción de fumonisinas entre las cepas de *Fusarium verticillioides*

Alrededor del mundo se han aislado y caracterizado una gran variedad de cepas de *F. verticillioides* a partir de sustratos que incluyen fuentes agrícolas primarias y alimentos procesados. Las cepas, identificadas como *F. verticillioides*, muestran una gran diversidad en propiedades morfológicas, fisiológicas y genéticas, incluyendo la producción de fumonisinas (Deepa et al. 2018). La tabla 7 resume 22 estudios sobre la capacidad de producción de fumonisinas de 542 cepas, identificadas por distintos criterios como *F. verticillioides*. En los estudios citados se emplearon distintos sustratos y condiciones de producción de fumonisinas, y para poder comparar y analizar, se hicieron conversiones de tal forma que los datos quedaron expresados como (μg fumonisinas/g de sustrato). Aun así, se encontró un amplio rango de producción que va de $0.05 \mu\text{g}$ de FB1/g de sustrato (Palacios et al. 2015) a $120 \times 10^3 \mu\text{g}$ de FB1/g de sustrato (Deepa et al. 2018). En los estudios de producción de fumonisinas se emplean sustratos tan diversos como: granos/harina de maíz, granos de sorgo, granos de arroz e incluso trigo duro, y condiciones de incubación de producción que van desde 10 días hasta 30 días.

Tabla 7. Producción de fumonisinas en distintas cepas de *F. verticillioides* aisladas de diversas fuentes en varias regiones geográficas.

No. de cepas	Origen de las cepas; sustrato de aislamiento y región.	Medio de producción de fumonisinas	Rango de producción de fumonisinas (μg de FB1/g de sustrato)	Referencia
90	Granos de maíz (<i>Z. mays</i>) de Italia, España, Túnez, Egipto e Irán	Granos de maíz molidos	3.98 - 14.01	(Beccari et al. 2020)
3	Arroz (<i>Oryza sativa</i>), maíz y sorgo de Karnataka, India	Granos de maíz, sorgo y arroz	25×10^3 - 120×10^3	(Deepa et al. 2018)
10	Granos de maíz, Texas, E.E.U.U..	Granos de maíz molidos esterilizadas	$62.313 - 50 \times 10^3$	(Ortiz et al. 2015)
26	Embriones de maíz , Italia	Harina de maíz	0.11 - 82	(Covarelli et al. 2012)
25	Mazorcas de maíz , Uganda	Semillas de maíz esterilizadas	19 - 100	(Atukwase et al. 2012)
100	Mazorcas de maíz, Brasil	Arroz estéril	200 -762	(de Oliveira et al. 2011)
16	Espárragos (<i>Asparagus officinalis</i>), China	Maíz quebrado	Hasta 2525.8	(Wang et al. 2008)
84	Mazorcas de maíz; Alemania	Maíz quebrado	Hasta 21×10^3	(Goertz et al. 2010)
43	Mazorcas de maíz, India	Embriones de maíz estériles	200-1300	(Nayaka et al. 2010)
16	Mazorcas y rastrojo de maíz, Brasil	Maíz quebrado	2.41 - 3996.36	(Ono et al.2010)

35	Mazorcas de maíz, España	Medio líquido	0.8 - 199.0	(Jurado et al. 2010)
2 ***	Granos de maíz, Italia	Granos de maíz	0.56 - 240.83	(Balconi et al. 2014)
29	Trigo (Triticum), Argentina	Trigo duro esterilizados	0.05 - 175.00	(Palacios et al. 2015)
22***	Guisante (<i>Pisum sativum L.</i>), Polonia	Semillas de guisantes	0.45 - 1.48	(Waskiewicz et al. 2013)
9	Guisante (<i>Pisum sativum L.</i>), Polonia	Grano de arroz estéril	80.39 - 1,861.52	(Waskiewicz et al. 2013)
1	Piña (<i>A. comosus</i>), Costa Rica	Grano de arroz estéril	59.65 ± 6.06	(Waskiewicz et al. 2013)
4	Maíz,, Polonia	Grano de arroz estéril	6.12 - 273.38	(Waskiewicz et al. 2013)
2	Semillas de trigo (<i>T. aestivum</i>), E.E.U.U.	Medio de maíz	2,050 - 14,400	(Busman et al. 2012)
16	Maíz, Serbia	Granos de maíz	88.6 - 1,300.6	(Tančić et al. 2012)
6	Trigo (<i>T. aestivum</i>),Serbia	Granos de maíz	456.7 - 882	(Tančić et al. 2012)
1	Maíz , E.E.U.U.	Arroz blanco de grano largo	4450	(Steogonpień et al. 2011)
2	Maíz, Polonia	Arroz blanco de grano largo	187 - 2,925	(Steogonpień et al.2011)

4.B. Función de las benzoxazolinonas en la interacción *F. verticillioides* – maíz.

A las benzoxazolinonas se les considera metabolitos de defensa constitutivos o preformados en plantas, y se asocian con un amplio espectro de actividades directas antialimentarias, insecticidas, antimicrobianas y alelopáticas (Niemeyer et al.2009), además de servir para regular otros mecanismos de defensa (Maag et al. 2015). Algunos hongos, como *F. verticillioides*, han evolucionado al metabolizar eficientemente estos compuestos y ser tolerantes a concentraciones que resultan inhibitorias para otros hongos. La coevolución entre *F. verticillioides* y maíz aporta evidencias de que este patógeno posee una ventaja ecológica con respecto a otros hongos, lo que contribuye a su éxito de la colonización del maíz. Los datos en la literatura sugieren que la presencia de benzoxazolinonas puede mejorar significativamente la capacidad competitiva de *F. verticillioides* debido a que la presencia de benzoxazolinonas disminuye significativamente el desarrollo de las comunidades endofíticas presentes en el maíz las cuales no cuentan con esta capacidad de tolerancia, facilitando la colonización por *F. verticillioides* (Saunders et al. 2009; Voloshchuk et al.2020).

En un ensayo de campo para estudiar el papel de las benzoxazolinonas en las comunidades de endofíticas, se sembraron dos genotipos de maíz que producen BX (*BX+*) y un genotipo mutante natural que no lo hace (*bx-*). El maíz se sembró en dos regiones de la provincia de Ontario, Canadá: Ridgetown y Harrow, y se tomaron muestras de dos tejidos (hojas y raíces) a las dos y nueve semanas después de la siembra. Estas muestras se sembraron en medio PDA con el fin de reflejar la amplia comunidad fúngica, y también se usó un medio selectivo de PDA suplementado con BOA (1 mg/mL) para el aislamiento de *Fusarium* spp. Se compararon los aislamientos por su tolerancia a BOA y se observó que *Fusarium* se aisló de 14 a 35 veces más frecuentemente de hojas en las variedades *BX+* que de hojas *bx-* en plantas de 9 semanas de edad.

Estos resultados sugieren que las especies de *Fusarium* tienen una ventaja competitiva en presencia de BXs (Fig. 14a; Saunders et al. 2009). Sin embargo, este patrón no se observó para las cepas aisladas de las raíces de las plantas (Fig. 14b).

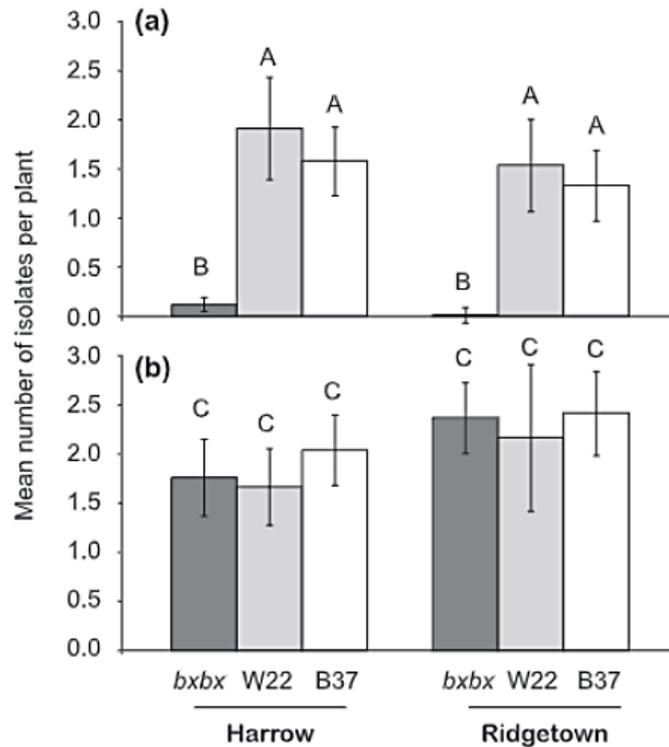


Figura 14. Promedio de aislamientos por planta obtenidos en medio de cultivo suplementado con 2-BOA. Aislamientos a partir de hojas (a) y a partir de raíces (b) de plantas de maíz (*Zea mays*) de 9 semanas de edad en Harrow y Ridgetown, Ontario, Canadá. Genotipos: *bxbx* (BX-), W22 (BX +) y B37 (BX +), la misma letra sobre dos columnas indica que no hay diferencias significativas entre las medias. Tomada de: Saunders et al. (2009).

Estos resultados se reprodujeron en las dos regiones geográficas de estudio y sugieren que, en etapas avanzadas del desarrollo de las plantas, la acumulación de BX en el maíz contribuye a la selección de hongos capaces de tolerar estos compuestos, lo que resulta en un incremento de la incidencia de *F. verticillioides* en el maíz.

La interacción entre la planta con la comunidad de microorganismos endofíticos puede resultar en mayor protección de la planta contra la infección de fitopatógenos. Esto se observa con el género *Trichoderma spp* que tiene una influencia positiva en el crecimiento y se usa como agente de control biológico contra algunas especies de *Fusarium* (Popiel et al. 2013). Además, algunas de estas especies tienen la capacidad de metabolizar micotoxinas producidas por el género *Fusarium* (Tian et al. 2018).

En particular, *T. atroviride* muestra una fuerte inhibición del crecimiento de tres especies de *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum* y *F. graminearum* en cultivos duales. Las cepas de *Trichoderma* pueden producir metabolitos, como el 6-PAP (6-pentil- α -pirona) que inhibe la producción de deoxinivalenol (DON) en *F. graminearum* (Popiel et al. 2013).

La presencia de *Trichoderma spp.* aporta protección al cultivo contra hongos patógenos. Sin embargo, este agente de biocontrol también estará expuesto a benzoxazolinonas o sus derivados, lo que puede afectar su eficacia.

Entonces la dinámica en la rizosfera de plantas de maíz implica la exudación de benzoxazolinonas por las raíces, que pueden ser metabolizadas por *F. verticillioides*, y si esta biotransformación no es total, se acumula 2-aminofenol (2-AP) el cual puede ser sustrato para peroxidasas vegetales, que catalizan su dimerización oxidativa generando APO en la superficie de la raíz. Por lo tanto, esta serie de compuestos afectan la microbiota asociada a la raíz, incluyendo *Trichoderma spp.* Para estudiar estos efectos, se evaluó el crecimiento de *Trichoderma viride* en presencia de APO y otros compuestos intermediarios del metabolismo de BXs [BOA (0.5 mM / 67.56 μ g/mg), 2-aminofenol (AP; 0.5 mM; 0.5 mM MBOA; 0.5 mM BOA-6-OH; 0,5 mM, ácido picolínico (PIC-AC); 0,5 mM APO 100 μ M; NMBOA 50 μ M (6-metoxi-4-nitro-benzoxazolin-2(3H)-ona)].

T. viride mostró tolerancia a todos los compuestos, pero en presencia de APO las hifas del hongo formaron agregados que resulta en un crecimiento deficiente. Además estos grumos impidieron concluir la medición, por lo que se detuvo la medición poco antes de las 50 hrs de incubación como se puede observar en la figura 15.

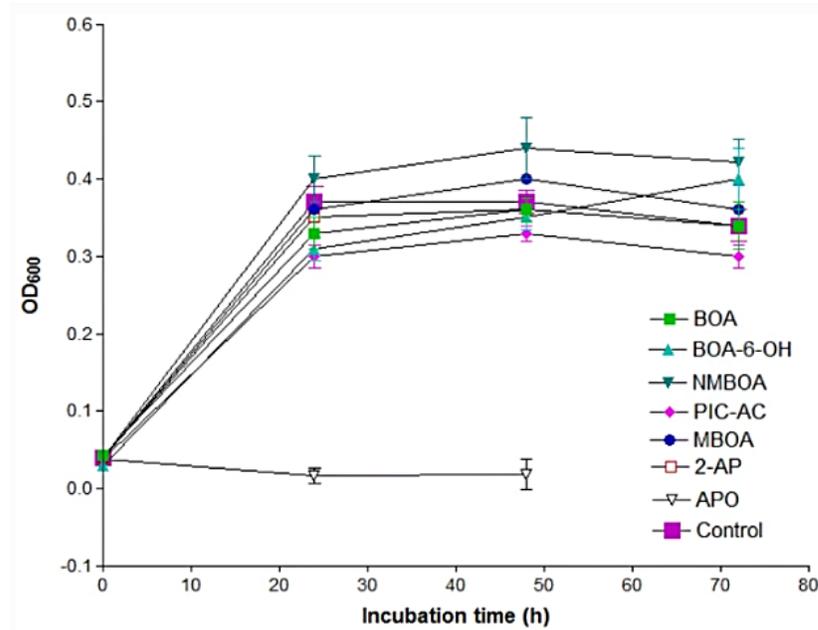


Figura 15. Crecimiento de *Trichoderma viride* en presencia de BOA, BOA-6-OH, 6-metoxi-4-nitro-benzoxazolin-2(3 H)-ona (NMBOA), PIC-AC (ácido picolínico), MBOA (6-metoxibenzoxazolinona), 2-AP (2-aminofenol) y APO. Tomada de: Voloshchuk et al. (2020).

Se encontró que, en la rizosfera, *T. viride* se asocia con varias bacterias Gram negativas como *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter cloacae* y *Acinetobacter calcoaceticus*, posiblemente para facilitar el metabolismo de las benzoxazolinonas y los subproductos y aumentando así su probabilidad de supervivencia (Voloshchuk et al.2020).

La función de las benzoxazolinonas en la interacción *F. verticillioides* – maíz, es bastante compleja ya que es influenciada por diversos factores que participan en dicha interacción. La capacidad de metabolizar benzoxazolinonas que tienen la mayoría de las cepas de *F. verticillioides* les confiere una ventaja ecológica y probablemente también como patógeno.

4.C. Metabolismo de benzoxazolinonas en *F. verticillioides*

La tolerancia a benzoxazolinonas desarrollada por algunos hongos, por lo general, resulta de la biotransformación de MBOA y BOA en metabolitos no tóxicos. Un ejemplo de los hongos de los que se tiene evidencia de su capacidad para tolerar compuestos como el BOA y MBOA son varias especies de *Fusarium sp* (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium incarnatum-equiseti*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium verticillioides* y *Fusarium solani*) además de especies como *Nigrospora oryzae* y *Trichocladium sp* (Saunders et al. 2009).

F. verticillioides destaca dentro de estas especies al tolerar altas concentraciones que pueden ir de 0.25 mg/mL hasta 1.1 mg/mL de BOA, las cuales resultan tóxicas para otros hongos. La tolerancia está asociada con la conversión metabólica de MBOA y BOA en *N*- Ácido (2-hidroxi-4-metoxifenil) malonámico (HMPMA) y ácido *N*- (2-hidroxifenil) malonámico (HPMA) respectivamente los cuales resultan no tóxicos para el hongo.

En los inicios de los estudios de la desintoxicación del BOA efectuada por *F. verticillioides*, se conocían los dos loci genéticos involucrados (*FDB1* y *FDB2*). Sin embargo, aún no se identificaban los genes dentro de esos loci responsables de conferir dicha tolerancia; Por lo que el autor Glenn et al., (2003), realizó un estudio para identificar estos componentes faltantes de la ruta de biotransformación del BOA. Emplearon cepas de *F. verticillioides* silvestre,

MRC826 (genotipo *FDB1 / FDB2*), y dos mutantes en alguno de los dos loci: cepa AEG3-A3-5 (*fdb1 / FDB2*) y la cepa AEG3-A3-7 (*FDB1 / fdb2*). Estas cepas se incubaron en presencia de BOA o de 2-AP y se analizaron los metabolitos producidos por cromatografía de capa fina en placas de sílica gel de sílice, usando tolueno- acetato de etilo-ácido fórmico (50:40:10) como fase móvil.

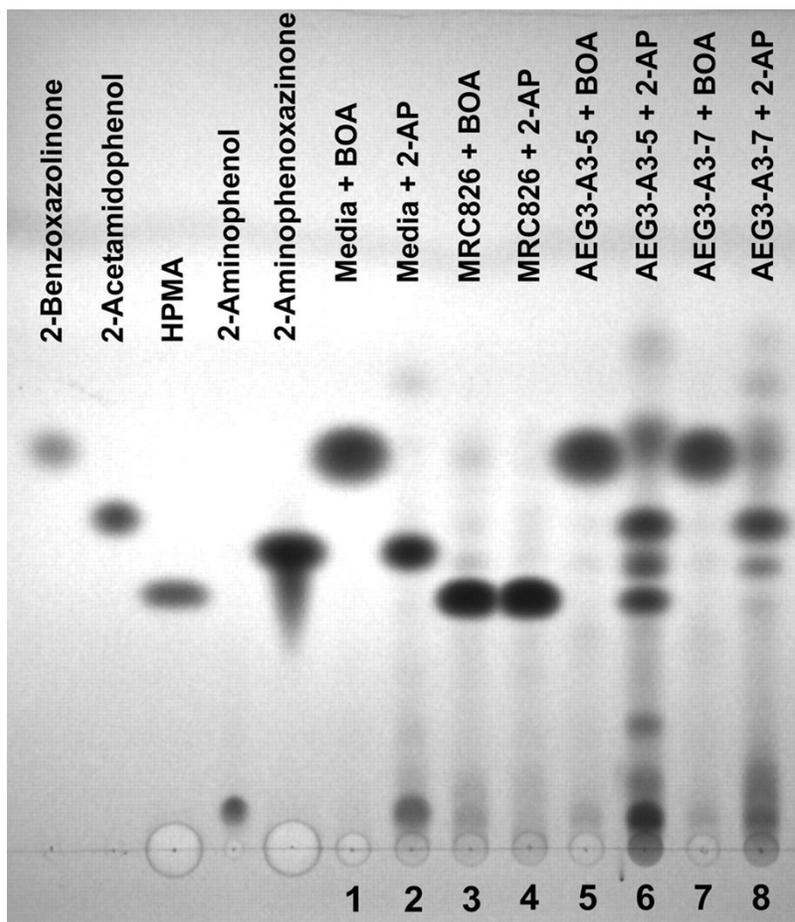


Figura 16. Metabolismo de BOA y 2-AP por cepas silvestres y mutantes en locus *FDB1* y *FDB2*. Se indican los estándares de cada compuesto (10 µg). Las muestras 1 a 8 son los extractos de cultivo (3 µl). Las muestras 1 y 2 representan caldo de dextrosa de patata sin inocular suplementado con BOA y 2-aminofenol, respectivamente. Cepa MRC826 (*FDB1/FDB2*), cepa AEG3-A3-5 (*fdb1/FDB2*) y la cepa AEG3-A3-7 (*FDB1/fdb2*). Tomada de Glenn et al. (2003).

La figura 16 muestra los resultados de este experimento: la cepa MRC826 (*FDB1/FDB2*) transformó BOA en HPMA (carril 3), mientras que las cepas AEG3-A3-5 (*fdb1/FDB2*) y AEG3-A3-7 (*FDB1/ fdb2*) no pudieron metabolizar BOA (carriles 5 y7). Asimismo, cuando las cepas MRC826 y AEG3-A3-5 se incubaron con 2-aminofenol (carriles 4 y 6) produjeron HPMA, mientras que AEG3-A3-7 no lo hizo (carril 8). La conclusión de este estudio resuelve la química general de la ruta de desintoxicación del BOA, el cual implica la hidrólisis (acción del producto del gen *FDB1*) para producir 2-aminofenol ,que luego se modifica (acción del producto del gen *FDB2*) mediante la adición de un grupo malonilo para producir ácido N- (2-hidroxifenil) malonámico (HPMA), si no existe la modificación debido a una mutación en el genética (*fdb2*) el 2-acetadofenol puede acumularse como resultado de la adición de un grupo acetilo al 2-aminofenol.

La transformación de BOA en 2-acetamidofenol por AEG3-A3-7 (*FDB1/fdb2*) no se detectó durante el período de incubación del cultivo líquido de 18 h, pero se detectó mediante TLC cuando la incubación se prolongó durante varios días.

La oxidación espontánea de 2-aminofenol produjo el compuesto de pigmento rojo 2-amino- 3H -fenoxazin-3-ona. Esta oxidación fue evidente, ya que incluso el medio de cultivo no inoculado modificado con 2-aminofenol, presentó este compuesto oxidado, pero también se detectó en cultivos modificados de AEG3-A3-5 y AEG3-A3-7. No se detectó producción de 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona en cultivos de MRC826, aparentemente debido a la transformación eficiente de 2-aminofenol en HPMA (Fig. 17).

Las cepas *FDB1/fdb2* y *fdb1/FDB2* son sensibles a BOA, ya que ninguna puede metabolizar completamente BOA a HPMA cuando se cultiva sola. Sin embargo, cuando se cultivan juntas, las dos cepas pueden complementarse fisiológicamente y metabolizar BOA a HPMA, lo que sugiere que la cepa *FDB1/fdb2* produce un metabolito intermedio excretado y la cepa *fdb1/FDB2* lo

utiliza como sustrato, apoyando la hipótesis planteada. El 2-aminofenol es el metabolito intermedio entre BOA y HPMA.

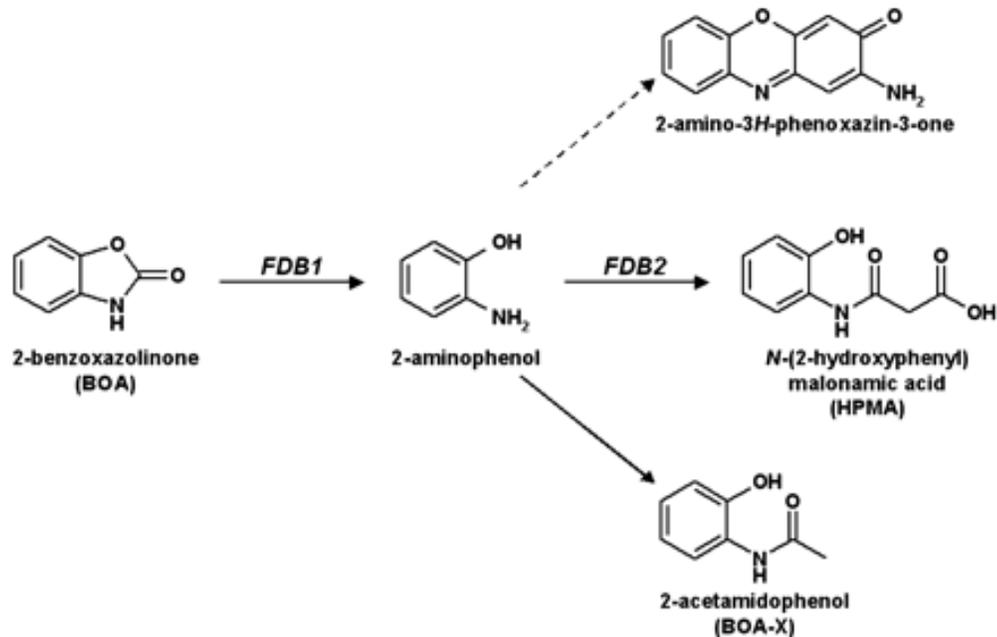


Figura 17. Desintoxicación del BOA mediado por *F. verticillioides*. Tomado de: Glenn et al. (2003) BOA-2-benzoxazolinona, 2-aminofenol, HPMA-ácido N -(2-hidroxifenil) malonámico, 2-amino-3H -fenoxazin-3-ona, BOA-X o APP - 2-acetamidofenol. Con este ensayo se explica el metabolismo de la 2-benzoxazolinona (BOA), lo cual implica la hidrólisis de BOA (*FDB1*) para producir 2-aminofenol, que luego se modifica (*FDB2*) mediante la adición de un grupo malonilo para producir ácido malonámico. Si se evita la modificación debido a una mutación genética (*fdb2*), el 2-acetamidofenol (APP) puede acumularse como resultado de la adición de un grupo acetilo al 2-aminofenol, o la oxidación espontánea del 2-aminofenol produciendo 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona. Esto permite explicar la presencia del 2-acetamidofenol y 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona como metabolitos tras la metabolización incompleta del BOA (Fig. 17) (Glenn et al. 2003).

Los genes responsables de este metabolismo se encuentran en los loci *FDB1* y *FDB2*: el locus *FDB1* está conformado por 9 genes y se ubica en el cromosoma 10, y ensayos con mutantes de cada uno de estos genes mostraron que el único gen que se requiere para metabolizar al BOA es *MBL1* (FVEG_08291).

Éste codifica una metalo- β -lactamasa que rompe el anillo de BOA oxazol, lo que da como resultado la formación del compuesto intermedio 2-aminofenol (AP) (Glenn et al.2016). Por su parte, el locus *FDB2* consta de al menos 13 genes ubicados en el cromosoma 3 (Glenn et al.2016), dentro de los genes codificados en este locus, el gen *NAT1* (FVEG_12636) es esencial para para la desintoxicación de BOA (Glenn et al. 2009). La proteína NAT1 modifica el intermediario 2-aminofenol después de la hidrólisis del BOA por Mbl1. NAT es una *N*-maloniltransferasa única con especificidad para emplear malonil-CoA como sustrato donante para la malonilación de 2-aminofenol (AP) produciendo HPMa.

4.D. Rutas metabólicas alternas tras la formación 2-aminofenol (AP)

Una vez formado el AP, éste puede ser convertido de manera espontánea a APO (2-amino-3H-fenoxazin-3-ona) (Schulz et al. 2013). Además, por la presencia de algunos microorganismos metabolizadores y de condiciones ambientales, también se puede generar 2-acetamidofenol (AAP) por medio de la ruta biosintética que se presenta en la figura 18 (Voloshchuk et al.2020).

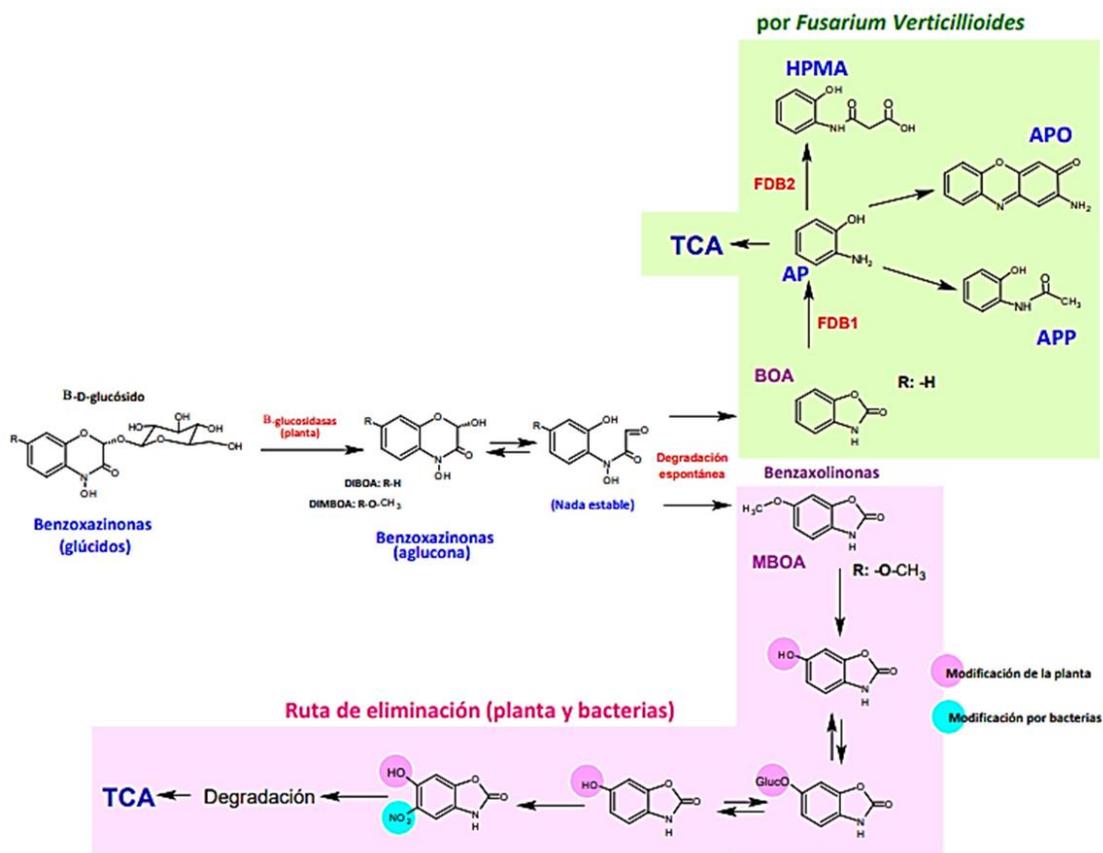


Figura 18. Generación de BOA a partir de benzoxazinonas y metabolismo por hongos, bacterias y la planta.

Estos intermediarios del metabolismo de las benzoxazolinonas que se acumulan en la rizosfera afectan el microbiota y las interacciones entre las propias plantas. Así como no se conoce el blanco molecular de las benzoxazolinonas, se ha descrito la actividad biológica de estos intermediarios; tanto APO (2-amino-3 H-fenoxazin-3-ona) como AMPO (2-amino-7-metoxi-3H-fenoxazin-3-ona), tienen el potencial de unirse a las desacetilasas de histonas (HDAC) de plantas.

El tratamiento de plántulas de *Arabidopsis thaliana* con APO y AMPO a una concentración de 50 μ M provoca hiperacetilación de histonas dando como resultado la inhibición de la condensación de la cromatina, desregulación transcripcional e inhibición del crecimiento, sin embargo, este efecto fue superior con el uso de APO (Venturelli et al. 2015).

El tratamiento de las plantas con APO (50 μ M) durante 24 h provoca hiperacetilación de la histona H3, que se asoció con frecuencia con una regulación positiva de la transcripción. Se observó sobreexpresión de genes implicados en la desintoxicación y en respuesta a distintos tipos de estrés abiótico y biótico, y por otro lado regulación negativa de genes involucrados en el crecimiento y el desarrollo de raíces laterales (Venturelli et al. 2015, 2016) por lo que la presencia de patógenos como *F. verticillioides*, que metabolizan eficazmente las benzoxazolinonas, podría aumentar las concentraciones de APO en la rizosfera, afectando así a la propia planta emisora de los exudados.

Estos resultados permiten el planteamiento de un modelo (Fig. 19) de interacciones químicas y biológicas en el que una planta exuda DIBOA y/o DIMBOA en la rizosfera como consecuencia de daño mecánico, edad de la planta o la interacción de la planta objetivo. Estos dos ácidos hidroxámicos cíclicos se difunden y son convertidos en BOA y MBOA, que son metabolizados para generar 2-aminofenol (2-AP). Entonces, este intermediario es convertido a 2-amino-3H-fenoxazin-3-ona (APO) y 2-acetilamino-7-metoxi-3H-fenoxazin-3-ona (AMPO), que afectan la expresión génica y desarrollo de las plantas blanco.

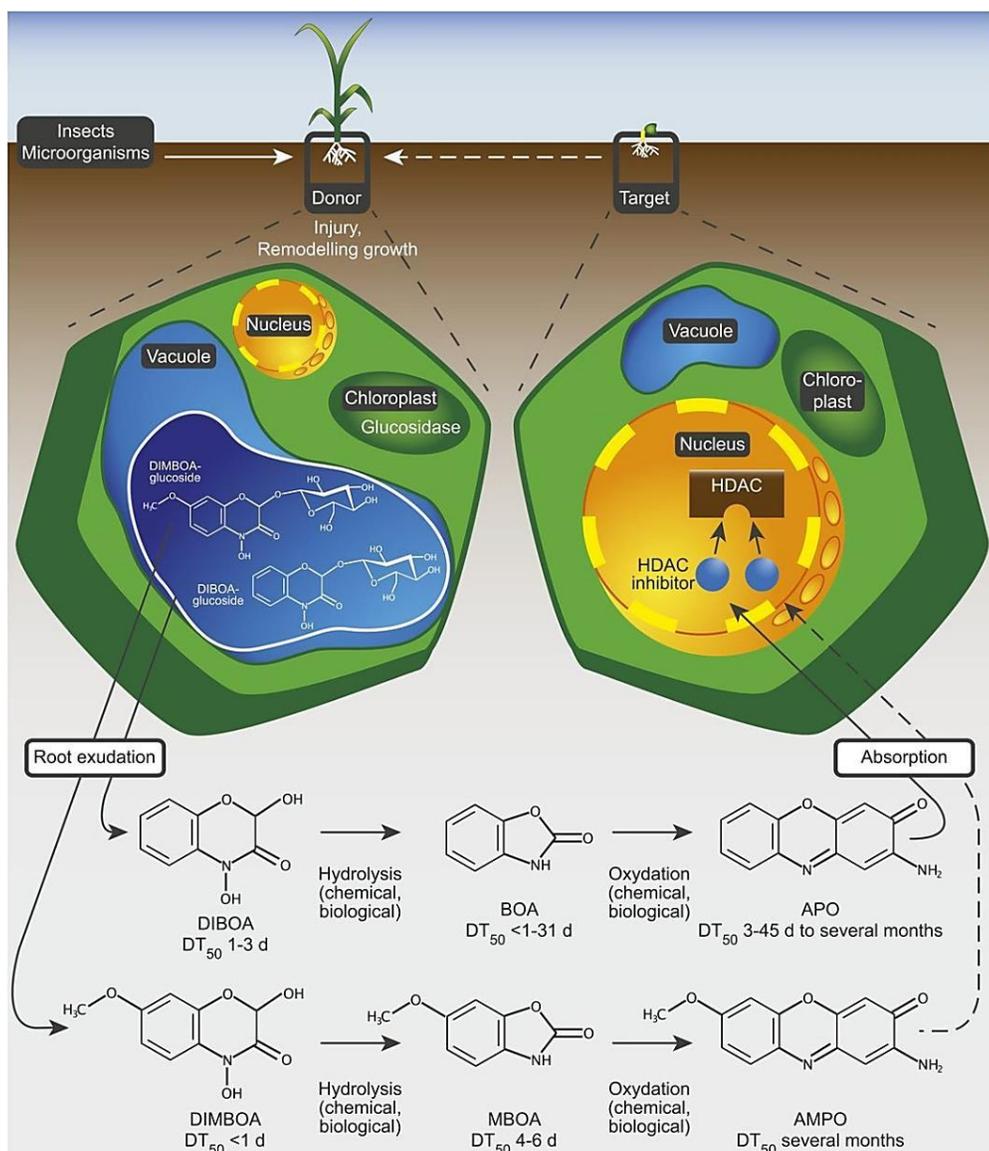


Figura 19. Modelo del posible mecanismo de acción basado en la inhibición de desacetilasas de histonas (HDAC) mediado por los aleloquímicos APO y AMPO.

Una planta donante cuenta con DIBOA-glu y/o DIMBOA-glu almacenadas en su vacuola, como consecuencia de un daño mecánico o tras la detección de algún patógeno o planta objetivo, se exuda DIBOA y/o DIMBOA en la rizosfera. Estos dos compuestos inestables se difunden desde las raíces de la planta donante hacia la rizosfera y se convierten rápidamente en los intermediarios BOA y MBOA. Ambos intermedios se convierten además en los compuestos más estables APO y AMPO, que son absorbidos por la planta objetivo. APO y AMPO inhiben ampliamente HDAC enzimas Tomado de: Venturelli et al. (2015).

Otra modificación que sufre el BOA excretado en la rizosfera es la nitración para producir 6-hidroxi-5-nitrobenzo [d] oxazol-2 (3H)-ona (NBOA-6-OH), la nitración puede ser efectuada por la bacteria *Pantoea ananatis* (Schütz et al. 2019; Voloshchuk et al.2020), la cual puede ser degradada por un consorcio de bacterias y hongos del suelo, como *Sepedonioides*, *Papulaspora*, *Trichoderma viride* y *Actinomucor elegans*. Los productos de degradación de la NBOA-6-OH (Figura 20), podrían ingresar al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA o ciclo de Krebs) siendo esta una de las principales vías de eliminación tanto del BOA como el MBOA, desintoxicando así la rizosfera (Fig.18) (Schütz et al. 2019; Voloshchuk et al.2020). Sin embargo, la pérdida de bacterias degradadoras de NBOA-6-OH asociadas al maíz, por la presencia de BX y sus derivados, debido a su nula tolerancia, nos da como consecuencia la disminución de la degradación de los compuestos nitrados, provocando así su acumulación (Voloshchuk et al.2020). La gran cantidad de compuestos nitrados tiene un efecto negativo para las plantas. La acumulación de NBOA-6-OH puede afectar el crecimiento de las plantas, (Schulz et al.2017) lo que se puede explicar por la influencia de los compuestos aromáticos nitrados sobre la fotosíntesis, ya que estos compuestos pueden inhibir la cadena de transporte de electrones o provocar el desacoplamiento del flujo de electrones de la fotofosforilación (Brack & Frank,1998).

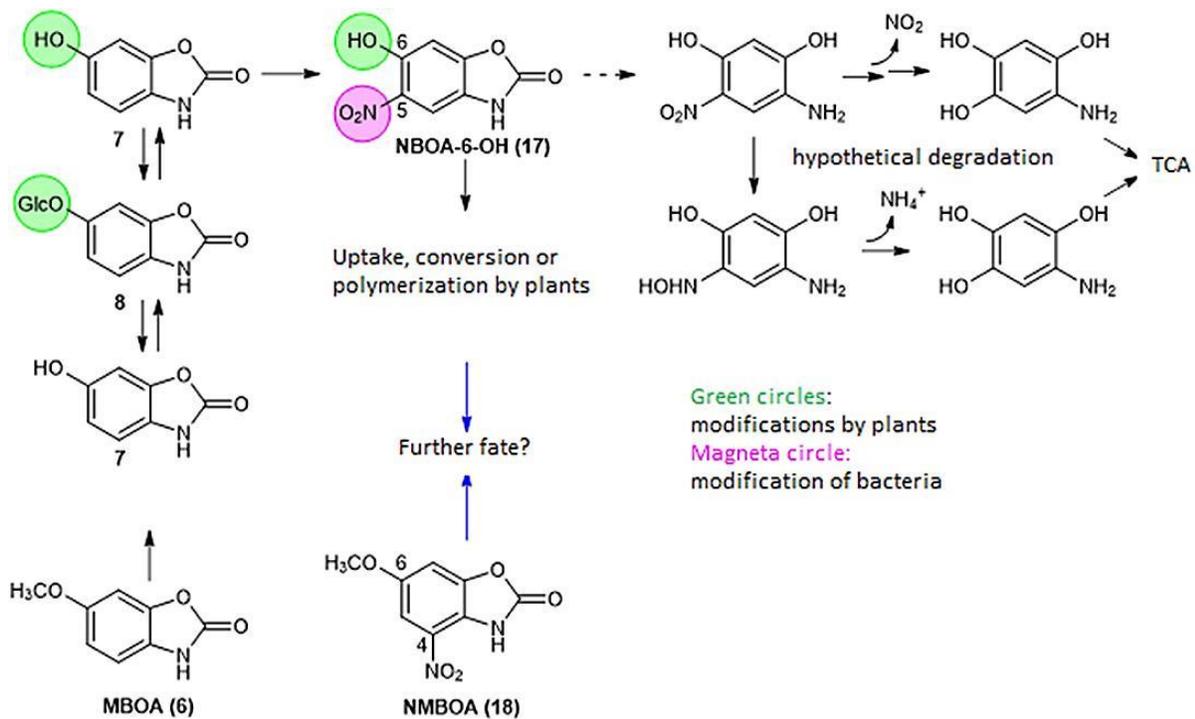


Figura 20. Vía para nitración BOA-6-OH y MBOA. Círculos verdes: modificaciones por plantas, Círculos magenta: Modificaciones por bacterias. El MBOA (6) que se encuentra en el maíz, se puede desmetilar para producir BOA-6-OH (7), posteriormente las plantas glucosilan la molécula, debido a que la producción del BOA6-O-glucósido (8) es el principal producto de desintoxicación de MBOA. Sin embargo existe otra ruta de eliminación, a partir del BOA-6-OH (6) producido por las plantas, ya que es un sustrato para la nitración efectuada por la bacteria *Pantoea ananatis* produciendo el compuesto NBOA-6-OH (17) el cual se postula que puede ser degradado y los compuestos resultantes ir al ciclo de Krebs. Por otro lado, MBOA es otro sustrato para la nitración bacteriana, que conduce a la 6-metoxi4-nitro-benzoxazolin-2(3H)-ona (NMBOA, 18). Tomado de: Schütz et al. (2019).

4.E. Variabilidad en la resistencia a benzoxazolinonas en *F. verticillioides*

La tolerancia a las benzoxazolinonas contribuye una ventaja ecológica para *F. verticillioides* explicando su alta frecuencia en campos de maíz, y hay pocos estudios que han explorado la variabilidad natural en esta propiedad entre distintas cepas de este hongo. En ensayos preliminares de laboratorio evaluamos la tolerancia a BOA (0.5 mg/mL) en 11 cepas de *F. verticillioides* aisladas de maíz. Se inocularon un 50,000 conidias de cada una de las cepas (por triplicado)

en el centro de una placa con medio PDA suplementado con BOA y se midió el crecimiento radial (diámetro de la colonia) durante un periodo de 8 días. Con los valores obtenidos se obtuvo un porcentaje de crecimiento con respecto al medio sin BOA, el cual se graficó para denotar la progresión del crecimiento diario. (Fig. 21). El perfil de las curvas muestra que hay diferencias significativas entre las 11 cepas en su crecimiento radial, lo que puede ser un resultado de su tolerancia relativa a BOA.

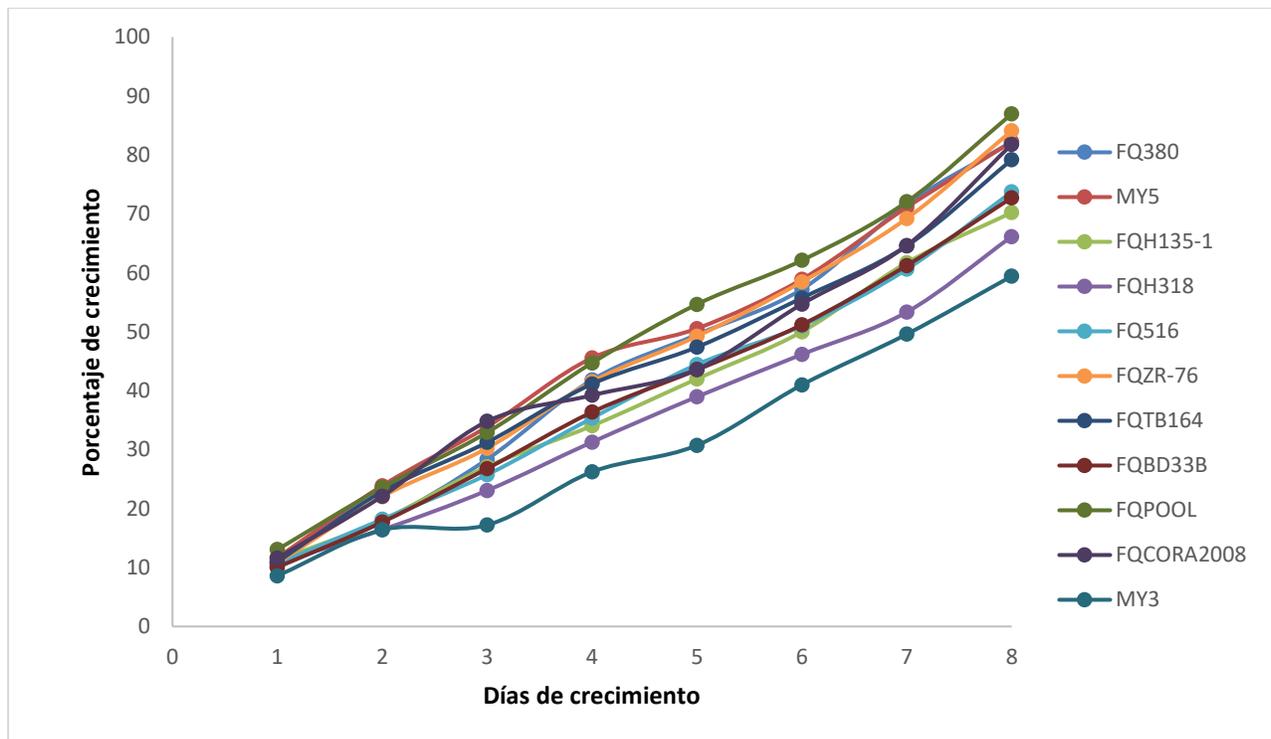


Figura 21. Patrón de crecimiento radial en cepas de *F. verticillioides* crecidas en medio PDA suplementado con BOA (0.5 mg/mL) durante 8 días. Se midió el crecimiento radial desde el día 1 y se grafica como % de crecimiento con respecto al control del solvente (DMSO). Los valores graficados, se obtuvieron respecto al respectivo control de cada cepa, por ello la gráfica no parte de cero. Camacho-Gamiño, A. F. Informe de Servicio Social, FQ-UNAM, 2020).

La Figura 22 muestra el anverso y reverso de las colonias de dos cepas de *F. verticillioides* de este ensayo crecidas en ausencia y en presencia de BOA (5 mg/mL) por 8 días. Las características morfológicas de la colonia se observan entre los días 8 y 10 de crecimiento, por lo que fue relevante documentar los cambios morfológicos de las distintas cepas en presencia del BOA.

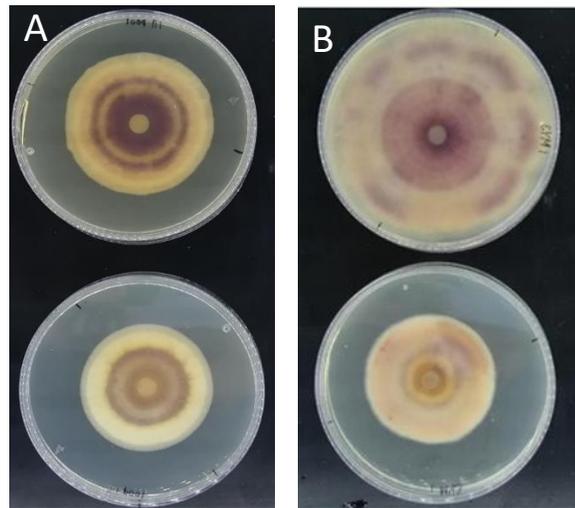


Figura 22. Efecto del BOA sobre el crecimiento radial de las cepas de *F. verticillioides* FQPOOL (A) y MY3 (B). En cada panel, en la parte superior se observan las colonias de la respectiva cepa control (DMSO) y en la parte inferior la cepa en presencia del BOA (0.5 mg/mL) después de 8 días de crecimiento.

Para lograr una clasificación sistemática de la tolerancia a benzoxazolinas de las distintas cepas de *F. verticillioides*, Saunders (2009), creó una escala basada en el umbral de tolerancia al BOA (1,3- benzoxazol-2-ona), asignando así una clase de tolerancia a cada una de las cepas (Tabla 8).

Tabla 8 Clases de tolerancia al BOA según la concentración (Saunders et al. 2009).

Clase	I	II	III	IV	V
Conc. BOA mg / mL	0.25	0.50	0.75	1.0	1.1

La tabla 9 recopila los datos de tolerancia al BOA para distintas cepas de *F. verticillioides*, reportadas en la literatura e incluyendo nuestro trabajo, basado en la clasificación anterior por lo que en la primera columna de la tabla se

presenta la clase de tolerancia al BOA dependiendo de la concentración. En ella se puede observar una diversidad notable entre las distintas cepas en su umbral de tolerancia al BOA, complementando los ensayos preliminares.

A pesar de que el número de datos encontrados para la diversidad en la capacidad de metabolizar benzoxazolinonas no fue tan basto, se logró apreciar el rango de variación entre las concentraciones de BOA capaces de tolerar por distintas cepas de *F. verticillioides*.

Tabla 9. Estudios sobre la capacidad de tolerancia a BOA en distintas cepas de *F. verticillioides* aisladas de diversas fuentes en varias regiones geográficas.

Clase de tolerancia	Umbral de tolerancia al BOA	Origen de las cepas	Medio	# Cepas	Temperatura/Luz	Tiempo	Método de análisis	Ref.
I	0.25 mg/mL	Honduras, banano	Medio PDA +BOA	1	23°C/ obscuridad	7 días -14 días	Crecimiento radial	(Glenn et al. 2001)
II	0.50 mg/mL	Maíz, Cozoaltepec, Oaxaca	Medio PDA +BOA	1	30°C/ obscuridad	8 días	Crecimiento radial	Camacho-Gamiño, S.S UNAM, 2020.
		Maíz, Santiago Etla, Oaxaca	Medio PDA +BOA	1	30°C/ obscuridad	8 días	Crecimiento radial	Camacho-Gamiño, S.S UNAM, 2020.
		Maíz, trópicos bajos	Medio PDA +BOA	1	30°C/ obscuridad	8 días	Crecimiento radial	Camacho-Gamiño, S.S UNAM, 2020.
		Maíz, subtrópicos	Medio PDA +BOA	1	30°C/ obscuridad	8 días	Crecimiento radial	Camacho-Gamiño, S.S UNAM, 2020.
		Maíz, Santiago Etla, Oaxaca	Medio PDA +BOA	2	30°C/ obscuridad	8 días	Crecimiento radial	Camacho-Gamiño, S.S UNAM, 2020.

		Maíz, Cozoaltepec, Oaxaca	Medio PDA +BOA	2	30°C/ obscuridad	8 días	Crecimiento radial	Camacho- Gamiño , S.S UNAM, 2020.
		Valle del Yaqui, Sonora	Medio PDA +BOA	3	30°C/ obscuridad	8 días	Crecimiento radial	Camacho- Gamiño , S.S UNAM, 2020.
III	0.75 mg/mL	Plantas de maíz	Medio PDA +BOA	1	22°C/ obscuridad	14 días	Placas de Petri de cuadrante	(Saunders et al. 2009)
IV	1.0 mg/mL	Alimento de maíz contaminado	Medio PDA +BOA	1	23°C/ obscuridad	7 días- 14 días	Crecimiento radial	(Glenn et al. 2001)
	1.0 mg/mL	Indiana, E.E.U.U., maíz.	Medio PDA +BOA	1	23°C/ obscuridad	7 días- 14 días	Crecimiento radial	(Glenn et al. 2001)
		Nepal, maíz	Medio PDA +BOA	1	23°C/ obscuridad	7 días- 14 días	Crecimiento radial	(Glenn et al. 2001)
V	1.1 mg/mL	Kansas, E.E.U.U., Plantas de maíz.	Medio PDA +BOA	2	22°C/ obscuridad	14 días	Placas de Petri de cuadrante	(Saunders et al. 2008)

5. Discusión

Con la búsqueda bibliográfica se evidenció la alta variabilidad entre distintas cepas de *F. verticillioides*, en los valores de producción fumonisinas. Sin embargo, la diversidad en la tolerancia al BOA apenas ha sido estudiada para unas cuantas cepas de este patógeno y se deben establecer parámetros muy claros para comparar entre diferentes estudios. El trabajo experimental que se alcanzó a concretar como Servicio Social y que se cita en este trabajo contribuyó a generar dichas condiciones pues se generó un ensayo robusto en el que se controla la cantidad de conidias inoculadas lo que permite la comparación entre las cepas.

Como se observa en la tabla 7, la producción de fumonisinas es altamente variable entre la gran cantidad de cepas de *F. verticillioides* reportadas en la bibliografía. Se citaron 22 estudios con un total de 452 cepas, acotando los años de búsqueda desde el 2010 hasta el 2021. La concentración mínima reportada en estos estudios fue 0.05 µg de FB1/g de sustrato (Palacios et al. 2015) en contraste con la concentración más alta de 120×10^3 µg de FB1/g de sustrato (Deepa et al. 2018).

En la mayoría de los estudios las cepas fueron aisladas para asegurar un monocultivo, por lo general con ayuda de medios de cultivo como PDA y agar hoja de clavel (CLA). Después del aislamiento en gran parte de los estudios se realizó una PCR a partir de DNA genómico, para confirmar que se tratara de cepas de *F. verticillioides* usando oligonucleótidos para el Espaciador Intergénico del RNA ribosomal (ITS; Internal Transcribed Sequence).

Otro parámetro que es importante destacar y que contribuye a la variabilidad observada en la producción de FB1, es el tiempo de incubación, a pesar de que la concentración más alta (120×10^3 µg de FB1/g de sustrato) solo tuvo un tiempo de incubación de 14 días, se puede observar que a tiempos de incubación de 28 días (Deepa et al. 2018) en adelante se obtuvieron grandes cantidades de

toxina, excluyendo a la cepas obtenidas de Argentina, que a pesar de que fueron incubadas 28 días sus niveles de FB1 fueron bajos.

El rango de temperatura usada en los estudios va desde los 21°C hasta los 28°C, además de que es mayoritario el número de ensayos donde se incuban en ausencia de luz, debido a que la incubación en la obscuridad aumenta la producción de fumonisinas hasta un 150% (Fanelli et al. 2012); sin embargo, algunos autores optaron por el uso de periodos alternos de luz/obscuridad.

El análisis de los resultados de los ensayos recopilados en este trabajo muestra que los sustratos basados en maíz favorecen la producción de fumonisinas, lo que permite explorar el potencial toxigénico de las cepas, independientemente de donde hayan sido aisladas.

Para el análisis de fumonisinas en su mayor parte se realizaron por medio de HPLC analizando FB1, en menor proporción se empleó la técnica de ELISA ya que al emplearla el análisis es de fumonisinas totales.

Para la diversidad en la capacidad de tolerancia al BOA no se acotaron los años de búsqueda, debido a que la información es muy limitada y en su mayoría del mismo autor. A pesar de esta limitante, se logra apreciar el rango de variación entre las concentraciones de BOA capaces de tolerar por distintas cepas de *F. verticillioides* que va de 0.25 mg/mL a 1.1 mg/mL (Tabla 9). La primera columna de la tabla presenta la clase de tolerancia al BOA dependiendo de la concentración, la cual fue propuesta por el autor Saunders (Tabla 8). Todos los ensayos fueron realizados en medios PDA adicionados con BOA y el método de análisis predilecto fue crecimiento radial en cajas Petri siendo el tiempo de elección por los autores de 14 días en ausencia de luz.

En la Tabla 9, también se adicionaron los resultados experimentales previos, los cuales correspondían a la clase de tolerancia II (0.5 mg/mL), complementando así la información bibliográfica y evidenciando la variabilidad entre las distintas cepas de *F. verticillioides* en su capacidad de tolerar BOA.

El estudio del papel de las benzoxazolinonas ha sido objeto de estudio en los últimos años, debido a múltiples factores que afectan la interacción benzoxazolinonas- *F. verticillioides*.

La capacidad de biotransformación de las benzoxazolinonas por parte de *F. verticillioides*, le proporciona una ventaja ecológica a este patógeno, por lo que la presencia de benzoxazolinonas aumenta la incidencia de *F. verticillioides* en las plantas de maíz, ya que la competencia por espacio y nutrimentos se ve reducida, pues los microorganismos que usualmente alberga el maíz no cuentan con un sistema catabólico de estos compuestos, lo que limita su desarrollo. Estas interacciones químicas afectan la dinámica de la microbiota en la rizosfera de maíz, como se ha demostrado con varias especies del género *Trichoderma*, que es un antagonista de *Fusarium spp.* y otros hongos fitopatógenos, ya que este microorganismo es susceptible a algunos productos del metabolismo de benzoxazolinonas, como el APO (Popiel et al. 2013).

Asimismo, el metabolismo de benzoxazolinonas puede afectar a la propia planta emisora, ya que, si la degradación del BOA a APO se da en un menor tiempo que la liberación de estos compuestos, se acumula APO, lo que altera la expresión de genes involucrados en el desarrollo y crecimiento.

Así como *Fusarium spp.* ha evolucionado la capacidad de metabolizar las benzoxazolinonas, plagas de insectos que atacan maíz son capaces de percibir estos compuestos como señales químicas que les permiten localizar tejidos susceptibles con mayor cantidad de nutrimentos, o evadir aquellos que tengan altos niveles de compuestos tóxicos.

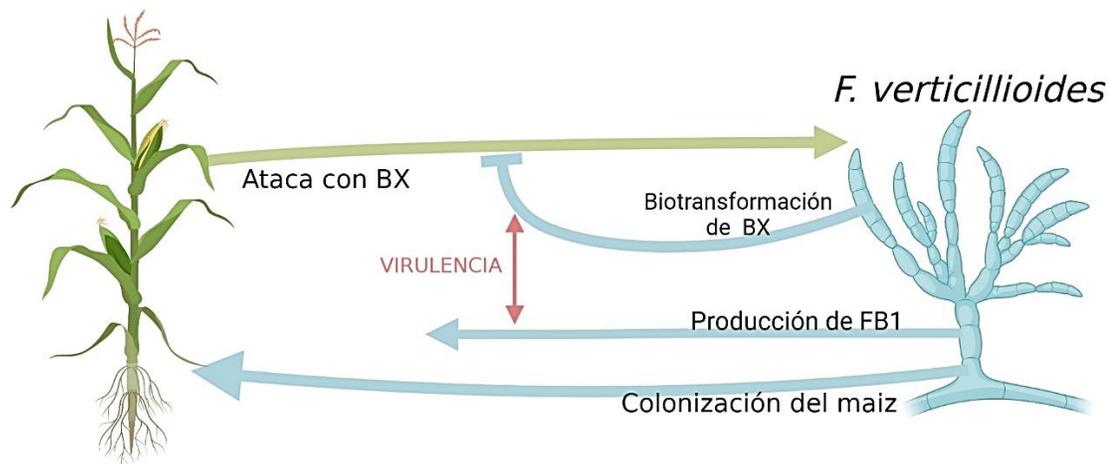
Dado la actividad insecticida de las benzoxazolinonas, a lo largo de los años se ha hecho una selección empírica de variedades de maíz con resistencia a plagas de insectos, lo que probablemente ha resultado en una mayor incidencia de *F. verticillioides* en maíz, al tener esta especie la capacidad de tolerar benzoxazolinonas y competir por nichos ecológicos contra otros hongos. Esto se puede reflejar también en niveles elevados de fumonisinas, que típicamente se

observan en maíz contaminado, lo que dejaría al maíz con una gran desventaja al enfrentarse a sus patógenos usuales. Además, a mayor concentración de BX puede ocasionar un aumento en el crecimiento de algunos insectos como es el caso del gusano *D. v. virgifera*, lo que conduciría a una plaga de este gusano (Robert et al. 2012).

Sin embargo se propone que haya una concentración umbral de BX que sea lo suficientemente alta como para proporcionar un efecto insecticida y antifúngico a la planta, pero lo suficientemente baja como para evitar el beneficio de colonización para las especies de *Fusarium* e insectos metabolizadores.

Además otra posible estrategia podría ser encontrar una combinación de microorganismos para formar un consorcio simbiótico con el maíz, que efectúe una biotransformación más rápida y efectiva de los metabolitos de las BX producidos por especies de *Fusarium*, con el fin de eliminar estos metabolitos tóxicos del hospedero y su rizosfera, y así suprimir la ventaja ecológica que le proporcionan los derivados BX a especies de *Fusarium*, además de permitir el crecimiento de microorganismos benéficos para la planta como *Trichoderma*, aumentando los mecanismos de defensa del maíz.

El maíz produce benzoxazolinonas como mecanismo de defensa contra patógenos que residen en él, como es el caso de *F. verticillioides*; el cual puede producir micotoxinas como son las fumonisinas, además de contraatacar la producción de benzoxazolinonas, tolerando concentraciones que resultan inhibitorias para otros hongos. Tanto la capacidad de producir FB1 como la tolerancia a BOA, son adaptaciones claves asociadas a la virulencia de *F. verticillioides*; y ambos factores mostraron una amplia variabilidad de entre distintas cepas de este patógeno (Figura 23).



Benzoxazolinonas (BX)

Figura 23. Tolerancia a benzoxazolinonas y producción de fumonisinas, dos metabolismos que contribuyen a la agresividad y colonización de maíz en *F. verticillioides*.

6. Conclusiones

Se observó una amplia diversidad en los valores de producción de fumonisinas (FB1) entre cepas de *F. verticillioides* reportados en la literatura. De igual manera para los valores de concentración de Benzoxazolinonas (BOA) capaces de tolerar por distintas cepas de *F. verticillioides* se encontró una diversidad notable, apoyando los datos experimentales preliminares.

Es contrastante la abundancia de literatura encontrada sobre los dos objetivos que constituyeron este proyecto y queda claro que tanto la capacidad de producir FB1 como la tolerancia a BOA, son metabolismos claves asociados a la virulencia de *F. verticillioides*, por lo que esta posible asociación merece un estudio experimental profundo. Es importante resaltar que durante la búsqueda bibliográfica no se encontraron ensayos o artículos que relacionaran los dos metabolismos estudiados en este trabajo, lo que confirma que es un área relevante de estudiar en el laboratorio pues contamos con una amplia colección de cepas de este hongo patógeno, aisladas de maíz.

Es de suma importancia, la búsqueda de estrategias que contribuyan a combatir y controlar al patógeno *F. verticillioides*, debido a las actuales evidencias sobre su desarrollo de nuevas herramientas para colonizar al maíz.

7. Perspectivas

- Realizar ensayos con distintas cepas de *F. verticillioides* evaluando la producción de fumonisinas y la tolerancia a benzoxazolinonas para determinar si existe un patrón de entre estos factores.
- Evaluar si existe un cambio en la expresión de genes reguladores de la biosíntesis de FB1 como el gen *FUM 21* por el efecto del BOA, esto contribuiría con información para poder atacar a *F. verticillioides* de una manera eficaz con el fin de proteger los cultivos de maíz.
- Implementar estrategias de mitigación precosecha y post-cosecha, así como normas regulatorias que contribuyan a reducir la exposición a fumonisinas y otras micotoxinas en la población.

8. Bibliografía:

- Atkinson, J., Arnason, J., Campos, F., & Niemeyer, H. M. (1992). Synthesis and Reactivity of Cyclic Hydroxamic Acids. En H. R. Bravo (Ed.), *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals III* (1.a ed., Vol. 3, pp. 350–360). Memphis, EUA: American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-1992-0504.ch032>
- Bailly, J. D., Benard, G., & Jouglar, J. Y. (2001). Toxicity of *Fusarium moniliforme* Culture Material Containing Known Levels of Fumonisin B1 in Ducks. *Toxicology*, 163(1), 11–22. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00368-7](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00368-7)
- Balajee, S. A., Borman, A. M., & Brandt, M. E. (2020). Sequence-Based Identification of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Mucorales* Species in the Clinical Mycology Laboratory: Where Are We and Where Should We Go from Here? *Journal of Clinical Microbiology*, 47(4). <https://doi.org/10.1128/JCM.01685-08>
- Baldwin, T. T., Zitomer, N. C., Mitchell, T. R., Bacon, C. W., Riley, R. T., & Glenn, A. E. (2014). Maize Seedling Blight Induced by *Fusarium verticillioides*: Accumulation of Fumonisin B1 in Leaves without Colonization of the Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(9), 2118–2125. <https://doi.org/10.1021/jf5001106>
- Barton, K. E., & Koricheva, J. (2010). The Ontogeny of Plant Defenses and Herbivory: Characterizing General Patterns Using Meta-analysis. *The American Naturalist*, 175(4), 481–493. <https://doi.org/10.1086/650722>
- Beccari, G., Onofri, A., Valente, F., & Covarelli, R. (2020). *In Vitro* Fumonisin Biosynthesis and Genetic Structure of *Fusarium verticillioides* Strains from Five Mediterranean Countries. *Microorganisms*, 8(2), 2–17. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020241>
- Berenbaum, M. (1980). Adaptive Significance of Midgut pH in Larval *Lepidoptera*. *The American Naturalist*, 115(1), 138–146. <https://doi.org/10.1086/283551>
- Brack, W., & Frank, H. (1998). Chlorophyll a Fluorescence: a Tool for the Investigation of Toxic Effects in the Photosynthetic Apparatus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 40(1–2), 34–41. <https://doi.org/10.1006/eesa.1997.1639>

- Brown, D. W., Butchko, R. A., Busman, M., & Proctor, R. H. (2007). The *Fusarium verticillioides* FUM Gene Cluster Encodes a Zn(II)₂Cys₆ Protein that Affects FUM Gene Expression and Fumonisin Production. *Eukaryotic Cell*, 6(7), 1210–1218. <https://doi.org/10.1128/EC.00400-06>
- Buchanan, B. B., Jones, R. L., & Gruissem, W. (2000). *Biochemistry & molecular biology of plants (1.a ed.)*. American society of plant physiologists. <https://doi.org/10.1023/A:1013849028622>
- Cambier, V., Hance, T., & de Hoffman, E. (2001). Effects of 1,4-benzoxazin-3-one Derivatives from Maize on Survival and Fecundity of *Metopolophium dirhodum* (Walker) on Artificial Diet. *Journal of Chemical Ecology*, 27(2), 359–370. <https://doi.org/10.1023/a:1005636607138>
- Chirino, B., Strahsburger, E., & Agulló, L. (2013). Genomic and Functional Analyses of the 2-aminophenol Catabolic Pathway and Partial Conversion of its Substrate into Picolinic Acid in *Burkholderia xenovorans* LB400. *PLOS ONE*, 8(10), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075746>
- Coradi, P. C., Maier, D. E., Channaiah, L. H., & Campabadal, C. (2016). Effects of the Processing on the Distribution of Aflatoxin and Fumonisin Levels in Corn Fractions and Feeds. *Journal of Food Process Engineering*, 39(3), 215–225. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.6.1261>
- Corcuera, L. J., Queirolo, C. B., & Argandoña, V. H. (1985). Effects of 2-β-D-glucosyl-4-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one on *Schizaphis graminum* (rondani) (insecta, aphididae) Feeding on Artificial Diets. *Experientia*, 41(4), 514–516. <https://doi.org/10.1007/BF01966177>
- Corcuera, L. J., Woodward, M. D., & Helgeson, J. P. (1978). 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, an Inhibitor from *Zea mays* with Differential Activity Against Soft Rotting *Erwinia* Species. *Plant Physiology* 61, 791–795. <https://doi.org/10.1104/pp.61.5.791>
- Couture, K. M., Routley, D. G., & DUNN, G. M. (1971). Role of Cyclic Hydroxamic Acids in Monogenic Resistance of Maize to *Helminthosporium turcicum*. *Physiological Plant Pathology*, 1, 515–521. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(71\)90013-0](https://doi.org/10.1016/0048-4059(71)90013-0)
- Covarelli, L., Stifano, S., Beccari, G., & Raggi, L. (2012). Characterization of *Fusarium verticillioides* Strains Isolated from Maize in Italy: Fumonisin Production, Pathogenicity and Genetic Variability. *Food Microbiology*, 31, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.02.002>

- de la Torre-Hernández M.E., Sánchez-Rangel D., Galeana-Sánchez E & Plasencia de la Parra J. (2014). Fumonisin- Síntesis y Función en la Interacción *Fusarium verticillioides* - maíz. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 17(1), 77-91.
<https://doaj.org/article/bba4a29ba4d04fd7b79c401d87cd0667>
- Deepa, N., Rakesh, S., & Sreenivasa, M. Y. (2018). Morphological, Pathological and Mycotoxicological Variations Among *Fusarium verticillioides* Isolated from Cereals. *Biotechnology* 8(2), 8-105.
<https://doi.org/10.1007/s13205-018-1136-z>
- Desjardins, A. E., & Proctor, R. H. (2001). Biochemistry and Genetics of Fusarium Toxins in: *Fusarium: Simposio Conmemorativo de Paul E. Nelson*. Prensa de la Sociedad Americana de Fitopatología, St. Paul, MN, 22-137.
- Desjardins, A. E., Busman, M., Muhitch, M., & Proctor, R. H. (2007). Complementary host-Pathogen Genetic Analyses of the Role of Fumonisin in the *Zea mays-Gibberella moniliformis* Interaction. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 70(4-6), 149-160.
<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.09.001>
- Desjardins, A. E., Plattner, R. D., Proctor, R. H., & Munkvold, G. P. (2002). FUM1 - A gene Required for Fumonisin Biosynthesis but not for Maize Ear Rot and Ear Infection by *Gibberella moniliformis* in Field Tests. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15(11), 1157-1164.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.11.1157>
- Díaz, C., Rodríguez, M. M., Fresneda, M., & Bisset, J. A. (2004). Determinación de la Actividad Glutathión-S-transferasa en Cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros Países de América Latina. *Revista Cubana de Medicina*, 56(2). Recuperado en 07 de marzo de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602004000200005&lng=es&tlng=es
- Dimarco, R. D., Nice, C. C., & Fordyce, J. A. (2012). Family Matters: Effect of Host Plant Variation in Chemical and Mechanical Defenses on a Sequestering Specialist Herbivore. *Oecologia*, 170(3), 687-693.
<https://doi.org/10.1007/s00442-012-2343-7>
- Doi, K., & Uetsuka, K. (2011). Mechanisms of Mycotoxin-Induced Neurotoxicity through Oxidative Stress-Associated Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(8), 5213-5237.
<https://doi.org/10.3390/ijms12085213>

- Domijan, A. M., Gajski, G., & Jovanovic, I. N. (2015). In vitro genotoxicity of Mycotoxins Ochratoxin a and Fumonisin B1 Could Be Prevented by Sodium Copper Chlorophyllin - Implication to their Genotoxic Mechanism. *Food Chemistry*, 170, 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.036>
- Duncan, K. E., & HOWARD, R. J. (2010). Biology of Maize Kernel Infection by *Fusarium verticillioides*. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, 23(1), 6–16. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-1-0006>
- Edrington, T. S., Kamps-Holtzapfel, C., & Harvey, R. B. (1995). Acute Hepatic and Renal Toxicity in Lambs dosed with Fumonisin-containing Culture Material. *Journal of Animal Science*, 73(2), 508–515. <https://doi.org/10.2527/1995.732508x>
- Erwin, E. A., Turner, M. G., Lindroth, R. L., & Romme, W. H. (2001). Secondary Plant Compounds in Seedling and Mature Aspen (*Populus tremuloides*) in Yellowstone National Park, Wyoming. *The American Midland Naturalist*, 145(2), 299–308. [https://doi.org/10.1674/0003-0031\(2001\)145\[0299:SPCISA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1674/0003-0031(2001)145[0299:SPCISA]2.0.CO;2)
- Farhadi, A., Fakhri, Y., & Reza Kachuei, Yass, R. (2021). Prevalence and concentration of Fumonisin in Cereal-based foods: a Global Systematic Review and Meta-analysis Study. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(17). <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443>
- Fanelli, F., Schmidt-Heydt, M., & Haidukowski, M. (2012). Influence of Light on Growth, Conidiation and Fumonisin Production by *Fusarium verticillioides*. *Fungal Biology*, 116(2), 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.11.007>
- Feng, R., Houseman, J. G., Downe, A., & Atkinson, J. (1992). Effects of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA) and 6-methoxybenzoxazolinone (MBOA) on the Detoxification Processes in the Larval Midgut of the European Corn Borer. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 44(2), 47–54. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(92\)90112-D](https://doi.org/10.1016/0048-3575(92)90112-D)
- Gai, X., Dong, H., & Wang, S. (2018). Infection Cycle of Maize Stalk Rot and Ear Rot Caused by *Fusarium verticillioides*. *Plos One*, 13(7), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201588>

- Gandini, A., Pascoal, C., & Silvestre, J. D. (2006). Suberin: A promising Renewable Resource for Novel Macromolecular Materials. *Progress in Polymer Science*, 31(10), 878–892. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.07.004>
- Gelderblom, W. C. A., Kriek, N. P. J., & Marasas, W. F. O. (1991). Toxicity and Carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* Metabolite, Fumonisin B1, in Rats. *Carcinogenesis*, 12(7), 1257–1251. <https://doi.org/10.1093/carcin/12.7.1247>
- Glauser, G., Marti, G., Villard, N., & Doyen, G. A. (2011). Induction and Detoxification of Maize 1,4-benzoxazin-3-ones by Insect Herbivores. *Plant Journal*, 68(5), 901–911. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04740.x>
- Glenn, A. E., & Bacon, C. W. (2009). FDB2 Encodes a Member of the Arylamine N-Acetyltransferase Family and is Necessary for Biotransformation of Benzoxazolinones by *Fusarium verticillioides*. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2), 657–671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04246.x>
- Glenn, A. E., Davis, C. B., Gao, M., & Gold, S. E. (2016). Two Horizontally Transferred Xenobiotic Resistance Gene Clusters Associated with Detoxification of Benzoxazolinones by *Fusarium* Species. *Plos One*, 11(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147486>
- Glenn, A. E., Meredith, F. I., Morrison, W. H., & Bacon, C. W. (2003). Identification of Intermediate and Branch Metabolites Resulting from Biotransformation of 2-Benzoxazolinone by *Fusarium verticillioides*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), 3165–3169. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3165-3169.2003>
- Glenn, A. E., Zitomer, N. C., & Zimeri, A. M. (2008). Transformation-Mediated Complementation of a FUM Gene Cluster Deletion in *Fusarium verticillioides* Restores both Fumonisin Production and Pathogenicity on Maize Seedlings. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(1), 87–97. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-1-0087>
- Graça, J. (2015). Suberin: the Biopolyester at the Frontier of Plants. *Frontiers in Chemistry*, 3. <https://doi.org/10.3389/fchem.2015.00062>

- Guarro, J. (2012). Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(1). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.006>
- Harrison, L. R., Colvin, B. M., Greene, J. T., Greene, L. E., & Cole, J. R. (1990). Pulmonary Edema and Hydrothorax in Swine Produced by Fumonisin B1, a Toxic Metabolite of *Fusarium moniliforme*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2(3), 217–221. <https://doi.org/10.1177/104063879000200312>
- Hong, S. C., Williamson, R. C., & Held, D. W. (2012). Leaf Biomechanical Properties as Mechanisms of Resistance to Black Cutworm (*Agrotis ipsilon*) Among Poa species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 145(3), 201–208. <https://doi.org/10.1111/eea.12005>
- Hung, H. Y., & Holland, J. B. (2012). Diallel analysis of resistance to *Fusarium* Ear Rot and Fumonisin Contamination in Maize. *Crop Science*, 52(5), 2173–2181. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.03.0154>
- Jeschke, M. (2020, 30 septiembre). *Fusarium* Ear Rot. Recuperado 3 de enero de 2022, de https://www.pioneer.com/us/agronomy/fusarium_ear_rot_cropfocus.html
- Johnson, S., & Gregory, P. J. (2006). Chemically-mediated host-plant Location and Selection by Root-feeding Insects. *Physiological Entomology*, 31(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2005.00487.x>
- Knutsen, H. K., Barregård, L., & Bignami, M. (2018). Appropriateness to Set a Group Health Based Guidance Value for Fumonisin and their Modified Forms. *EFSA Journal*, 16(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5172>
- Kommedahl, T. & Windels, C. E. Root-, stalk-, and ear infection *Fusarium* Species on Corn in the USA. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy; Pennsylvania State University: University Park, PA, USA, 1981; pp 94– 103.*
- Kowalska, A., Hajok, I., & Piekut, A. (2017). Assessment of the Contamination Level by Fumonisin B1 and B2 of the Corn Food Products Available on Polish Consumer Market. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(7), 2595–2601. <https://doi.org/10.15244/pjoes/70386>
- Kuki, M. C., Pinto, R. J. B., Bertagna, F. A. B., & Tessmann, D. J. (2020). Association Mapping and Genomic Prediction for Ear Rot Disease Caused

- by *Fusarium verticillioides* in a Tropical Maize Germplasm. *Crop Science*, 60(6), 2867-2881. <https://doi.org/10.1002/csc2.20272>
- Lanubile, A., Maschietto, V., Borrelli, V. M., & Stagnati, L. (2017). Molecular Basis of Resistance to *Fusarium* Ear Rot in Maize. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01774>
- Lanza, F.E., Zambolim, L., Costa, R.V. et al. (2017). Symptomatology Associated with Fungal Incidence and Fumonisin Levels in Corn Kernels. *Tropical Plant Pathology*, 42(4), 304–308. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0148-2>
- Ledoux, D. R., Brown, T. P., & Weibking, T. S. (1992). Fumonisin Toxicity in Broiler Chicks. *Journal of Veterinary Diagnostics*, 4, 330–333. <https://doi.org/10.1177/104063879200400317>
- Ma, L. J., Does, H. C., Borkovich, K. A., & Coleman, J. J. (2010). Comparative Genomics Reveals Mobile Pathogenicity Chromosomes in *Fusarium*. *Nature*, 464, 367–373. <https://doi.org/10.1038/nature08850>
- Maag, D., Erb, M., Köllner, T. G., & Gershenzon, J. (2015). Defensive Weapons and Defense Signals in Plants: Some Metabolites Serve Both Roles. *Bioessays*, 37(2), 167–174. <https://doi.org/10.1002/bies.201400124>
- Marasas, W. F. O., Riley, R. T., Hendricks, K. A., Stevens, V. L., & Sadler, T. W. (2004). Fumonisin Disrupts Sphingolipid Metabolism, Folate Transport, and Neural Tube Development in Embryo Culture and *in vivo*: a Potential Risk Factor for Human Neural Tube Defects Among Populations Consuming Fumonisin-Contaminated Maize. *Journal of Nutrition*, 134(4), 711–716. <https://doi.org/10.1093/jn/134.4.711>
- Martyniuk, S., Stochmal, A., & Macias, F. A. (2006). Effects of Some Benzoxazinoids on *In Vitro* Growth of *Cephalosporium gramineum* and Other Fungi Pathogenic to Cereals and on *Cephalosporium* Stripe of Winter Wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1036–1039. <https://doi.org/10.1021/jf050901x>
- Mary, V. S., Theumer, M. G., Arias, S. L., & Rubinstein, H. R. (2012). Reactive Oxygen Species Sources and Biomolecular Oxidative Damage Induced by Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 in Rat Spleen Mononuclear Cells. *Toxicology*, 302, 209–307. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.08.012>

- Mathur, S., Constable, P. D., & Eppley, R. M. (2001). Fumonisin B1 Increases Serum Sphinganine Concentrations but does not Alter Serum Sphingosine Concentration or Induce Cardiovascular Changes in Milk-fed Calves. *Toxicological Sciences*, 60, 379–384. <https://doi.org/10.1093/toxsci/60.2.379>
- Mazzoni, E., Scandolara, A., & Giorni, P. (2011). Field Control of *Fusarium* Ear Rot, *Ostrinia nubilalis* (Hubner), and Fumonisin in Maize Kernels. *Pest management science*, 67(4), 458–465. <https://doi.org/10.1002/ps.2084>
- Mesterhazy, A., Lemmens, M., & Reid, L. M. (2012). Breeding for Resistance to Ear Rots Caused by *Fusarium spp.* in Maize. *Plant Breeding*, 131, 1–19. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01936.x>
- Miñarro, M. (2011). Los Enemigos Naturales de los Pulgones. *Tecnología Agroalimentaria*, 9, 7–12.
- Missmer, S. A., Suarez, L., & Felkner, M. (2006). Exposure to Fumonisin and the Occurrence of Neural Tube Defects along the Texas–Mexico Border. *Environmental Health Perspectives*, 114(2), 237. <https://doi.org/10.1289/ehp.8221>
- Mukanganyama, S., Figueroa, C. C., Hasler, J. A., & Niemeyer, H. M. (2003). Effects of DIMBOA on Detoxification Enzymes of the Aphid *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae). *Journal of Insect Physiology*, 49(3), 223–229. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(02\)00269-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(02)00269-X)
- Nelson PE., Tousson TA. ,Marasas WOF. (1983). *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification. *The Pennsylvania State University Press: University Park*. PA
- Nelson, P. E. (1992). Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia.*, 117, 29–36. <https://doi.org/10.1007/BF00497276>
- Niemeyer, H. M. (2009). Hydroxamic Acids Derived from 2-Hydroxy-2H-1,4-Benzoxazin-3(4H)-one: Key Defense Chemicals of Cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1677–1696. <https://doi.org/10.1021/jf8034034>
- Norred, W. P., & Voss, K. A. (1994). Toxicity and Role of Fumonisin in Animal Diseases and Human Esophageal Cancer. *Journal of Food Protection*, 57(6), 522–527. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-57.6.522>

- Oldenburg, E., Höppner, F., Ellner, F., & Weinert, J. (2017). Fusarium Diseases of Maize Associated with Mycotoxin Contamination of Agricultural Products Intended to be Used for Food and Feed. *Mycotoxin Research*, 33(3), 167–182. <https://doi.org/10.1007/s12550-017-0277-y>
- Pentzold, S., Zagrobelny, M., Rook, F., & Bak, S. (2014). How Insects Overcome Two-Component Plant Chemical Defence: Plant β -glucosidases as the Main Target for Herbivore Adaptation. *Biological Reviews*, 89(3), 531–551. <https://doi.org/10.1111/brv.12066>
- Perilla, N. S., & GJ, D. (1998). Incidence and Levels of Fumonisin Contamination in Colombian Corn and Corn Products. *Mycotoxin Research*, 14(2), 74–82. <https://doi.org/10.1007/BF02945096>
- Pinhão, M., Tavares, A. M., Loureiro, S., & Louro, H. (2020). Combined Cytotoxic and Genotoxic Effects of Ochratoxin A and Fumonisin B1 in Human Kidney and Liver Cell Models. *Toxicology in Vitro*, 68. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104949>
- Plasencia, J. (2016). Ecología, Química y Alelopatía. En *Ecología química y alelopatía Avances y perspectivas* (1.ª ed, pp. 129–153). CDMX, México: Plaza y Valdés.
- Popiel, D., Kwaśny, H., Chełkowski, J., Stępień, L., & Laskowska, M. (2013). Impact of Selected Antagonistic Fungi on *Fusarium* species—toxicogenic cereal pathogens. *Acta Mycologica*, 43(1), 29–40. <https://doi.org/10.5586/am.2008.004>
- Proctor, R. H., Seo, J. A., & Plattner, R. D. (2001). Characterization of Four Clustered and Coregulated Genes Associated with Fumonisin Biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Fungal Genetics and Biology*, 34(3), 155–165. <https://doi.org/10.1006/fgbi.2001.1299>
- Ralph, J., Lapierre, C., & Boerjan, W. (2019). Lignin Structure and its Engineering. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.02.019>
- Reyes-Velázquez, W. P., Anguiano, C. N., Anguiano, R., Jiménez, L. A., Torres, P., & Rojo, F. (2018). Levels of Fumonisin in Corn Stover for Equine Consumption in Jalisco State. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*. 9(4), 845–854. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i4.4651>

- Robert, C. A. M., Veyrat, N., & Babst, B. A. (2012). A Specialist Root Herbivore Exploits Defensive Metabolites to Locate Nutritious Tissues. *Ecology letters*, 15(1), 55–64. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01708.x>
- Robertson, L. A., Kleinschmidt, C. E., & White, D. G. (2006). Heritabilities and Correlations of Fusarium Ear Rot Resistance and Fumonisin Contamination Resistance in Two Maize populations. *Crop Science*, 46(1), 353–361. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0139>
- Rogers, C. D., & Evans, K. A. (2013). Wheat Bulb Fly (*Delia coarctata*, Fallen, Diptera: Anthomyiidae) Larval Response to Hydroxamic Acid Constituents of Host-plant Root Exudates. *Bulletin of Entomological Research*, 103(3), 261–268. <https://doi.org/10.1017/S0007485312000661>
- Ross, P. F., Rice, L. G., & Reagor, J. C. (1991). Fumonisin B1 Concentrations in Feeds from 45 Confirmed Equine Leukoencephalomalacia Cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 3, 238–241. <https://doi.org/10.1177/104063879100300310>
- Salazar, A., & Gamboa De Buen, A. (2013). Importancia de las Pectinas en la Dinámica de la Pared Celular durante el Desarrollo Vegetal. *Revista de Educación Bioquímica*, 32(2), 67–75.
- Sánchez-Rangel, D., Sánchez-Nieto, S., & Plasencia, J. (2012). Fumonisin B1, a Toxin Produced by *Fusarium verticillioides*, Modulates Maize β -1,3-glucanase Activities Involved in Defense Response. *Planta*, 235(5), 965–978. <https://www.jstor.org/stable/43564728>
- Saunders, M., & Kohn, L. M. (2008). Host-Synthesized Secondary Compounds Influence the In Vitro Interactions between Fungal Endophytes of Maize. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), 136–142. <https://doi.org/10.1128/AEM.01538-07>
- Saunders, M., & Kohn, L. M. (2009). Evidence for Alteration of Fungal Endophyte Community Assembly by Host Defense Compounds. *New Phytologist*, 182(1), 229–238. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02746.x>
- Schulz, M., Marocco, A., Tabaglio, V., Macias, F. A., & Molinillo, J. M. G. (2013). Benzoxazinoids in Rye Allelopathy – from Discovery to Application in Sustainable Weed Control and Organic Farming. *Allelochemical Interactions in Agro- and Natural Ecosystems Journal of chemical ecology*, 39(2), 154–174.

- Schütz, V., Laschke, L., Schulz, M., & Bigler, L. (2019). Conversions of Benzoxazinoids and Downstream Metabolites by Soil Microorganisms. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00238>
- Showkath Babu, B. M., Lohithaswa, H. C., Mallikarjuna, N., Pandravada, A., & Balasundara, D. C. (2020). Genetic Characterization of Maize Doubled Haploid Lines for *Fusarium* Stalk Rot Caused by *Fusarium verticillioides*. *Journal of Genetics*, 99(83). <https://doi.org/10.1007/s12041-020-01236-4>
- Shroff, R., Vergara, F., & Muck, A. (2008). Nonuniform Distribution of Glucosinolates in *Arabidopsis thaliana* Leaves Has Important Consequences for Plant Defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(16), 6196–6201. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711730105>
- Stamp, N. (2003). Out Of The Quagmire Of Plant Defense Hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, 78(1), 23–55. <https://doi.org/10.1086/367580>
- Tafolla-Arellano, J. C. (2013). Composition, Physiology and Biosynthesis of Plant Cuticle. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1). Recuperado en 06 de marzo de 2022 de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000100001
- Takitani, S. (1979). Spectrodensitometric Determination of Trichothecene Mycotoxins with 4 (p- nitrobenzyl) Piridine on Silicagel thin Layer Chromatography. *Journal of Chromatography*, 172, 335–342. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)90970-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)90970-1)
- Tian, Y., Tan, Y., Yan, Z., & Wu, A. (2018). Antagonistic and Detoxification Potentials of *Trichoderma* Isolates for Control of Zearalenone (ZEN) Producing *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02710>
- Uhlig, S., Uhlig, M., Uhlig, D. S., Rønning, H., & Proctor, R. (2012). Identification of Early Fumonisin Biosynthetic Intermediates by Inactivation of the *FUM6* Gene in *Fusarium verticillioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf302967b>

- USDA. (2022, febrero). World Agricultural Production. Recuperado 28 de febrero de 2022, de <https://usda.library.cornell.edu/concern/publications/5q47rn72z?locale=en>
- Venturelli, S., Belz, R. G., & Kämper, A. (2015). Plants Release Precursors of Histone Deacetylase Inhibitors to Suppress Growth of Competitors. *Plant Cell*, 27(11), 3175–3189. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00585>
- Venturelli, S., Petersen, S., & Lauer, U. M. (2016). Allelochemicals of the Phenoxazinone Class Act at Physiologically Relevant Concentrations. *Plant Signaling and Behavior*, 11(5). <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1176818>
- Visentin, I., Montis, V., & Döll, K. (2012). Transcription of Genes in the Biosynthetic Pathway for Fumonisin Mycotoxins Is Epigenetically and Differentially Regulated in the Fungal Maize Pathogen *Fusarium verticillioides*. *Eukaryotic Cell*, 11(3). <https://doi.org/10.1128/EC.05159-11>
- Voloshchuk, N., Schütz, V., Laschke, L., Schulz, M., & Gryganskyi, A. P. (2020). The *Trichoderma viride* F-00612 Consortium Tolerates 2-amino-3H-phenoxazin-3-one and Degrades Nitrated Benzo[d]oxazol-2(3H)-one. *Chemoecology*, 30(2), 79–88. <https://doi.org/10.1007/s00049-020-00300-w>
- Wang, E., Norred, W. P., & Bacon, C. W. (1991). Inhibition of Sphingolipid Biosynthesis by Fumonisin. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *The Journal of biological chemistry*, 266(22), 14486–1190. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)98712-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)98712-0)
- Wang, J., Zhou, Y., & Liu, W. (2008). Fumonisin Level in Corn-based Food and Feed from Linxian County, a High-risk Area for Esophageal Eancer in China. *Food Chemistry*, 106(1), 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.076>
- Wouters, F., Blanchette, B., Gershenzon, J., & Vassão, D. (2016). Plant Defense and Herbivore Counter-defense: Benzoxazinoids and Insect Herbivores. *Phytochemistry Reviews*, 15(6), 1127–1151. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9481-1>

Wu, J., & Baldwin, I. T. (2010). New insights into Plant Responses to the Attack from Insect Herbivores. *Annual Review of Genetics*, 44, 1–24. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102209-163500>

Yoshizawa, T., Yamashita, A., & Luo, Y. (1994). Fumonisin Occurrence in Corn from High- and Low-risk Areas for Human Esophageal Cancer in China. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(5), 1626–1629. <https://doi.org/10.1128/aem.60.5.1626-1629.1994>