

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación).

Todo el material contenido en esta tesis está 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 o titular de los Derechos de Autor.

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Maestría en Ciencias  
en Ciencias de la Vida**

---

**Efecto de moléculas despolimerizadoras de actina en  
enfermedades infecciosas causadas por *Fusarium vanettenii***

Tesis  
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias

Presenta:

**Karla Joana Ramírez Bourgoïn**

Ensenada, Baja California, México  
2025

Tesis defendida por  
**Karla Joana Ramírez Bourgoín**

y aprobada por el siguiente Comité

**Dr. Gilberto Curlango Rivera**  
Director de tesis

**Dra. Olga Alicia Callejas Negrete**

**Dra. Rosa Reyna Mouriño Pérez**

**Dra. Fabiola Lafarga De La Cruz**



**Dr. Edgardo Alfredo Sepúlveda Sánchez Hidalgo**  
Coordinador del Posgrado en Ciencias de la Vida

**Dra. Ana Denise Re Araujo**  
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Karla Joana Ramírez Bourgoïn** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Ciencias de la Vida

**Efecto de moléculas despolimerizadoras de actina en enfermedades infecciosas causadas por *Fusarium vanettenii***

Resumen aprobado por:

Dr. Gilberto Curlango Rivera  
**Director de tesis**

Las enfermedades infecciosas causadas por hongos filamentosos del género *Fusarium* representan un desafío relevante en la salud pública a nivel mundial, debido a su impacto en seres humanos, industria agropecuaria, y la contaminación de alimentos por micotoxinas. En este contexto, es primordial el estudio de la patogenicidad de este género. Similar al sistema inmunitario en humanos, donde los neutrófilos emplean Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs, por sus siglas en inglés) para eliminar patógenos, en interacciones planta-hongo, células del borde del ápice de la raíz secretan ADN extracelular (exDNA, por sus siglas en inglés) que atrapa patógenos, evitando la infección en el sistema radicular. Por su parte, las nucleasas extracelulares fúngicas son factores de virulencia que degradan exDNA del hospedero y suprimen sus defensas. Por lo anterior, entender los mecanismos de secreción de nucleasas fúngicas es de interés para ofrecer mecanismos de control más efectivos e inocuos. Es sabido que el citoesqueleto de actina es parte de las rutas de secreción de enzimas fúngicas. En el presente estudio, se utilizó el modelo planta-hongo *Pisum sativum-Fusarium vanettenii* para investigar el efecto de compuestos despolimerizadores de actina, Latrunculina B (Lat B) y Citocalasina A (CA) en la secreción de nucleasas. Así, se evaluó el efecto de Lat B y CA sobre el desarrollo biológico, secreción enzimática y patogenicidad de *F. vanettenii*. Los resultados indicaron que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Inhibitoria Media (CIM) de Lat B redujo significativamente el crecimiento radial y tasa de elongación de la hifa de *F. vanettenii*, respectivamente. Por otro lado, la CMI de CA redujo el crecimiento radial, tasa de elongación de la hifa, y esporulación, y alteró la secreción de nucleasas y patogenicidad de *F. vanettenii*. Lo anterior sugiere que *F. vanettenii* podría utilizar rutas alternativas a los filamentos de actina para la secreción de nucleasas. Estos hallazgos, aportan a una mejor comprensión de los mecanismos de interacción de *F. vanettenii* con su hospedero, lo cual tiene relevancia en el desarrollo de estrategias potenciales para el manejo de la fusariosis.

**Palabras clave:** *Fusarium vanettenii*, *Pisum sativum*, DNasa, Latrunculina, Citocalasina

Abstract of the thesis presented by **Karla Joana Ramírez Bourgoïn** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Life Sciences

**Effect of actin-depolymerizing compounds on infectious diseases caused by *Fusarium vanettenii***

Abstract approved by:

Dr. Gilberto Curlango Rivera  
**Thesis Director**

Infectious diseases caused by the filamentous fungi *Fusarium* represent a significant threat to public health worldwide due to their impact on humans, the agricultural and livestock industries, and food contamination with mycotoxins. In this context, studying the pathogenicity of this genus is of critical importance. Similar to the human immune system, where neutrophils deploy Neutrophil Extracellular Traps (NETs) to eliminate pathogens, plant-fungus interactions involve the secretion of extracellular DNA (exDNA) by root border cells, which traps pathogens, protecting the root system from infection. As a counter-attack mechanism, fungal extracellular nucleases act as virulence factors, degrading host exDNA and suppressing its defenses. Therefore, understanding the mechanisms behind fungal nuclease secretion is essential for developing more effective and environmentally safe control strategies. The actin cytoskeleton is known to play a role in the secretion pathways of fungal enzymes. In the present study, the *Pisum sativum*–*Fusarium vanettenii* plant-fungus model was used to investigate the effect of actin-depolymerizing compounds, Latrunculin B (Lat B) and Cytochalasin A (CA), on nuclease secretion. The impact of Lat B and CA on the biological development, enzymatic secretion, and pathogenicity of *F. vanettenii* was evaluated. The results showed that Lat B significantly affected the fungal growth and hyphal elongation rate of *F. vanettenii* at minimum and intermediate inhibitory concentrations, respectively. At a minimum inhibitory concentration, CA affected the fungal growth, hyphal elongation rate, and sporulation, and altered both nuclease secretion and pathogenicity. These findings suggest that nuclease secretion in *F. vanettenii* may use alternative secretion pathways that bypass actin filaments. Altogether, this study contributes to a better understanding of the interaction mechanisms between *F. vanettenii* and its host, which is highly relevant for potential strategies to manage fusariosis.

**Keywords:** *Fusarium vanettenii*, *Pisum sativum*, DNase, Latrunculin, Cytochalasin

## Dedicatoria

*“El conocimiento es la semilla, y la perseverancia, el agua. Solo con dedicación y esfuerzo constante, lo que sembramos puede florecer en grandes logros.”*

A mi padre, por ser mi fuerza, mi ejemplo y mi refugio incondicional. Esta tesis también es tuya. A mis sobrinos, por ser mi todo, mi razón de ser, de vivir y de avanzar. A mi familia, por su constante aliento y paciencia. No solo por lo que hicieron, sino por ser mi base sólida en cada paso.

A mis amigos y colegas, en especial a: Andrés, Majo, Nava, Yael, Jorge, Oliver, Ulises, Darién, Marco, Alex, Noé, Andrea, Mariann, Christian y Yaneth, quienes fueron parte fundamental de este camino. Gracias por su apoyo, por las risas, y por estar allí cuando más lo necesité.

¡Gracias por todo!

## Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado, así como por el acceso a sus instalaciones y el apoyo financiero para llevar a cabo los experimentos necesarios para el desarrollo de esta tesis.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca que me permitió continuar con mi formación académica y científica, facilitando así la culminación de este proyecto.

Al Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada (LNMA)-CICESE, por el acceso a sus instalaciones y microscopios para los experimentos necesarios para el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Gilberto Curlango Rivera, por ser no solo un excelente director, sino una verdadera inspiración y guía en este proceso. Su dedicación incansable, su sabiduría y su apoyo constante fueron pilares fundamentales para la realización de esta tesis. No tengo palabras suficientes para agradecerle por todo lo que me ha enseñado, tanto en lo académico como en lo personal. Gracias por siempre estar dispuesto a ayudarme, por brindarme un espacio para crecer, por sus consejos, y por ser una figura esencial en cada paso de este viaje. Su orientación no solo me permitió superar los retos de esta investigación, sino que me ha dejado una huella imborrable en mi camino profesional y personal.

A la Dra. Olga Alicia Callejas Negrete, por su disposición y valiosas observaciones, las cuales fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo. Agradezco profundamente su apoyo durante la preparación experimental, así como la generosidad al brindarme su espacio de trabajo. Su amabilidad y constante disposición fueron esenciales para superar los desafíos que surgieron a lo largo del proceso.

A la Dra. Rosa Reyna Mouriño Pérez, por sus recomendaciones y consejos, que fueron clave para continuar avanzando en la realización de este proyecto. Su disposición marcó una diferencia significativa en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Fabiola Lafarga De La Cruz por aceptar ser parte de mi comité y por sus recomendaciones para el desarrollo de esta tesis. Gracias por ser una aliada constante en todo momento.

Al Dr. Diego L. Delgado Álvarez, por su invaluable apoyo, paciencia y asesoría durante el entrenamiento técnico en microscopía. Su participación ha sido un pilar fundamental para el desarrollo de este proyecto, y agradezco profundamente su amabilidad, disposición y la motivación transmitida en cada conversación.

A la Sra. Lolis y Don Rafa, por su apoyo constante, su amabilidad y por hacer que el proceso fuera aún más enriquecedor. Gracias por estar siempre dispuestos a ayudarme en todo momento, no solo en lo académico, sino también en lo personal.

## Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria .....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	x
Lista de tablas .....	xii
<b>Capítulo 1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1 Enfermedades infecciosas.....	1
1.2 Respuesta inmune contra enfermedades infecciosas .....	1
1.3 Neutrófilos en el sistema inmunitario.....	2
1.4 Trampas extracelulares de neutrófilos .....	3
1.5 Desoxirribonucleasa extracelular .....	3
1.6 Actina .....	4
1.7 Compuestos despolimerizadores de actina .....	5
1.8 Organismos modelo para estudios de interacción NETs-DNasa .....	6
1.9 <i>Fusarium</i> .....	8
1.10 <i>Fusarium vanettenii</i> .....	9
1.11 Justificación .....	11
1.12 Hipótesis.....	11
1.13 Objetivos .....	11
1.13.1 Objetivo general .....	11
1.13.2 Objetivos específicos.....	12
<b>Capítulo 2. Metodología.....</b>	<b>13</b>
2.1 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en el desarrollo biológico de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	13

2.1.1	Concentraciones mínimas inhibitoras de Latrunculina B y Citocalasina A en <i>Fusarium vanettenii</i> .....	13
2.1.2	Efecto de Latrunculina B y Citocalasina A en el desarrollo biológico de <i>Fusarium vanettenii</i>	13
2.2	Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la actividad enzimática extracelular de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	15
2.2.1	Ensayo cualitativo de la actividad de nucleasas extracelulares en <i>Fusarium vanettenii</i> ..	15
2.2.2	Ensayo cuantitativo de actividad de nucleasas extracelulares en <i>Fusarium vanettenii</i> ...	15
2.3	Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en <i>Pisum sativum</i> .....	16
2.3.1	Ensayo de patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en planta, sexto Día Posinoculación (DPI)	16
2.3.2	Ensayo de patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en planta, 14 DPI .....	17
2.4	Procesamiento de datos en FIJI (ImangeJ).....	18
2.5	Análisis estadístico .....	18
<b>Capítulo 3.</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>19</b>
3.1	Concentración mínima inhibitoria de compuestos despolimerizadores de actina en el crecimiento de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	19
3.1.1	Concentración mínima inhibitora de Latrunculina B.....	19
3.1.2	Concentración mínima inhibitoria de Citocalasina A .....	21
3.2	Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en el desarrollo biológico de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	23
3.2.1	Efecto de Latrunculina B en el desarrollo biológico de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	23
3.2.2	Efecto de Citocalasina A en el desarrollo biológico de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	24
3.3	Efectos de compuestos despolimerizadores de actina en la actividad enzimática de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	26
3.3.1	Efectos de Latrunculina B en la actividad enzimática de nucleasas de <i>Fusarium vanettenii</i>	26
3.3.2	Efecto de Citocalasina A en la actividad enzimática de nucleasas extracelulares de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	28
3.4	Efecto de Latrunculina B en la patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en planta, sexto DPI	30

3.4.1	Efecto de Latrunculina B en la patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en planta, sexto DPI	30
3.4.2	Efecto de Latrunculina B en la patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en planta, 14 DPI	32
3.4.3	Efecto de Citocalasina A en la patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en planta, sexto DPI	35
3.4.4	Efecto de Citocalasina en la patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en planta, 14 DPI ....	37
<b>Capítulo 4.</b>	<b>Discusión.....</b>	<b>40</b>
4.1	Concentración mínima inhibitoria de compuestos despolimerizadores de actina en el crecimiento de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	40
4.2	Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en el desarrollo biológico de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	41
4.3	Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la actividad enzimática de <i>Fusarium vanettenii</i> .....	43
4.4	Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la patogenicidad de <i>Fusarium vanettenii</i> en <i>Pisum sativum</i> .....	45
<b>Capítulo 5.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>47</b>
	<b>Literatura citada .....</b>	<b>48</b>
	<b>Anexos .....</b>	<b>57</b>

## Lista de figuras

Figura	Página
1 Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en el crecimiento de <i>F. vanettenii</i> , quinto DPI. A) Crecimiento in vitro de colonias de <i>F. vanettenii</i> bajo tratamientos con Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL). B) Gráfica de barras con promedio ± desviación estándar del crecimiento radial de <i>F. vanettenii</i> con tratamientos de Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05). .....	20
2 Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en el crecimiento de <i>F. vanettenii</i> , quinto DPI. A) Crecimiento in vitro de colonias de <i>F. vanettenii</i> bajo tratamientos con CA (5 y 20 µg/mL). B) Gráfica de barras con promedio ± desviación estándar del crecimiento radial de <i>F. vanettenii</i> con tratamientos de CA (5 y 20 µg/mL). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05). .....	22
3 Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en el desarrollo morfológico de hifas de <i>F. vanettenii</i> , 24 horas postratamiento. Microscopía confocal de barrido láser de hifas en A) tratamiento control, B) tratamiento con 0.02 µg/mL de LatB, y C) tratamiento con 0.1 µg/mL de Lat B. D) Gráfica de cajas de la tasa de elongación (µm/min) de hifas con tratamientos de Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL).....	23
4 Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media en el desarrollo morfológico hifas de <i>F. vanettenii</i> , 24 horas postratamiento. Microscopía confocal de barrido láser de hifas en A) tratamiento control, B) tratamiento con 5 µg/mL de CA, y C) tratamiento con 20 µg/mL de CA. D) Gráfica de cajas de la tasa de elongación (µm/min) de hifas con tratamientos de CA (5 y 20 µg/mL).....	25
5 Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la actividad enzimática de <i>F. vanettenii</i> , tercer DPT. A) tratamiento control, B) 0.02 µg/mL de Lat B, y C) 0.1 µg/mL de Lat B. Halo de degradación de ADN (flecha blanca). Límite de la colonia fúngica (flecha roja). .....	27
6 Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la secreción de nucleasas en <i>F. vanettenii</i> , 24 horas postratamiento. A) Difusión radial de nucleasas de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL). B) Gráfica de cajas del diámetro de degradación de nucleasas extracelulares de <i>F. vanattennii</i> con tratamiento de Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL). .....	28
7 Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la actividad enzimática de <i>F. vanettenii</i> , tercer DPT. A) tratamiento control, B) 5 µg/mL de CA, y C) 20 µg/mL de CA. Halo de degradación de ADN (flecha blanca).....	29
8 Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la secreción de nucleasas en <i>F. vanettenii</i> , 24 horas postratamiento. A) Difusión radial de nucleasas de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con CA (5 y 20 µg/mL). B) Gráfica de cajas del	

- diámetro de degradación de nucleasas extracelulares de *F. vanattennii* con tratamiento de CA (5 y 20 µg/mL). ..... 30
- 9 Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*; sexto día posinoculación. De izquierda a derecha: *P. sativum* + H<sub>2</sub>O; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.02 µg/mL); *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.1 µg/mL). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo). ..... 31
- 10 Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media en la infección de *F. vanettenii*, 14 días posinoculación. (A) Infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*. De izquierda a derecha: *P. sativum* + H<sub>2</sub>O; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.02 µg/mL); *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.1 µg/mL). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo). (B) Gráfica de barras de la longitud de la raíz principal de *P. sativum* con tratamientos de Lat B. .... 33
- 11 Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media en la infección de *F. vanettenii*, seis días posinoculación. (A) Infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*. De izquierda a derecha: *P. sativum* + H<sub>2</sub>O; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (5 µg/mL); *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (20 µg/mL). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo). (B) Gráfica de cajas de la severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* con tratamiento con CA ..... 36
- 12 Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, 14 días posinoculación. De izquierda a derecha: *P. sativum* + H<sub>2</sub>O; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (5 µg/mL); *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (20 µg/mL). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo). ..... 38

## Lista de tablas

Tabla	Página
1 Escala de severidad ordinal de los síntomas en <i>P. sativum</i> causadas por <i>F. vanettenii</i> . ....	17
2 Crecimiento radial de <i>F. vanettenii</i> bajo distintas concentraciones de Latrunculina B (Lat B), quinto día postratamiento. ....	19
3 Crecimiento radial de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, quinto día postratamiento. <sup>1</sup> .....	20
4 Crecimiento radial de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con distintas concentraciones de Citocalasina A (CA), quinto día postratamiento. ....	21
5 Crecimiento radial de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, quinto día postratamiento. <sup>1</sup> .....	21
6 Tasa de elongación y ancho de hifas de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, 24 horas postratamiento. <sup>1</sup> .....	24
7 Esporulación y germinación de conidios de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Latrunculina B (Lat B) <sup>1</sup> .....	24
8 Tasa de elongación y ancho de hifas de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, 24 horas postratamiento. <sup>1</sup> .....	25
9 Esporulación y germinación de conidios de <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Citocalasina (CA). <sup>1</sup> .....	26
10 Degradación de ADN por <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Latrunculina B (Lat B), 24 horas postratamiento. ....	27
11 Degradación de ADN por <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Citocalasina A (CA), 24 horas postratamiento. <sup>1</sup> .....	29
12 Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en <i>P. sativum</i> , causada por <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Latrunculina (Lat B), seis días posinoculación. ....	31
13 Severidad de los síntomas en <i>P. sativum</i> causados por <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con Latrunculina (Lat B), seis días posinoculación. ....	32
14 Desarrollo biológico de las plántulas de <i>P. sativum</i> en las pruebas de patogenicidad ante <i>F. vanettenii</i> en tratamiento con concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Latrunculina (Lat B), sexto día posinoculación. <sup>1</sup> .....	32

- 15 Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en *P. sativum*, causada por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina (Lat B), 14 días posinoculación. .... 34
- 16 Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina (Lat B), 14 días posinoculación..... 34
- 17 Desarrollo biológico de las plántulas de *P. sativum* en pruebas de patogenicidad con *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina (Lat B), 14 días posinoculación.<sup>1</sup> ..... 35
- 18 Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en *P. sativum*, causada por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina (CA), sexto día posinoculación. .... 36
- 19 Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, sexto día posinoculación. .... 37
- 20 Desarrollo biológico de las plántulas de *P. sativum* en las pruebas de patogenicidad ante *F. vanettenii* en tratamiento con concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Citocalasina (CA), sexto día posinoculación.<sup>1</sup>..... 37
- 21 Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en *P. sativum*, causada por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina (CA), 14 días posinoculación. .... 38
- 22 Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina (CA), 14 días posinoculación. .... 39
- 23 Desarrollo biológico de las plántulas de *P. sativum* en pruebas de patogenicidad ante *F. vanettenii* en tratamiento con concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Citocalasina (CA), 14 días posinoculación.<sup>1</sup>..... 39
- 24 Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina (Lat B), 14 días posinoculación. Síntomas visuales. .... 57
- 25 Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina (CA), 14 días posinoculación. Síntomas visuales..... 57

# Capítulo 1. Introducción

---

## 1.1 Enfermedades infecciosas

La enfermedad se define como una condición que afecta el funcionamiento normal de un sistema en un organismo, manifestándose con síntomas específicos. Esta condición es causada por la invasión y proliferación de agentes patógenos externos, como lo pueden ser bacterias, parásitos, virus y hongos. A diferencia de los daños intrínsecos, originados dentro del hospedero por características genéticas u otros factores internos que interfieren con los procesos normales del sistema, las enfermedades infecciosas surgen exclusivamente como resultado de la interacción entre el hospedero y agentes biológicos externos, causando síntomas específicos que reflejan el desequilibrio fisiológico y la respuesta del sistema inmunitario (World Health Organization; Tibayrenc, 2006; revisado en Upadhyay, 2020).

El sistema inmunitario del hospedero se encarga de combatir y eliminar a los agentes patógenos infecciosos, aunque en algunos casos no todos logran ser eliminados, resultando en una enfermedad infecciosa. También, algunos de los agentes infecciosos patógenos supuestamente eliminados, pueden resurgir después de un periodo de inactividad, adquiriendo características que les facilita reinfectar a su hospedero. Por ello, toda enfermedad infecciosa aparece en algún momento en una población, contexto o entorno determinado, convirtiéndose en una verdadera amenaza para la salud pública, y los episodios de estas enfermedades pueden generar graves efectos sociales, económicos y políticos (National Institutes of Health, 2007). Actualmente las enfermedades infecciosas son una de las principales causantes de morbilidad y mortalidad, por ejemplo, la enfermedad por COVID-19 llegó a representar más de 15 millones de muertes a nivel mundial para los años 2020 y 2021, por lo que, el combate a las enfermedades infecciosas sigue siendo una prioridad en el presente (United Nations, 2023).

## 1.2 Respuesta inmune contra enfermedades infecciosas

El sistema inmunitario, un conjunto altamente regulado y especializado de estructuras, tejidos, células y moléculas, tiene como objetivo proteger al organismo contra la invasión de patógenos y prevenir enfermedades. Se divide en el sistema innato, presente desde el nacimiento, y el sistema adaptativo, que se activa en respuesta al contacto con factores bióticos o abióticos. La primera línea de defensa contra

patógenos es la inmunidad innata, que se caracteriza por la rápida eliminación del microorganismo infeccioso. Entre los componentes del sistema inmunitario innato se encuentran neutrófilos, monocitos, macrófagos, células dendríticas, células Naturales Asesinas (NK, del inglés “Natural Killer”) y otras células fagocíticas.

Por otro lado, el sistema inmunitario adaptativo está conformado por células altamente especializadas como los linfocitos T (T citotóxicos y T colaboradores) y los linfocitos B, responsables de la producción de anticuerpos y del establecimiento de la memoria inmunitaria específica. Estos elementos trabajan en conjunto para identificar y neutralizar amenazas al organismo contribuyendo de manera efectiva a la respuesta inmunitaria (McKinney *et al.*, 2018; Janeway, 2002). Esta respuesta inmune utiliza Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRRs, por sus siglas en inglés) que identifican patrones moleculares conservados asociados a patógenos. La expresión de PRRs en diversas células del sistema inmunitario permite una respuesta coordinada, desencadenando la liberación de citocinas proinflamatorias, síntesis de citocinas quimiotácticas, fagocitosis y liberación de péptidos antimicrobianos (Litman *et al.*, 2007). Durante una infección, la activación de la memoria inmunitaria innata por los PRRs también induce la activación de factores hematopoyéticos en leucocitos innatos y progenitores de médula ósea, así como la liberación de citocinas (Revisado en Sherwood *et al.*, 2022).

### 1.3 Neutrófilos en el sistema inmunitario

Uno de los glóbulos blancos más abundantes son los neutrófilos, los cuales representan una de las principales células del sistema inmunitario innato y desempeñan un papel fundamental como ejecutores activos en la respuesta inflamatoria (Nicolás-Ávila *et al.*, 2017). La respuesta inflamatoria es una de las principales tácticas de acción contra patógenos infecciosos, elimina las amenazas de los agentes infecciosos, y ayuda a restaurar la homeostasis del sistema inmunitario acelerando el proceso de recuperación (Janeway & Medzhitov, 2002).

En la respuesta inflamatoria al inicio de la infección, las moléculas quimiotácticas liberadas de manera local atraen a los neutrófilos, que posteriormente migran a los tejidos infectados por medio del torrente sanguíneo, donde eliminan a los microorganismos patógenos mediante fagocitosis o liberando sustancias antimicrobianas como enzimas, proteínas granulares, oxidantes y Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NETs, por sus siglas en inglés) (Brinkman *et al.*, 2004; revisado en Borregaard, 2010; Ben-Smith *et al.*, 2001; Douda *et al.*, 2014; Metzler *et al.*, 2014).

## 1.4 Trampas extracelulares de neutrófilos

Las NETs, identificadas en 1996 como una forma de muerte celular distinta de la necrosis y la apoptosis, fueron descubiertas por Takei y colaboradores en un estudio que exploraba la relación entre la activación de los neutrófilos y su eliminación. Este proceso, denominado NETosis, implica cambios morfológicos únicos, como la fusión del núcleo multilobulado y la liberación de la cromatina en el citoplasma a través de la ruptura de la membrana nuclear (Takei *et al.*, 1996). Investigaciones posteriores profundizaron en la NETosis, destacando su función en la captura y eliminación de microorganismos durante infecciones, actuando como una barrera física y antimicrobiana (Brinkman *et al.*, 2004). La NETosis, generalmente vista como una forma de muerte celular, presenta una variante denominada "NETosis vital". En este proceso, los neutrófilos liberan NETs sin experimentar muerte celular, permitiéndoles seguir combatiendo patógenos de manera eficiente. Aunque aún no se comprende completamente, la NETosis vital se considera una respuesta más rápida y eficiente a las infecciones en comparación con la NETosis clásica, que implica la muerte del neutrófilo (Revisado en Yipp & Kubes, 2013).

El interés en las NETs se ha incrementado debido a su relevancia en las enfermedades infecciosas. Cuando se liberan, estas redes atrapan y eliminan bacterias, hongos, virus y protozoos, contribuyendo así al sistema inmunitario del organismo (Revisado en Gillot *et al.*, 2021). Por ejemplo, las NETs han demostrado prevenir la propagación de infecciones oculares (Mahajan *et al.* 2019). Aunque la formación de NETs es un mecanismo de defensa contra los microorganismos, algunas evidencias recientes sugieren que una producción excesiva de estas estructuras puede contribuir a lesiones pulmonares al provocar la muerte de células epiteliales, endoteliales y pulmonares, así como la formación de trombos intravasculares (Ondracek & Lang, 2021; revisado en Szturmowicz & Demkow, 2021).

## 1.5 Desoxirribonucleasa extracelular

El DNA extracelular desempeña un papel esencial en la defensa celular, y la expresión microbiana de una nucleasa extracelular (exDNasa) es un factor crítico en la capacidad de los microorganismos para causar enfermedades. Los microorganismos patógenos pueden secretar exDNasas para degradar el exDNA que forma parte de las NETs liberadas por los neutrófilos del hospedero durante la infección. Esto desactiva el mecanismo de defensa de las trampas extracelulares de DNA y facilita la diseminación del patógeno. Además, la secreción de exDNasas puede proteger al patógeno de los componentes antimicrobianos de las NETs, lo que aumenta su capacidad para causar daño y enfermedad en el hospedero, sin embargo,

estas funciones pueden ser inhibidas ante la presencia de actina, ya que esta proteína puede inhibir la actividad de las nucleasas (Brinkmann *et al.*, 2004; Lazarides & Lindberg, 1974).

En cuanto a los mecanismos de secreción, la ruta convencional de secreción de DNAsas, se ha estudiado en células pituitarias de rata y humano, en donde se ha observado que las enzimas se transportan desde el retículo endoplasmático hacia el aparato de Golgi y luego a la membrana celular a través de vesículas (Shimada *et al.*, 1998). Por otro lado, estudios recientes han identificado rutas de secreción alternativas en otros organismos como los hongos filamentosos, los cuales además de las rutas de secreción convencional, poseen mecanismos complejos para la secreción de moléculas. En especies fúngicas, se ha descrito la secreción basada en vesículas extracelulares, secreción mediada por lisosomas, así como rutas independientes del aparato de Golgi, que permiten la liberación de proteínas sin señales peptídicas clásicas. Estas rutas pueden activarse bajo condiciones de estrés o en respuesta a señales del hospedero (Revisado en Cairns *et al.*, 2021).

En particular, la actina desempeña un papel fundamental en la biogénesis, transporte y liberación de vesículas extracelulares en hongos y otros eucariotas. La polimerización de actina es esencial para la formación de vesículas en la membrana plasmática, el movimiento intracelular de vesículas a lo largo del citoesqueleto, y su posterior fusión con la membrana celular para liberar su contenido al microambiente extracelular (Revisado en Gurunathan *et al.*, 2019).

## 1.6 Actina

La actina es un componente estructural fundamental presente en todos los tipos de células. Esta proteína que forma parte del citoesqueleto y que existe en dos formas: la actina globular monomérica (G-actina) y la actina filamentosa (F-actina), desempeña un papel relevante en una amplia variedad de funciones celulares. Esto sugiere que la actina y las estructuras que la contienen tienen un amplio espectro de actividades dentro de las células como el transporte intracelular de organelos, vesículas, proteínas, enzimas y otras estructuras celulares (Lazarides & Lindberg, 1974). La polimerización de la actina ocurre en tres principales fases: nucleación, elongación y estado estacionario. En la primera fase se forma un núcleo estable de tres monómeros de actina. Posteriormente, los monómeros de actina se integran al extremo positivo del filamento, mientras que, en el extremo negativo, los monómeros tienen menor adición. Por último, en el estado estacionario se crea un equilibrio dinámico donde los monómeros se añaden (en el extremo positivo) y disocian (en ambos extremos) del filamento de forma constante

(Revisado en Pollard & Cooper, 1986). La actividad de la exDNasa puede ser negativamente regulada por la actina. Cuando la actina es liberada en el espacio extracelular como resultado de la rotura celular, el daño o la muerte celular, la G-actina interactúa con la exDNasa, lo que inhibe la capacidad de la nucleasa para descomponer el material genético (Chaponnier *et al.*, 1986; Eulitz & Mannherz, 2007; Lazarides & Lindberg, 1974). Por ejemplo, en pacientes que experimentaron una lesión térmica grave, se observó que estas lesiones alteraron el sistema de regulación de la actina, lo que condujo a un aumento en la producción de actina. Este incremento en la producción de actina resultó en la inhibición de la actividad degradadora de la exDNasa, lo cual provocó un aumento en la acumulación de exDNA, desencadenando una mayor respuesta inflamatoria en el tejido afectado (Dinsdale *et al.*, 2020).

## 1.7 Compuestos despolimerizadores de actina

La Latrunculina es un metabolito secundario derivado de esponjas marinas del género *Latrunculia*. Este compuesto se une a la G-actina, bloqueando su incorporación a los extremos en crecimiento de la F-actina, interfiriendo con la polimerización y reduciendo la estabilidad del citoesqueleto. Esta desestabilización afecta procesos celulares esenciales como la endocitosis, el tráfico vesicular y la morfogénesis celular (Coué *et al.*, 1987). Por otro lado, la Citocalasina proviene de una familia de alcaloides producidos por hongos de los géneros *Aspergillus* y *Metarhizium*. Se une a los extremos positivos de F-actina, impidiendo la adición de nuevas subunidades de G-actina y favoreciendo la despolimerización en el extremo negativo, lo que conduce al acortamiento de los filamentos. Como resultado, se alteran procesos dependientes de la actina como la endocitosis y el tráfico vesicular (Revisado en Cooper, 1987).

Ambos compuestos han sido ampliamente utilizados para estudiar la dinámica del citoesqueleto de actina en hongos filamentosos, particularmente en procesos como el crecimiento polarizado, la morfogénesis, la secreción y la patogénesis. En *Phytophthora infestans*, el tratamiento con 10 µg/mL de Lat B provocó un aumento en la ramificación y deformaciones en los ápices hifales (Zheng *et al.*, 2012). En *M. brunneum*, se evaluaron concentraciones entre 1 y 5 µg/mL de Lat B, observándose que 2.5 µg/mL causó alteraciones en la morfología de las hifas, ramificaciones apicales, aumentó el grosor de las hifas, la tasa de endocitosis, la organización de la pared celular, y efectos negativos en procesos intracelulares como la movilidad de peroxisomas y cuerpos lipídicos (Gasca-Venegas, 2023). De manera similar, en *Candida albicans*, la aplicación de 0.06 µg/mL de Latrunculina A inhibió la transición morfológica de levadura a hifa, lo cual comprometió su virulencia (Delgado *et al.*, 2014). En modelos como *Neurospora crassa*, *Botrytis cinerea* y *M. anisopliae*, la Lat B ha mostrado efectos citotóxicos e inhibitorios sobre el crecimiento en

concentraciones que oscilan entre 1 y 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Delgado *et al.*, 2010; Gasca-Venegas, 2023). Entre los efectos observados se encuentran la pérdida de polaridad, alteraciones morfológicas severas y defectos en la secreción, así como una disminución en la virulencia.

Por su parte, la CA ha sido asociada con hifas de morfología irregular, menor elongación, alteraciones nucleares y defectos en la secreción enzimática, como se ha observado en *A. nidulans*, donde el tratamiento con 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de Citocalasina provocó la acumulación de vesículas en los extremos de la hifa, así como interrupciones en la organización nuclear (Torralba *et al.*, 1998; Lin & Momany, 2004). En hongos fitopatógenos como *B. cinerea*, el uso de 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de CA inhibió la formación de apresorios y conidios, estructuras clave para el proceso infeccioso (Turrà *et al.*, 2015). De manera similar, en *Magnaporthe oryzae*, concentraciones de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de CA afectaron la formación de apresorios y la penetración en tejidos vegetales (Revisado en Tucker & Talbot, 2001). La CA ha sido utilizada en un rango de 10 a 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , provocando alteraciones como morfología irregular de las hifas, menor elongación, interrupciones en la organización nuclear y acumulación de vesículas, así como la inhibición de estructuras especializadas como conidios y apresorios, esenciales para la infección en hongos fitopatógenos. La sensibilidad diferencial entre especies podría deberse a variaciones en la organización del citoesqueleto de actina o en la activación de mecanismos compensatorios, como rutas de secreción alternativas o la reorganización dinámica del citoesqueleto (Turrà *et al.*, 2015; Berepiki *et al.*, 2010).

## 1.8 Organismos modelo para estudios de interacción NETs-DNasa

Además de estar presentes en mamíferos, las NETs también se encuentran en otros vertebrados como aves y peces, e incluso artrópodos y plantas. De igual manera, en estos organismos se libera exDNA que atrapa microorganismos patógenos, evitando su invasión, lo que sugiere que el exDNA es un mecanismo de defensa que se ha mantenido conservado durante la evolución (Revisado en Lui *et al.*, 2022).

En plantas, se ha observado un fenómeno similar de trampas de DNA extracelular en células del borde del ápice de la raíz (del inglés, "Root Border Cells") (Hawes *et al.*, 1998; revisado en Hawes *et al.*, 2011). De manera similar a la médula ósea, donde los mamíferos producen neutrófilos en respuesta a señales específicas, el ápice de la raíz está programado para generar un número determinado de células especializadas en dar protección al meristemo de la raíz, que controlan el crecimiento y desarrollo de las plantas (Brinkman *et al.*, 2004; Curlango *et al.*, 2014; Hawes *et al.*, 1998). De manera análoga a los neutrófilos, se ha demostrado que las células de la periferia del ápice de la raíz secretan trampas de exDNA

y proteínas que protegen los ápices de las raíces en crecimiento contra la invasión de patógenos fúngicos, bacterias o nematodos (Wen *et al.*, 2007). Cuando se elimina el exDNA con una nucleasa, la infección en el ápice de la raíz se lleva a cabo (Curlango *et al.*, 2014; Hawes *et al.*, 2017; Wen *et al.*, 2009).

Los patógenos de las plantas producen nucleasas extracelulares, cuyo papel en la desactivación de las trampas extracelulares es de interés, ya que podría explorarse su aplicación enfocada en la medicina (Curlango *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2019; Minh *et al.*, 2016). Las rutas de defensa en las plantas y los animales comparten numerosos elementos en común, es por esto que los metabolitos de las plantas han sido objeto de interés en la modulación de enfermedades humanas durante mucho tiempo, siendo el ácido salicílico y la aspirina ejemplos notables de éxito en su aplicación (Revisado en Liu *et al.*, 2022; Norn *et al.*, 2009).

Las células vegetales, con su capacidad para inducir respuestas de trampas extracelulares en cuestión de minutos, podrían proporcionar un sistema modelo conveniente para estudiar la interacción exDNA-exDNasa e identificar las señales que controlan la producción y liberación de exDNasa, así como para desentrañar los mecanismos detrás de la trampa extracelular en organismos eucariotas (Curlango *et al.*, 2010). En una revisión de 2017, Wen *et al.* visualizaron la liberación de exDNA al momento de la separación de las células del borde del ápice de la raíz de *P. sativum*, resaltando la importancia de este mecanismo en la interacción planta-patógeno. Se propuso que la exDNasa no solo degrada exDNA del hospedero, sino que también puede influir en la dinámica del microambiente extracelular, lo que potencialmente facilita la movilidad del hongo y su propagación en los tejidos infectados.

Por otro lado, diversos microorganismos patógenos han desarrollado mecanismos de evasión a las trampas extracelulares mediante la secreción de nucleasas, principalmente DNasas. En humanos, numerosas bacterias patógenas utilizan esta estrategia para degradar las NETs y facilitar la diseminación sistémica. Entre los ejemplos mejor estudiados se encuentran *Streptococcus pyogenes*, que produce varias DNasas extracelulares (Sumbly *et al.*, 2005); *Staphylococcus aureus*, que secreta la nucleasa Nuc; y *Pseudomonas aeruginosa*, que emplea su propia DNasa para descomponer NETs y escapar de la respuesta inmune (Mulcahy *et al.*, 2010; Berends *et al.*, 2010).

De igual manera, diversos protozoarios han sido reportados con la capacidad de secretar DNasas como herramienta de evasión al sistema inmunitario. Por ejemplo, *Entamoeba histolytica* secreta una DNasa que le permite evadir NETs (Guimarães-Costa *et al.*, 2014), y *Leishmania donovani* ha sido observada interactuando con NETs, probablemente degradándolas como parte de su estrategia de supervivencia (Gabriel *et al.*, 2010). Una revisión realizada por Brinkmann y Zychlinsky (2012) enlistó múltiples especies

bacterianas y protozoarias asociadas con enfermedades humanas que presentan mecanismos para evadir las NETs mediante la secreción de nucleasas. Esta recopilación refuerza el hecho de que las DNAsas representan un mecanismo ampliamente distribuido entre patógenos, aunque poco explorado en ciertos reinos como los hongos.

Se ha reportado que *C. albicans* es capaz de degradar NETs a través de la secreción de DNAsas, contribuyendo así a su virulencia y capacidad para formar biopelículas resistentes (Urban *et al.*, 2006; Duggan *et al.*, 2015). Entre los hongos filamentosos, se ha documentado que *A. fumigatus* secreta nucleasas que le permiten evadir el atrapamiento por NETs y facilitar la infección pulmonar (Bruns *et al.*, 2010; Urban *et al.*, 2009). Asimismo, se han descrito nucleasas extracelulares en *M. anisopliae*, un hongo entomopatógeno que infecta insectos degradando su exDNA (St. Leger *et al.*, 1996). También se ha observado que el género *Fusarium* secreta DNAsas como factores de virulencia durante la colonización de tejidos vegetales, degradando trampas de DNA liberadas por el hospedero (Hadwiger *et al.*, 1995; Park *et al.*, 2019).

## 1.9 *Fusarium*

El género *Fusarium* compone un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuido en el suelo y en diversas especies vegetales. Este conjunto de hongos pertenece a la familia *Nectriaceae* y se caracteriza por su capacidad de producir esporas asexuales denominadas macroconidios y microconidios, así como estructuras de resistencia conocidas como clamidosporas. *Fusarium* es reconocido por su adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales y su capacidad para colonizar una amplia gama de hospederos a nivel mundial (Revisado en Nelson *et al.*, 1994).

*Fusarium* ha sido reconocido como un patógeno de importancia agrícola, responsable de enfermedades devastadoras en numerosos cultivos. Algunas de las patologías más comunes incluyen el marchitamiento vascular, la pudrición de raíces en cereales y hortalizas, que generan pérdidas económicas significativas en la producción agrícola (Spolti *et al.*, 2014; revisado en Nelson *et al.*, 1994). Además, su capacidad de producir micotoxinas representa una problemática importante en la cadena alimentaria, ya que afecta la calidad y seguridad de los alimentos destinados al consumo humano (Miller *et al.*, 2001; Spolti *et al.*, 2014). En el sector pecuario, este hongo representa un problema significativo debido a la micotoxicosis en animales, la cual ocurre tras la ingesta de alimentos contaminados (Revisado en Desjardins & Proctor, 2007).

Asimismo, se ha identificado que las micotoxinas producidas por *Fusarium*, como las fumonisinas y los tricotecenos, pueden tener efectos tóxicos sobre ciertos artrópodos, especialmente en especies de importancia acuícola como el camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*). En la acuicultura, el uso de alimentos balanceados contaminados con estas micotoxinas puede afectar negativamente la salud y el rendimiento del cultivo de camarón. Estudios han demostrado que la exposición a dietas contaminadas con deoxinivalenol y fumonisinas puede provocar inmunosupresión, reducción en la tasa de crecimiento, alteraciones en el hepatopáncreas y aumento de la mortalidad en *P. vannamei* (Wiseman *et al.*, 1982; Trigo-Stockli *et al.*, 2000). Además, la presencia de *Fusarium* en ambientes acuícolas se ha asociado con lesiones cuticulares y anomalías externas en crustáceos, lo que resalta la importancia de controlar la contaminación fúngica en estos sistemas de producción (Lightner & Redman, 1976).

En las últimas décadas, *Fusarium* se ha identificado como un patógeno emergente de relevancia clínica, debido al aumento en la cantidad de casos en los que está involucrado, particularmente en individuos inmunosuprimidos. En estos pacientes la infección sistémica es una de las manifestaciones más frecuentes, representando hasta el 70% de los casos, con mayor incidencia en personas con leucemia aguda y neutropenia severa prolongada (Smith, 1993; Nucci & Anaissie, 2007; Neofytos *et al.*, 2009). Estas infecciones, conocidas como fusariosis, pueden presentarse de distintas formas, como lo es de manera superficial en queratitis y onicomycosis, o en casos con mayor tasa de mortalidad, evoluciona a cuadros sistémicos graves cuando el hongo ingresa al torrente sanguíneo (Revisado en Nelson *et al.*, 1994; Van Diepeningen *et al.*, 2015; Garcia *et al.*, 2015; Azor *et al.*, 2007). Entre las especies de *Fusarium* más detectadas en infecciones humanas, se encuentran *F. solani*, *F. oxysporum*, y *F. verticillioides* (Revisado en Al-Hatmi *et al.*, 2016). La dificultad de tratamiento radica en su resistencia inherente a múltiples antifúngicos, lo que limita las opciones terapéuticas disponibles (Revisado en Zhao *et al.*, 2021; Azor *et al.*, 2017).

### **1.10 *Fusarium vanettenii***

El hongo filamentoso *F. vanettenii*, anteriormente conocido por su fase sexual *Nectria haematococca* (grupo de apareamiento VI) o asexual *F. solani* f. sp. *pisi* (Geiser *et al.*, 2021; O'Donnell *et al.*, 2020), es un fitopatógeno presente en el suelo (Revisado en Nelson *et al.*, 1994). Este hongo infecta las plantas mediante la emisión de un tubo germinativo, el cual penetra los tejidos de las raíces y coloniza los vasos del xilema a través de la formación de apresorios y la secreción de enzimas degradadoras de la pared celular, obstruyendo el flujo de agua y nutrientes hacia otros órganos de la planta (Ortíz *et al.*, 2014;

Castaño-Zapata, 2015). Durante el proceso de transpiración, *F. vanettenii* asciende fácilmente a través de los haces vasculares. Con el tiempo, la planta responde cerrando estomas, las hojas pierden turgencia, se marchitan y desprenden, llevando a la eventual muerte de la planta (Ortíz & Hoyos, 2012). Posteriormente, el hongo invade todos los tejidos de la planta fallecida y comienza a esporular. *F. venettinii* se ha convertido en un valioso modelo de estudio en diversas disciplinas científicas debido a su versatilidad y aplicaciones potenciales. En la fitopatología, se utiliza para investigar interacciones planta-hongo, permitiendo una mejor comprensión de las estrategias de infección y las respuestas de las plantas a las enfermedades (Castaño-Zapata, 2009).

En 1995, Hadwiger y colaboradores, realizaron las primeras investigaciones detalladas sobre una nucleasa producida por *F. solani* f. sp. *phaseolicola*. Encontraron que esta enzima no solo degradaba exDNA, sino que también funcionaba como estimulador en plantas como *P. sativum*, donde la interacción entre las exDNAsas y células vegetales desencadenan respuestas de defensa. En 2010, Wen y colaboradores sugirieron la participación de exDNAsas de *F. vanettenii* en la eliminación de mecanismos de defensa basados en trampas de exDNA en *P. sativum*. La secreción de las exDNAsas de *F. venettenii*, no solo favorece su adaptación al entorno vegetal, sino que también activan mecanismos de defensa en la planta, generando un equilibrio dinámico entre la infección y la resistencia (Revisado en Hadwiger, 2015). En 2019, Park y colaboradores aportaron evidencia adicional sobre el papel de las exDNAsas en la patogenicidad de hongos fitopatógenos al estudiar *Cochliobolus heterostrophus*, un patógeno de maíz (*Zea mays*). En su estudio, demostraron que la nucleasa Nuc1 producida por este hongo es un factor de virulencia, ya que al comparar la cepa silvestre con un mutante isogénico con eliminación del gen que codifica Nuc1, observaron una reducción significativa en la capacidad del hongo para infectar a su hospedero. Además, proporcionaron evidencia de que Nuc1 tiene actividad enzimática, siendo responsable de la degradación del exDNA. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que el equilibrio entre exDNA y exDNAsas es una estrategia utilizada tanto por animales y plantas hospederos, como por sus patógenos en una dinámica de defensa y contraataque (Park *et al.*, 2019).

Debido a la versatilidad como patógeno en distintos organismos, el género *Fusarium* ha sido utilizado como modelo de estudio en diversas investigaciones. *F. vanettenii* es uno de los miembros más estudiados del complejo de especies *F. solani* y fue el primero en tener su genoma secuenciado, lo que ha facilitado estudios genéticos y moleculares detallados. Además, su capacidad de infección tanto en plantas como humanos, lo convierte en un modelo multihospedero ideal para investigar mecanismos de patogenicidad y estrategias de control biológico (Zhang *et al.*, 2006; revisado en Coleman *et al.*, 2009; revisado en Coleman, 2016).

## 1.11 Justificación

Las enfermedades infecciosas representan un desafío global tanto en la salud pública como en la producción agropecuaria, lo que hace esencial la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes para el desarrollo de estrategias terapéuticas más eficaces. Entre estos mecanismos, la respuesta inmune juega un papel crucial, destacando la formación de trampas de exDNA y la función de enzimas que lo degradan, procesos clave en la interacción patógeno-hospedero. La actina, un componente esencial del citoesqueleto celular, participa en múltiples funciones biológicas, por ejemplo, en su forma polimerizada (F-actina) actúa como una red estructural dinámica que facilita el transporte intracelular de proteínas y la secreción de enzimas. Sin embargo, la relación entre nucleasas y la F-actina no ha sido ampliamente estudiada, lo que actualmente representa una brecha de conocimiento. Compuestos despolimerizadores de actina como la Latrunculina y Citocalasina se han empleado en ensayos *in vitro* para estudiar las funciones de la actina en hongos filamentosos. Por ello, se planteó utilizar estos compuestos despolimerizadores para estudiar su efecto en la secreción de nucleasas y patogenicidad en la interacción *P. sativum*-*F. vanettenii*. Los conocimientos generados no solo amplían la comprensión de los mecanismos de secreción de nucleasas en microorganismos patógenos fúngicos, sino que también podrían aplicarse a otros hospederos modelos en planta (*Medicago truncatula* o *Arabidopsis thaliana*) o animales (acuáticos o mamíferos), lo cual abriría nuevas vías para el diseño de estrategias innovadoras en el control de enfermedades infecciosas en los ámbitos agropecuario y médico.

## 1.12 Hipótesis

La exposición de *F. vanettenii* a Latrunculina B o Citocalasina A, modificará su interacción con *P. sativum*, a través de alteraciones en su desarrollo, secreción de nucleasas y patogenicidad.

## 1.13 Objetivos

### 1.13.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de Latrunculina y Citocalasina en el desarrollo biológico de *F. vanettenii* y su impacto en la interacción con planta.

### 1.13.2 Objetivos específicos

1. Establecer las concentraciones mínimas de estrés por Latrunculina y Citocalasina en el desarrollo biológico de *F. vanettenii*.
2. Determinar actividad enzimática de nucleasas extracelulares en *F. vanettenii* bajo condiciones de estrés por Latrunculina y Citocalasina.
3. Estudiar la patogenicidad de *F. vanettenii* bajo condiciones de estrés por Latrunculina y Citocalasina.

## Capítulo 2. Metodología

---

### 2.1 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en el desarrollo biológico de *Fusarium vanettenii*

#### 2.1.1 Concentraciones mínimas inhibidoras de Latrunculina B y Citocalasina A en *Fusarium vanettenii*

Para determinar las concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Lat B en el desarrollo del hongo *F. vanettenii*, se realizaron ensayos modificados de Gasca-Venegas (2023). Para ello, se prepararon cajas Petri de 60 x 15 mm con 5 mL de medio Agar de Dextrosa de Papa (PDA, por sus siglas en inglés) con concentraciones específicas de 0.00001, 0.0001, 0.001, 0.005, 0.008, 0.01, 0.02, 0.1, 0.5, y 1 µg/mL, donde se colocaron inóculos de *F. vanettenii* colectados con sacabocados. Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad durante cinco días, y se realizaron mediciones del diámetro de las colonias cada 24 h. El ensayo se llevó a cabo por triplicado, incluyendo un control negativo sin Lat B, y se obtuvieron un total de nueve réplicas (n=9) en tres experimentos independientes.

Para determinar las concentraciones mínimas y media inhibitoria de CA, se llevó a cabo la metodología anterior utilizando CA en concentraciones de 0.1, 0.5, 1, 3, 5, 10 y 20 µg/mL.

#### 2.1.2 Efecto de Latrunculina B y Citocalasina A en el desarrollo biológico de *Fusarium vanettenii*

Se inocularon 5,000 esporas/mL de *F. vanettenii* en una caja Petri de 90 x 15 mm con 10 mL de medio PDA, con concentraciones de 0.02 y 0.1 µg/mL de Lat B, las cuales se incubaron por 24 horas a temperatura ambiente y oscuridad. Para la observación de las muestras se empleó microscopía confocal de barrido láser utilizando el equipo Olympus FluoView™ FV1000 (Olympus, Japón) del Laboratorio Nacional de Microscopia Avanzada (LNMA) de CICESE. Se llevó a cabo la técnica de agar invertido, descrita por Hickey *et al.* (2004), que consiste en voltear el medio sólido una vez solidificado, para exponer la cara originalmente en contacto con la base de la placa, permitiendo evaluar la tasa de elongación y la

interacción del hongo en una superficie menos expuesta al aire, esto para facilitar la manipulación y visualización. Las imágenes fueron capturadas en dos canales simultáneamente: uno con luz fluorescente, con excitación a 488 nm y emisión a 520 nm, y otro en modo de luz transmitida para obtener imágenes mediante Contraste de Interferencia Diferencial (DIC, por sus siglas en inglés).

Para la captura de imágenes, se utilizó un objetivo de inmersión en aceite 60X Plan-Apocromático con una apertura numérica de 1.42. A partir de los videos obtenidos, se determinó la tasa de crecimiento de la hifa del hongo en  $\mu\text{m}/\text{min}$  y se midió el ancho de las hifas a una distancia de 5  $\mu\text{m}$  del ápice de la hifa. El experimento se realizó por triplicado, incluyendo un control negativo sin Lat B, y se analizaron un total de treinta hifas ( $n=30$ ) para la tasa de elongación y cincuenta hifas ( $n=50$ ) para medición de ancho de la hifa, en seis experimentos independientes.

Para determinar el efecto de CA en el desarrollo de *F. vanettenii* se llevó a cabo la metodología anterior, utilizando CA en concentraciones de 5 y 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Como parte de la evaluación del desarrollo biológico, se analizó el efecto de Lat B en la biología reproductiva del hongo. Para ello se evaluó la producción y viabilidad de esporas producidas por *F. vanettenii* bajo condiciones de estrés por Lat B. Para determinar la producción de esporas se colocaron discos de inóculos de *F. vanettenii* (obtenidos con sacabocados) en cajas Petri de 35 x 10 mm con 2 mL de medio PDA con Lat B a concentraciones de 0.02 y 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , además de utilizar un control sin Lat B. Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente y bajo oscuridad durante cuatro días. Al cuarto día se colectaron las esporas de los cultivos de *F. vanettenii* bajo los diferentes tratamientos y se determinó su concentración. Para determinar la viabilidad de las esporas, se realizó un ensayo de germinación a una concentración de 5,000 esporas/mL, las cuales se incubaron en medio Caldo de Dextrosa de Papa (PDB, por sus siglas en inglés) por 3 h y 30 min a temperatura ambiente y en oscuridad. Pasado el tiempo de incubación se realizó un conteo de esporas para determinar el porcentaje de germinación. El ensayo se llevó a cabo por triplicado, y se analizaron 3 replicas ( $n=3$ ) para esporulación y nueve ( $n=9$ ) para germinación, en tres experimentos independientes.

Para determinar el efecto de CA en la biología reproductiva de *F. vanettenii*, se llevó a cabo la metodología anterior utilizando CA en concentraciones de 5 y 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

## 2.2 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la actividad enzimática extracelular de *Fusarium vanettenii*

### 2.2.1 Ensayo cualitativo de la actividad de nucleasas extracelulares en *Fusarium vanettenii*

Con la concentración mínima y media inhibitoria de Lat B establecida para *F. vanettenii*, se realizaron pruebas bioquímicas cualitativas in vitro para detectar la actividad enzimática de la especie fúngica bajo condiciones de estrés. Para ello, se realizó un ensayo preliminar en cajas de Petri de 60 x 15 mm con 5 mL de medio Agar-ADN con concentraciones específicas de Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL), donde se colocaron inóculos de *F. vanettenii* colectados con sacabocados. Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad durante cuatro días. Posteriormente se adicionó ácido clorhídrico (HCl) para la visualización de la degradación del ADN del medio por parte de la nucleasa secretada por el hongo.

Para determinar el efecto de la CA en la actividad enzimática de nucleasas extracelulares de *F. vanettenii* se llevó a cabo la metodología anterior, utilizando CA en concentraciones de 5 y 20 µg/mL.

### 2.2.2 Ensayo cuantitativo de actividad de nucleasas extracelulares en *Fusarium vanettenii*

Con la concentración mínima y media inhibitoria de Lat B establecida para *F. vanettenii*, se realizaron pruebas bioquímicas cuantitativas in vitro para detectar la actividad enzimática de la especie fúngica bajo condiciones de estrés. Para ello, se prepararon cajas Petri de 35 x 10 mm con 2 mL de medio PDA con concentraciones específicas de Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL), donde se colocaron inóculos de *F. vanettenii* colectados con sacabocados. Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad durante cuatro días. Después del tiempo de incubación se colectaron las esporas de los cultivos de *F. vanettenii* bajo los diferentes tratamientos y se determinó su concentración. Se preparó un gel de agarosa con ADN basado en la metodología de Takeshita *et al.* (2004). Para la preparación del gel, se mezclaron 20 mL de buffer del buffer de reacción (2.133 g de MES [ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico, Sigma], 0.407 g de MgCl<sub>2</sub>, 0.029 g de CaCl<sub>2</sub>, pH 6.5, aforado a 100 mL con agua destilada) con 500 µL de ADN de esperma de salmón diluido al 0.01% (p/v). Paralelamente, se preparó una solución de agarosa al 2% disolviendo 0.4 g

de agarosa en 20 mL de agua destilada, calentándola en microondas para su completa disolución. Ambas soluciones se combinaron y se vertieron en cajas de Petri de 90 x 15 mm para formar un gel, el cual se dejó solidificar a temperatura ambiente. Posteriormente, en pozos cilíndricos en el gel se depositaron 5  $\mu$ L de muestra de los siguientes tratamientos: DNasa I como control positivo (Worthington), H<sub>2</sub>O libre de DNasas como control negativo, esporas de *F. vanettenii* con tratamiento de Lat B en las concentraciones 0.02 y 0.1  $\mu$ g/mL, y esporas de *F. vanettenii* sin tratamiento de Lat B. El ensayo se llevó a cabo a temperatura ambiente y en oscuridad por 24 horas. Para la visualización de la actividad enzimática, se añadió SYBR Green (Invitrogen) con buffer de tinción (0.680 g de NaAc [Sigma], 2 mL de EDTA 0.5M, pH 5.0, aforado a 100 mL con agua destilada) en una dilución 1:10,000. Luego de 15 minutos de incubación, se observó bajo luz UV y se midió el radio del halo de degradación del ADN. El ensayo se llevó a cabo por triplicado incluyendo un control negativo sin Lat B y se obtuvieron un total de seis réplicas (n=6) en dos experimentos independientes.

Para determinar el efecto de CA en la actividad enzimática de nucleasas extracelulares de *F. vanettenii* se llevó a cabo la metodología anterior, utilizando CA en concentraciones de 5 y 20  $\mu$ g/mL.

## **2.3 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en *Pisum sativum***

### **2.3.1 Ensayo de patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en planta, sexto Día Posinoculación (DPI)**

Se llevaron a cabo pruebas de patogenicidad para evaluar el efecto de Lat B o CA en la patogenicidad de *F. vanettenii* en plántulas de leguminosas (*P. sativum*). En este proceso, las semillas de estas plantas se desinfectaron superficialmente y germinaron en condiciones de laboratorio a temperatura ambiente durante 48 horas, siguiendo lo descrito por Gunawardena *et al.*, (2002). Posteriormente, de acuerdo a la metodología descrita en Curlango-Rivera *et al.* (2013), se seleccionaron plántulas sanas de 25 mm de longitud y se trasplantaron a sistemas hidropónicos modelo, con riego utilizando agua destilada estéril y mantenidos a temperatura ambiente en un entorno de laboratorio. Se realizaron cuatro tratamientos de la siguiente manera: las plántulas de *P. sativum* se inocularon con una suspensión de 500,000 esporas colectadas de un cultivo previo de cuatro días del hongo patógeno *F. vanettenii* en medio PDA con tratamientos de Lat B (0.02 y 0.1  $\mu$ g/mL). Adicionalmente, se inocularon plántulas con *F. vanettenii* sin

tratamiento de Lat B y plántulas inoculadas solo con agua destilada estéril. El ensayo se llevó a cabo por triplicado y se obtuvieron un total de 12 réplicas (n=12) en tres experimentos independientes.

Para evaluar los síntomas de pudrición de raíz en las plántulas, al sexto DPI se tomaron fotografías de las plántulas con una cámara marca CANON EOS REBEL T6. Las imágenes se procesaron con el programa FIJI (Image J versión 1.54) de acuerdo con lo descrito en la sección 2.4 y basándose en la escala de severidad ordinal modificada de Gunawardena & Hawes, 2002 (Tabla 1).

**Tabla 1.** Escala de severidad ordinal de los síntomas en *P. sativum* causadas por *F. vanettenii*.

Grado de severidad	Síntoma	Coloración de la raíz
0	Sin síntoma	Blanca
1	Leve	Amarilla
2	Moderado	Café claro
3	Fuerte	Café oscuro
4	Severo	Negro

Para evaluar el desarrollo biológico de las plántulas de *P. sativum*, se desmontó el experimento y se tomaron las medidas de la altura foliar, número de nudos, longitud total de la planta, peso seco total, foliar y del sistema radicular, longitud de la raíz principal, longitud y número de las raíces laterales.

Para determinar el efecto de CA en la patogenicidad de *F. vanettenii* se llevó a cabo la metodología anterior, utilizando CA en concentraciones de 5 y 20 µg/mL.

### 2.3.2 Ensayo de patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en planta, 14 DPI

Siguiendo la metodología para las pruebas de patogenicidad descrita en la sección anterior (2.3.1), se evaluó el efecto de Lat B (0.02 y 0.1 µg /mL) al 14 DPI. El ensayo se llevó a cabo por triplicado y se obtuvieron un total de 18 réplicas (n=18) en tres experimentos independientes. Al 14 DPI se evaluaron los síntomas de pudrición de raíz en las plántulas de acuerdo con lo descrito en la sección 2.3.1 y adicionalmente se realizó una evaluación visual basada en la escala ordinal de la tabla 1. Se desmontó el experimento para determinar el desarrollo biológico de las plántulas siguiendo lo descrito en la sección 2.3.1.

Para determinar el efecto de CA en la patogenicidad de *F. vanettenii* a 14 DPI, se llevó a cabo la metodología anterior, utilizando CA en concentraciones de 5 y 20 µg/mL.

## 2.4 Procesamiento de datos en FIJI (ImageJ)

El procesamiento de imágenes se realizó utilizando el software Fiji (ImageJ). Para cada imagen analizada, se seleccionó una región de interés (RI) de la radícula de 90 × 20 píxeles, asegurando la consistencia en todas las mediciones. Posteriormente, para cada experimento se obtuvo la intensidad de grises dentro de la región seleccionada, expresada en valores de escala de 0 (negro) a 260 (blanco). Los valores de intensidad obtenidos para cada imagen fueron registrados y utilizados para determinar el rango de variación dentro del conjunto de datos. Se identificaron los valores mínimos y máximos con el fin de establecer una escala métrica de clasificación basada en la escala ordinal modificada de Gunawardena & Hawes (2002) (Tabla 1). Según esta escala, a cada intervalo de valores se le asignó una puntuación de 0 a 4, permitiendo la categorización de los datos de acuerdo con la intensidad de grises.

## 2.5 Análisis estadístico

Se llevó a cabo un análisis de normalidad de la distribución de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y una evaluación de la igualdad de varianzas utilizando la prueba de Levene. Para detectar diferencias significativas entre tres o más tratamientos, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para identificar qué tratamientos mostraron diferencias entre sí. En los datos que no cumplieron con los supuestos de normalidad, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y en caso de encontrar diferencias estadísticas significativas, se aplicó la prueba de Bonferroni para determinar qué grupos presentaban diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software *IBM SPSS Statistics 25*.

## Capítulo 3. Resultados

### 3.1 Concentración mínima inhibitoria de compuestos despolimerizadores de actina en el crecimiento de *Fusarium vanettenii*

#### 3.1.1 Concentración mínima inhibidora de Latrunculina B

Se llevó a cabo una serie de experimentos preliminares para determinar la CMI y CIM de Lat B en el crecimiento del hongo *F. vanettenii* al quinto Día Postratamiento (DPT) (Tabla 2). De estos resultados se seleccionó la concentración 0.02 µg/mL y 0.1 µg/mL de Lat B, ya que mostraron una inhibición consistente del crecimiento radial fúngico en las repeticiones de los experimentos. Además, se tomó en cuenta utilizar la menor cantidad de Lat B para los ensayos. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico con los resultados de crecimiento bajo las concentraciones de Lat B seleccionadas. Se visualizó una reducción del crecimiento del 12 % para Lat B (0.02 µg/mL) y 49 % para Lat B (0.1 µg/mL) en comparación con el tratamiento control; además, se observó una morfología colonial irregular en *F. vanettenni* con Lat B (0.1 µg/mL) (Figura 1A). La evaluación reveló que las concentraciones 0.02 y 0.1 µg/mL redujeron significativamente ( $P < 0.05$ ) el crecimiento del hongo respecto al tratamiento control (Figura 1B; Tabla 3). Basados en estos resultados, se estableció 0.02 µg/mL de Lat B como CIM y 0.1 µg/mL de Lat B como CMI.

**Tabla 2.** Crecimiento radial de *F. vanettenii* bajo distintas concentraciones de Latrunculina B (Lat B), quinto día postratamiento.

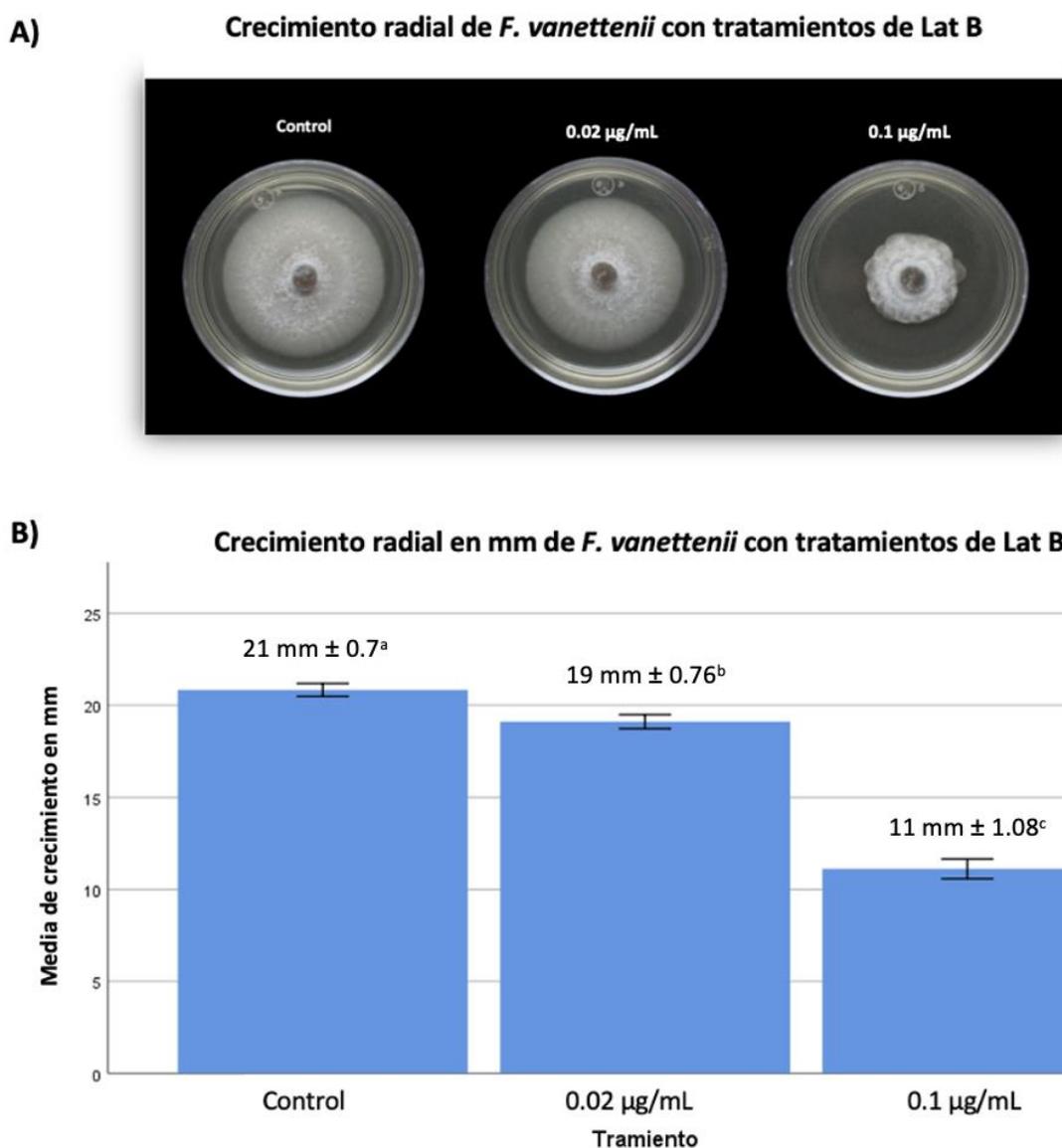
Lat B (µg/mL)	Crecimiento (mm) <sup>1</sup>	Inhibición (%) <sup>2</sup>	Repeticiones
0	21 ± 0.69	0	7
0.00001	20.8 ± 0.05	0	2
0.0001	21.2 ± 0.05	0	2
0.001	21.1 ± 0.1	0	2
0.005	19.7 ± 0.15	1.44	1
0.008	20.5 ± 0.08	1.44	2
0.01	20.1 ± 0.29	3	4
0.02	19 ± 0.77	12	3
0.1	11 ± 1.04	49	3
0.5	10.5 ± 0.09	53	3
1	11.5 ± 0.05	42	1

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio ± desviación estándar por tratamiento ( $n \leq 1$ ). <sup>2</sup>Los valores representan el promedio por tratamiento ( $n \leq 1$ ).

**Tabla 3.** Crecimiento radial de *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, quinto día postratamiento.<sup>1</sup>

Lat B ( $\mu\text{g/mL}$ )	Crecimiento(mm)
0	$21 \pm 0.7^a$
0.02	$19 \pm 0.76^b$
0.1	$11 \pm 1.08^c$

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio  $\pm$  desviación estándar por tratamiento (n=3). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).



**Figura 1.** Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en el crecimiento de *F. vanettenii*, quinto DPI. A) Crecimiento in vitro de colonias de *F. vanettenii* bajo tratamientos con Lat B (0.02 y 0.1  $\mu\text{g/mL}$ ). B) Gráfica de barras con promedio  $\pm$  desviación estándar del crecimiento radial de *F. vanettenii* con tratamientos de Lat B (0.02 y 0.1  $\mu\text{g/mL}$ ). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

### 3.1.2 Concentración mínima inhibitoria de Citocalasina A

Se llevó a cabo una serie de experimentos preliminares para determinar la CMI y CIM de CA del crecimiento del hongo *F. vanettenii* al quinto DPT (Tabla 4). De estos resultados se seleccionó la concentración 5 µg/mL y 20 µg/mL de CA, ya que mostraron una inhibición consistente del crecimiento radial fúngico en las repeticiones de los experimentos. Además, se tomó en cuenta utilizar la menor cantidad de Lat B para los ensayos. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico con los resultados de crecimiento bajo las concentraciones de Lat B seleccionadas. Se visualizó una reducción del crecimiento del 10 % para CA (5 µg/mL) y 40 % para CA (20 µg/mL) en comparación con el tratamiento control; no se observaron cambios en la morfología colonial en *F. vanettenii* con CA (Figura 2A). La evaluación reveló que las concentraciones 5 y 20 µg/mL redujeron significativamente ( $P < 0.05$ ) el crecimiento del hongo respecto al tratamiento control (Figura 2B; Tabla 3). Basados en estos resultados, se estableció 5 µg/mL de CA como CIM y 20 µg/mL de CA como CMI.

**Tabla 4.** Crecimiento radial de *F. vanettenii* en tratamiento con distintas concentraciones de Citocalasina A (CA), quinto día postratamiento.

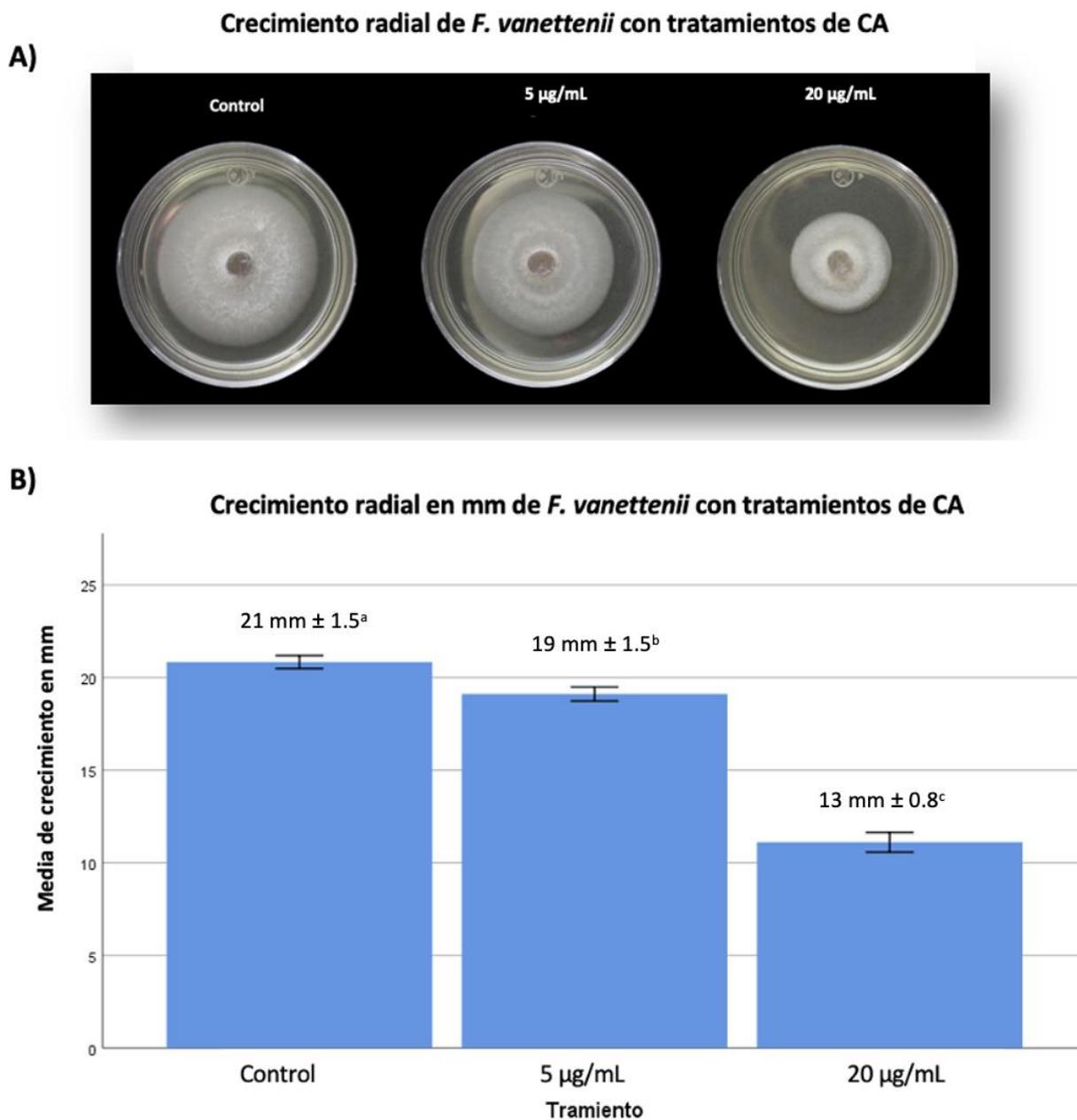
CA (µg/mL)	Crecimiento (mm) <sup>1</sup>	Inhibición (%) <sup>2</sup>	Repeticiones
0	21.67 ± 0.13	0	6
0.1	20 ± 0.05	7.71	2
0.5	20 ± 0.04	7.71	3
1	25 ± 0.19	0	2
3	22 ± 0.13	0	2
5	19.5 ± 0.04	10	3
10	18 ± 0.11	17	2
20	13 ± 0.74	40	3

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio ± desviación estándar por tratamiento ( $n \leq 2$ ). <sup>2</sup>Los valores representan el promedio por tratamiento ( $n \leq 2$ ).

**Tabla 5.** Crecimiento radial de *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, quinto día postratamiento<sup>1</sup>

CA (µg/mL)	Crecimiento (mm)
0	21 ± 1.5 <sup>a</sup>
5	19 ± 1.5 <sup>b</sup>
20	13 ± 0.8 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios ± desviación estándar por tratamiento ( $n=3$ ). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

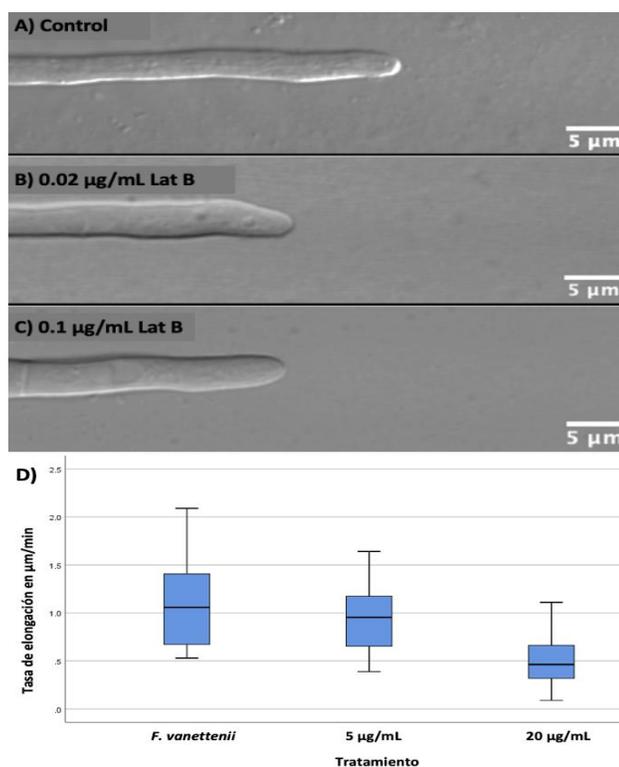


**Figura 2.** Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en el crecimiento de *F. vanettenii*, quinto DPI. A) Crecimiento in vitro de colonias de *F. vanettenii* bajo tratamientos con CA (5 y 20 µg/mL). B) Gráfica de barras con promedio  $\pm$  desviación estándar del crecimiento radial de *F. vanettenii* con tratamientos de CA (5 y 20 µg/mL). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

## 3.2 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en el desarrollo biológico de *Fusarium vanettenii*

### 3.2.1 Efecto de Latrunculina B en el desarrollo biológico de *Fusarium vanettenii*

A partir de los videos obtenidos por microscopía confocal de barrido láser, se calculó la tasa de elongación del hongo ( $\mu\text{m}/\text{s}$ ) y se midió el ancho de las hifas a una distancia de  $5 \mu\text{m}$  del ápice, a 24 Horas Postratamiento (HPT). Los resultados indicaron que a medida que aumentó la concentración de Lat B, disminuyó consigo la tasa de elongación. El tratamiento control (*F. vanettenii* sin tratamiento de Lat B), reveló una tasa de elongación de la hifa de  $1.1 \pm 0.46 \mu\text{m}/\text{min}$ . Para la CMI, la elongación de la hifa fue de  $0.96 \pm 0.33 \mu\text{m}/\text{min}$  y para la CIM fue de  $0.54 \pm 0.30 \mu\text{m}/\text{min}$  (Figura 3D). La diferencia entre los tratamientos fue estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ) (Tabla 6). En el caso del ancho de las hifas (Figura 3A-C), los resultados indicaron que no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95% (Tabla 6).



**Figura 3.** Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en el desarrollo morfológico de hifas de *F. vanettenii*, 24 horas postratamiento. Microscopía confocal de barrido láser de hifas en A) tratamiento control, B) tratamiento con  $0.02 \mu\text{g}/\text{mL}$  de LatB, y C) tratamiento con  $0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$  de Lat B. D) Gráfica de cajas de la tasa de elongación ( $\mu\text{m}/\text{min}$ ) de hifas con tratamientos de Lat B ( $0.02$  y  $0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ).

**Tabla 6.** Tasa de elongación y ancho de hifas de *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, 24 horas postratamiento.<sup>1</sup>

Lat B ( $\mu\text{g/mL}$ )	Tasa elongación ( $\mu\text{m/min}$ ) <sup>2</sup>	Ancho de hifa ( $\mu\text{m}$ ) <sup>3</sup>
0	$1.1 \pm 0.46^a$	$3.4 \pm 1^a$
0.02	$0.96 \pm 0.33^a$	$3.4 \pm 1^a$
0.1	$0.54 \pm 0.3^b$	$3.3 \pm 1^a$

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio  $\pm$  desviación estándar por tratamiento (<sup>2</sup>n=30; <sup>3</sup>n=50). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

Respecto al efecto de CMI y CIM de Lat B en la biología reproductiva (esporulación y germinación) de *F. vanettenii*, no se encontraron diferencias estadísticas significativas con un nivel de confianza del 95% (Tabla 7). Sin embargo, se observó una mayor esporulación con la CMI de Lat B (0.02  $\mu\text{g/mL}$ ) ( $2.3 \times 10^6 \pm 2.4 \times 10^6$ ) respecto al tratamiento control y CIM de Lat B (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ). En cuanto a la germinación de esporas, la CIM de Lat B (0.1  $\mu\text{g/mL}$ ) presentó un aumento en el porcentaje de germinación ( $57 \pm 14.6\%$ ) en comparación con el tratamiento control y la CMI de Lat B (0.02  $\mu\text{g/mL}$ ).

**Tabla 7.** Esporulación y germinación de conidios de *F. vanettenii* en tratamiento con concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Latrunculina B (Lat B).<sup>1</sup>

Lat B ( $\mu\text{g/mL}$ )	Esporulación (esporas/mL) <sup>2</sup>	Germinación (%) <sup>3</sup>
	Cuarto DPT	3.5 HPT
0	$2.3 \times 10^6 \pm 2.4 \times 10^6$	$49 \pm 10.6$
0.02	$2.6 \times 10^6 \pm 2.9 \times 10^6$	$51 \pm 8.8$
0.1	$2.4 \times 10^6 \pm 1.4 \times 10^6$	$57 \pm 14.6$

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios  $\pm$  desviación estándar por tratamiento (<sup>2</sup>n=3; <sup>3</sup>n=9).

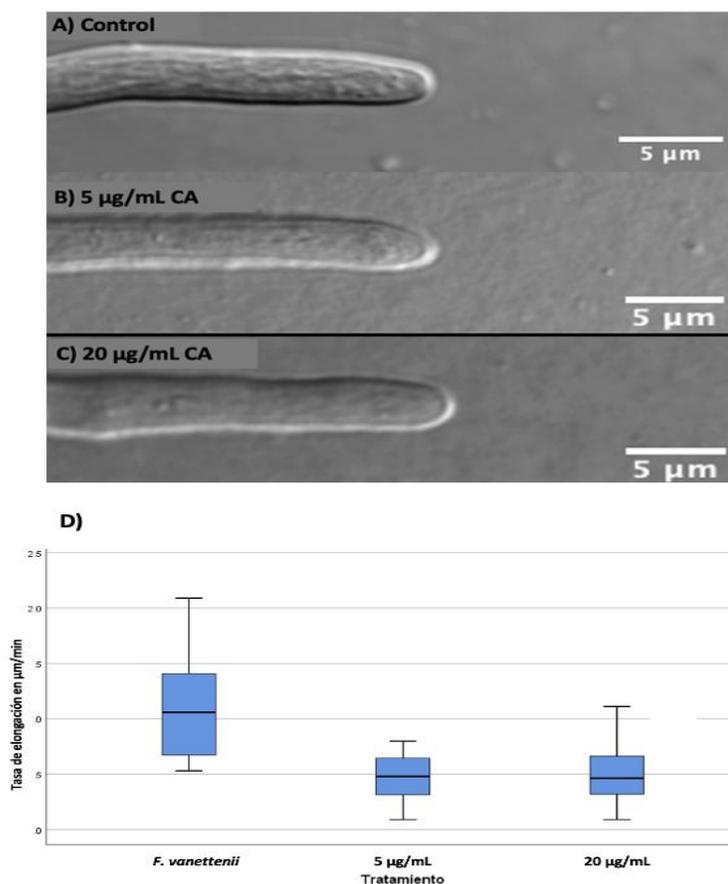
DPT = Días Postratamiento.

HPT = Horas Postratamiento.

### 3.2.2 Efecto de Citocalasina A en el desarrollo biológico de *Fusarium vanettenii*

A partir de los videos obtenidos por microscopía confocal de barrido láser, se calculó la tasa de elongación del hongo ( $\mu\text{m/s}$ ) y se midió el ancho de las hifas a una distancia de 5  $\mu\text{m}$  del ápice, a 24 HPT. En cuanto a la tasa de elongación, el tratamiento control (*F. vanettenii* sin tratamiento de CA), reveló una tasa de elongación de la hifa de  $1.10 \mu\text{m/min} \pm 0.46$ . Para CMI, la elongación de la hifa fue de  $0.48 \mu\text{m/min} \pm 0.20$  y para CIM fue de  $0.54 \mu\text{m/min} \pm 0.30$ . Estos resultados indican que los tratamientos con CA disminuyeron la tasa de elongación de la hifa respecto al tratamiento control (Figura 4D). La diferencia entre los

tratamientos de CA respecto al tratamiento control fue estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ) (Tabla 6), sin embargo, aunque la tasa de elongación fue ligeramente menor con CA en CIM, no se observaron diferencias significativas respecto a CA en CMI. En el caso del ancho de las hifas (Figura 4A-C), los resultados indicaron que no había diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95% (Tabla 8).



**Figura 4.** Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media en el desarrollo morfológico hifas de *F. vanettenii*, 24 horas postratamiento. Microscopía confocal de barrido láser de hifas en A) tratamiento control, B) tratamiento con 5 µg/mL de CA, y C) tratamiento con 20 µg/mL de CA. D) Gráfica de cajas de la tasa de elongación (µm/min) de hifas con tratamientos de CA (5 y 20 µg/mL).

**Tabla 8.** Tasa de elongación y ancho de hifas de *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, 24 horas postratamiento.<sup>1</sup>

CA (µg/mL)	Tasa elongación (µm/s) <sup>2</sup>	Ancho de hifa (µm) <sup>3</sup>
0	1.1 ± 0.46 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.9 <sup>a</sup>
5	0.48 ± 0.2 <sup>b</sup>	4.1 ± 1 <sup>a</sup>
20	0.54 ± 0.3 <sup>b</sup>	3.9 ± 1.2 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio ± desviación estándar por tratamiento (<sup>2</sup>n=30; <sup>3</sup>n=50). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

Respecto al efecto de las CMI y CIM de CA en la biología reproductiva de *F. vanettenii*, la esporulación fue de  $8.1 \times 10^6 \pm 6.9 \times 10^6$  esporas/mL para el tratamiento control,  $4.2 \times 10^6 \pm 3.9 \times 10^6$  esporas/mL para la CMI, y  $4.1 \times 10^6 \pm 3.8 \times 10^6$  esporas/mL para CIM (Tabla 9). Sin embargo, para el porcentaje de germinación no se encontraron diferencias estadísticas significativas con un nivel de confianza del 95% (Tabla 9), aunque se observó que CA (5  $\mu\text{g/mL}$ ) presentó un aumento de  $67 \pm 8.5\%$  en comparación con el tratamiento control ( $59 \pm 8.9\%$ ) o CA (20  $\mu\text{g/mL}$ ) ( $59 \pm 4.6\%$ ).

**Tabla 9.** Esporulación y germinación de conidios de *F. vanettenii* en tratamiento con concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media de Citocalasina A (CA).<sup>1</sup>

CA ( $\mu\text{g/mL}$ )	Esporulación (esporas/mL) <sup>2</sup>	Germinación (%) <sup>3</sup>
	Cuarto DPT	3.5 HPT
0	$8.1 \times 10^6 \pm 6.9 \times 10^6$ <sup>a</sup>	$50 \pm 8.9$ <sup>a</sup>
5	$4.2 \times 10^6 \pm 3.9 \times 10^6$ <sup>b</sup>	$57 \pm 8.5$ <sup>a</sup>
20	$4.1 \times 10^6 \pm 3.8 \times 10^6$ <sup>b</sup>	$53 \pm 4.6$ <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios  $\pm$  desviación estándar por tratamiento (<sup>2</sup>n=3; <sup>3</sup>n=9). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

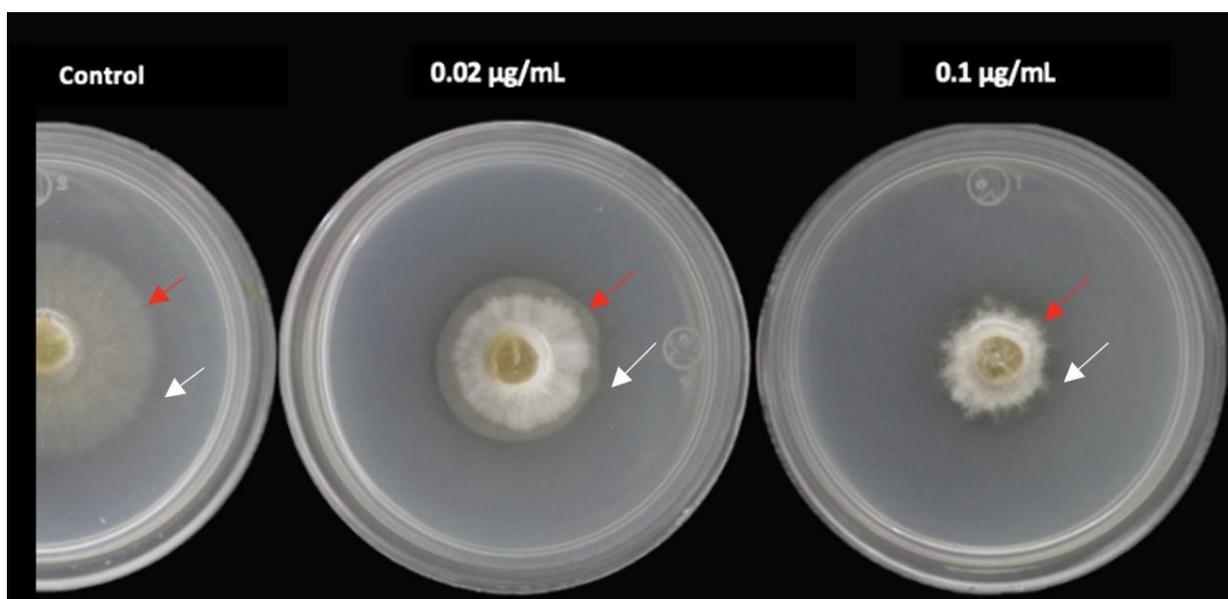
DPT = Días Postratamiento.

HPT = Horas Postratamiento.

### 3.3 Efectos de compuestos despolimerizadores de actina en la actividad enzimática de *Fusarium vanettenii*

#### 3.3.1 Efectos de Latrunculina B en la actividad enzimática de nucleasas de *Fusarium vanettenii*

Para determinar el efecto de Lat B en la actividad enzimática de *F. vanettenii*, se realizó un ensayo cualitativo in vitro, donde después del tercer DPT, se visualizó un halo alrededor del hongo indicando la degradación del ADN por parte de la nucleasa extracelular fúngica. Con esta prueba se confirmó la secreción de nucleasas por parte del hongo en todos los tratamientos (Figura 5).



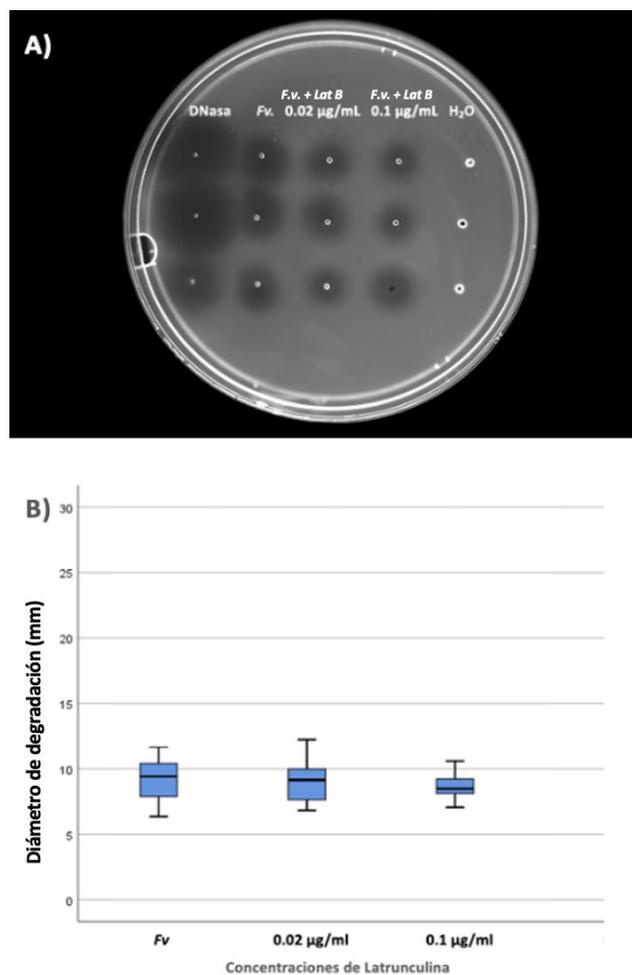
**Figura 5.** Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la actividad enzimática de *F. vanettenii*, tercer DPT. A) tratamiento control, B) 0.02 µg/mL de Lat B, y C) 0.1 µg/mL de Lat B. Halo de degradación de ADN (flecha blanca). Límite de la colonia fúngica (flecha roja).

Para evaluar cuantitativamente el efecto de Lat B en la actividad enzimática de *F. vanettenii*, se utilizó el software FIJI para medir la degradación de ADN presentada por los distintos tratamientos (Figura 6A). El diámetro de degradación de ADN en el tratamiento control fue de  $9.2 \pm 1.6$  mm, mientras que para las concentraciones de 0.02 y 0.1 µg/mL, se obtuvo un diámetro de  $9.1 \pm 1.8$  y  $8.8 \pm 1.3$  mm, respectivamente (Figura 6B). Se observó una ligera disminución en el halo de degradación de ADN conforme aumentó la concentración de Lat B, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Tabla 10).

**Tabla 10.** Degradación de ADN por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B), 24 horas postratamiento.

Lat B (µg/mL)	Diámetro de halo de degradación (mm)
0	$9.2 \pm 1.6$
0.02	$9.1 \pm 1.8$
0.1	$8.8 \pm 1.3$

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios  $\pm$  desviación estándar por tratamiento (n=6).



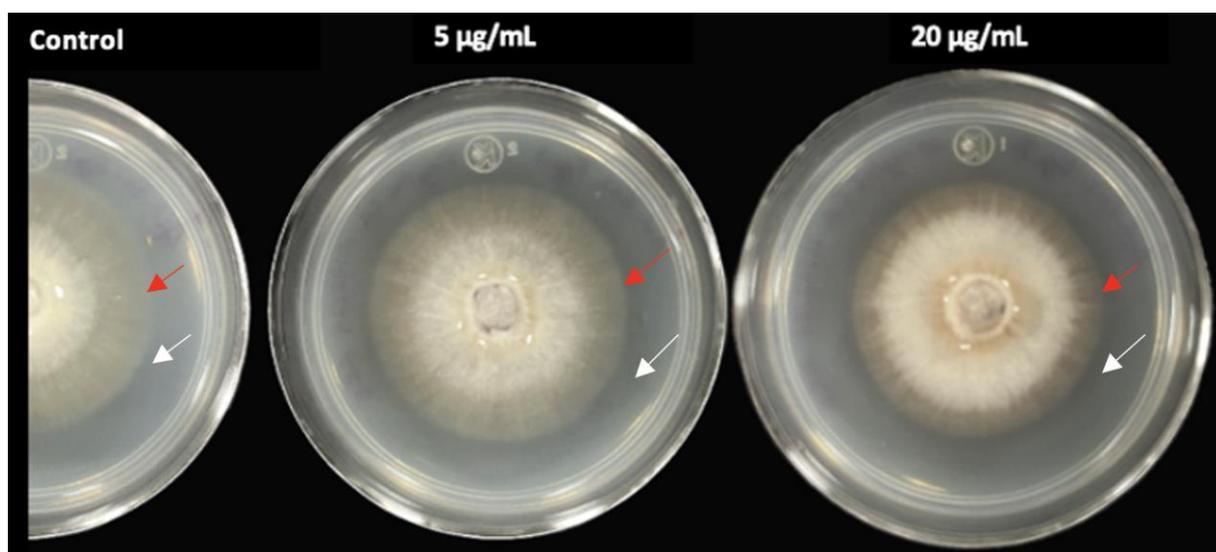
**Figura 6.** Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la secreción de nucleasas en *F. vanettenii*, 24 horas postratamiento. A) Difusión radial de nucleasas de *F. vanettenii* en tratamiento con Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL). B) Gráfica de cajas del diámetro de degradación de nucleasas extracelulares de *F. vanattennii* con tratamiento de Lat B (0.02 y 0.1 µg/mL).

### 3.3.2 Efecto de Citocalasina A en la actividad enzimática de nucleasas extracelulares de *Fusarium vanettenii*

Para determinar el efecto de CA en la actividad enzimática de *F. vanettenii*, se realizó un ensayo cualitativo in vitro, donde después del tercer DPT, se visualizó un halo alrededor del hongo indicando la degradación del ADN por parte de la nucleasa extracelular fúngica. Con esta prueba se confirmó la secreción de nucleasas por parte del hongo en todos los tratamientos (Figura 7).

Para evaluar cuantitativamente el efecto de CA en la actividad enzimática de *F. vanettenii*, se utilizó el software FIJI para medir la degradación de ADN presentada por los distintos tratamientos (Figura 8A). El diámetro de degradación de DNA en el tratamiento control fue de  $9 \pm 0.57$  mm, mientras que para las

concentraciones de 5 y 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , se obtuvo un diámetro de  $12 \pm 0.86$  y  $12.6 \pm 0.43$  mm, respectivamente (Figura 8B). Los tratamientos con CA mostraron diferencias estadísticas significativas respecto al tratamiento control, sin embargo, no se presentaron diferencias entre las concentraciones de CA utilizadas en los tratamientos (Tabla 11).



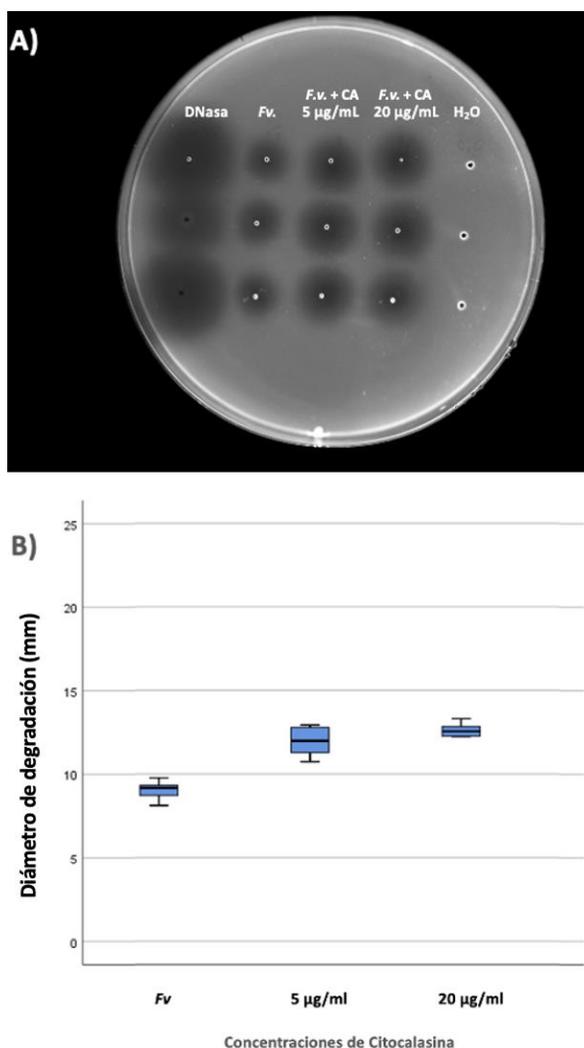
**Figura 7.** Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la actividad enzimática de *F. vanettenii*, tercer DPT. A) tratamiento control, B) 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de CA, y C) 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de CA. Halo de degradación de ADN (flecha blanca).

Para evaluar cuantitativamente el efecto de CA en la actividad enzimática de *F. vanettenii*, se utilizó el software FIJI para medir la degradación de ADN presentada por los distintos tratamientos (Figura 8A). El diámetro de degradación de DNA en el tratamiento control fue de  $9 \pm 0.57$  mm, mientras que para las concentraciones de 5 y 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , se obtuvo un diámetro de  $12 \pm 0.86$  y  $12.6 \pm 0.43$  mm, respectivamente (Figura 8B). Los tratamientos con CA mostraron diferencias estadísticas significativas respecto al tratamiento control, sin embargo, no se presentaron diferencias entre las concentraciones de CA utilizadas en los tratamientos (Tabla 11).

**Tabla 11.** Degradación de ADN por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA), 24 horas postratamiento.<sup>1</sup>

CA ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Diámetro de halo de degradación (mm)
0	$9 \pm 0.57^a$
5	$12 \pm 0.86^b$
20	$12.6 \pm 0.43^b$

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios  $\pm$  desviación estándar por tratamiento (n=6). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).



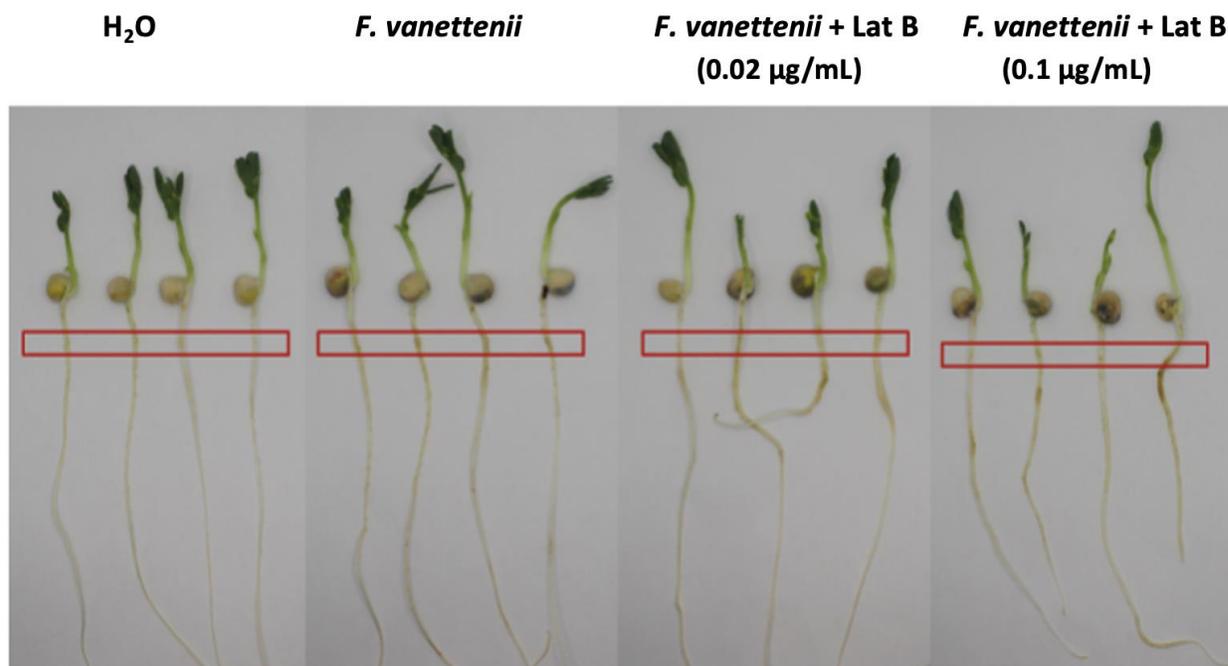
**Figura 8.** Efecto de Calicualasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la secreción de nucleasas en *F. vanettenii*, 24 horas postratamiento. A) Difusión radial de nucleasas de *F. vanettenii* en tratamiento con CA (5 y 20 µg/mL). B) Gráfica de cajas del diámetro de degradación de nucleasas extracelulares de *F. vanettenii* con tratamiento de CA (5 y 20 µg/mL).

### 3.4 Efecto de Latrunculina B en la patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en planta, sexto DPI

#### 3.4.1 Efecto de Latrunculina B en la patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en planta, sexto DPI

El efecto de Lat B en la patogenicidad de *F. vanettenii*, se evaluó en plántulas de *P. sativum* al sexto DPI. Para evaluar la severidad de los síntomas, se tomaron fotografías de las plántulas y se seleccionó la RI de

la radícula (Figura 9). Posteriormente, se obtuvieron los valores de la intensidad de grises mediante el análisis de imágenes con el Software FIJI, los cuáles se relacionaron a un grado de severidad según la escala (Tabla 12), cómo se describe en la metodología (2.3.3 y 2.4). El grado de severidad de los síntomas en *P. sativum* no mostró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos con *F. vanettenii* ( $P < 0.05$ ) (Tabla 13).



**Figura 9.** Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, en la infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*; sexto día posinoculación. De izquierda a derecha: *P. sativum* + H<sub>2</sub>O; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.02 µg/mL); *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.1 µg/mL). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo).

**Tabla 12.** Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en *P. sativum*, causada por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B), seis días posinoculación.

Grado de severidad	Síntoma	Coloración de la raíz	Rango de intensidad de grises
0	Sin síntoma	Blanca	260-106
1	Leve	Amarilla	105-85
2	Moderado	Café claro	84-65
3	Fuerte	Café oscuro	64-45
4	Severo	Negro	44-0

**Tabla 13.** Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B), seis días posinoculación.

Tratamiento	Síntomas de pudrición de la raíz (%) <sup>1</sup>					Grado de severidad <sup>2</sup>
	Sin síntoma	Leve	Moderado	Fuerte	Severo	
H <sub>2</sub> O	100	-	-	-	-	0 ± 0 <sup>a</sup>
<i>F. vanettenii</i>	17	41	25	17	-	1.4 ± 0.7 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + Lat B (0.02 µg/mL)	17	50	25	8	-	1.3 ± 0.6 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + Lat B (0.1 µg/mL)	33	33	32	8	-	1.2 ± 0.4 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan el porcentaje de plántulas con síntomas de pudrición de raíz (n=12).

<sup>2</sup>Los valores representan el promedio del grado de severidad ± desviación estándar por tratamiento (n=12). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

(-) = 0.

El análisis estadístico de las variables para el estudio del desarrollo biológico de las plántulas no mostró diferencias significativas (Tabla 14).

**Tabla 14.** Desarrollo biológico de plántulas de *P. sativum* en pruebas de patogenicidad ante *F. vanettenii* en tratamiento con Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Inhibitoria Media (CIM) de Latrunculina B (Lat B), sexto día posinoculación.<sup>1</sup>

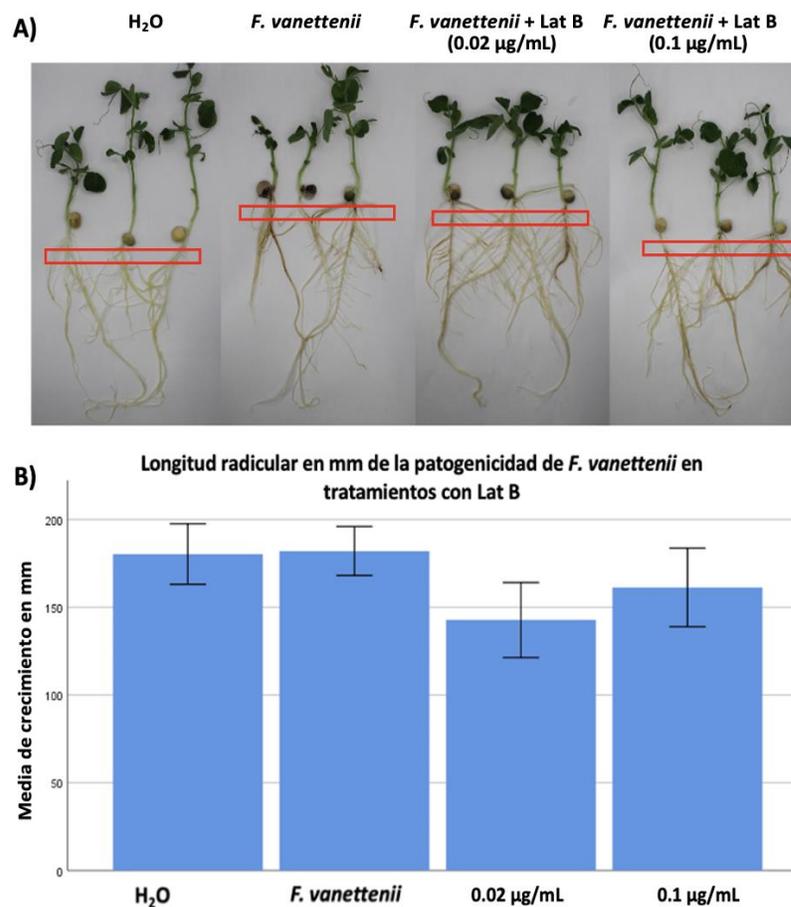
Parámetro	Tratamiento			
	H <sub>2</sub> O	<i>F. vanettenii</i>	<i>F. vanettenii</i> + Lat B CMI	<i>F. vanettenii</i> + Lat B CIM
Longitud de raíz principal (mm)	114.8 ± 39	104.2 ± 48.2	112.4 ± 45	105.6 ± 36.3
Longitud foliar (mm)	40.7 ± 16.5	34.2 ± 10.2	56.3 ± 56.2	28.4 ± 16.4
Longitud total de la planta (mm)	155.6 ± 45	138.4 ± 44.6	170.6 ± 19.8	134 ± 48.2
Número de nudos	2 ± 0.43	2 ± 0.01	2 ± 0.01	2 ± 0.76
Número de raíces laterales	18.2 ± 5	22.4 ± 7.9	25.6 ± 10.5	19.6 ± 12.2
Longitud raíces laterales (mm)	26.3 ± 12.5	26.4 ± 12.9	21.1 ± 13.6	18.7 ± 10.3
Peso sistema foliar (g)	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.02
Peso sistema radicular (g)	0.14 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.19 ± 0.09
Peso total de la planta (g)	0.17 ± 0.36	0.16 ± 0.17	0.18 ± 0.05	0.18 ± 0.05

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios ± desviación estándar por tratamiento (n=12).

### 3.4.2 Efecto de Latrunculina B en la patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en planta, 14 DPI

El efecto de Lat B en la patogenicidad de *F. vanettenii*, se evaluó en plántulas de *P. sativum* a 14 DPI. Para evaluar la severidad de los síntomas se analizaron las lesiones en la radícula de manera visual y de acuerdo

con la escala ordinal de la tabla 1. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos con *F. vanettenii* (Figura 24, Anexos), sin embargo, se observó un grado de severidad menor en el tratamiento de *F. vanettenii* sin Lat B. Además, se realizó una evaluación de la severidad de los síntomas mediante el análisis de imágenes con el Software FIJI (Figura 10A; Tabla 15) siguiendo lo descrito en la sección 3.4.1. Los resultados no mostraron diferencias estadísticas significativas en el grado de severidad de los síntomas entre los tratamientos con *F. vanettenii* (Tabla 16), confirmando la evaluación visual.



**Figura 10.** Efecto de Latrunculina B (Lat B) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media en la infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*, 14 días posinoculación. (A) Infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*. De izquierda a derecha: *P. sativum* + H<sub>2</sub>O; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.02 µg/mL); *P. sativum* + *F. vanettenii* + Lat B (0.1 µg/mL). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo). (B) Gráfica de barras de la longitud de la raíz principal de *P. sativum* con tratamientos de Lat B.

**Tabla 15.** Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en *P. sativum*, causada por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B), 14 días posinoculación.

Grado de severidad	Síntoma	Coloración de la raíz	Rango de intensidad de grises
0	Sin síntoma	Blanca	260-112
1	Leve	Amarilla	111-92
2	Moderado	Café claro	91-72
3	Fuerte	Café oscuro	71-52
4	Severo	Negro	51-0

**Tabla 16.** Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B), 14 días posinoculación.

Tratamiento	Síntomas de pudrición de la raíz (%) <sup>1</sup>					Grado de severidad <sup>2</sup>
	Sin síntoma	Leve	Moderado	Fuerte	Severo	
H <sub>2</sub> O	100	-	-	-	-	0 ± 0 <sup>a</sup>
<i>F. vanettenii</i>	-	44	29	22	5	1.9 ± 1 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + Lat B (0.02 µg/mL)	-	33	33	22	12	2.1 ± 1 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + Lat B (0.1 µg/mL)	-	39	39	17	5	1.9 ± 0.9 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan el porcentaje de plántulas con síntomas de pudrición de raíz (n=18).

<sup>2</sup>Los valores representan el promedio del grado de severidad ± desviación estándar por tratamiento (n=18). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

(-) = 0.

En el análisis estadístico de las variables para el estudio del desarrollo biológico de las plántulas de *P. sativum*, se encontró que la longitud de la raíz principal del tratamiento Lat B mínimo inhibitorio (0.02 µg/mL) fue menor ( $142.7 \pm 46.9$  mm) que el tratamiento control ( $186.6 \pm 41.9$  mm) y a su vez mayor que el tratamiento *F. vanettenii* ( $191.3 \pm 37.7$  mm), mostrando una recuperación ante la presencia de Lat B. Así mismo, el tratamiento Lat B inhibitorio medio (0.1 µg/mL) fue menor ( $161.2 \pm 45.1$  mm) que el tratamiento control (Figura 10B). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (P<0.05) (Tabla 17). En contraste, la longitud de la raíz principal del tratamiento Lat B inhibitorio medio fue similar al tratamiento *F. vanettenii* y Lat B mínimo inhibitorio, sin mostrar diferencias estadísticas significativas con un nivel de confianza del 95%. De igual manera, no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el resto de las variables analizadas para determinar el desarrollo biológico de *P. sativum* (Tabla 17).

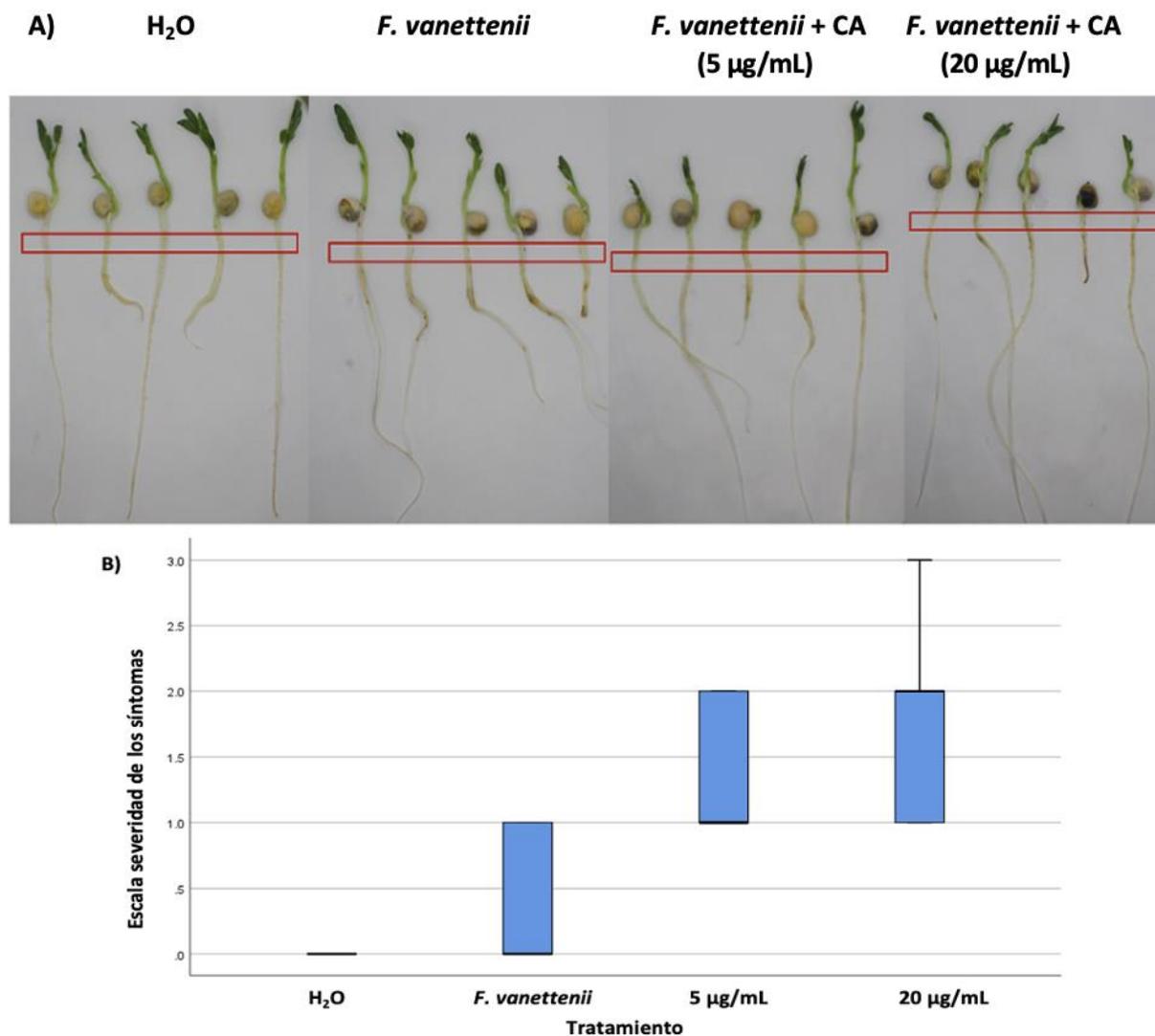
**Tabla 17.** Desarrollo biológico de plántulas de *P. sativum* en pruebas de patogenicidad ante *F. vanettenii* en tratamiento con Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Inhibitoria Media (CIM) de Latrunculina B (Lat B), 14 días posinoculación.<sup>1</sup>

Parámetro	Tratamiento			
	H <sub>2</sub> O	<i>F. vanettenii</i>	<i>F. vanettenii</i> + Lat B CMI	<i>F. vanettenii</i> + Lat B CIM
Longitud de raíz principal (mm)	186.6 ± 41.9 <sup>a</sup>	191.3 ± 37.7 <sup>ab</sup>	142.7 ± 46.9 <sup>c</sup>	161.2 ± 45.1 <sup>abc</sup>
Longitud foliar (mm)	86.8 ± 15.2 <sup>a</sup>	100.7 ± 21.1 <sup>a</sup>	63.7 ± 29.7 <sup>a</sup>	87.2 ± 28.1 <sup>a</sup>
Longitud total de la planta (mm)	252.7 ± 137.5 <sup>a</sup>	211.1 ± 116.6 <sup>.2a</sup>	184.7 ± 115.4 <sup>a</sup>	295 ± 121.8 <sup>a</sup>
Número de nudos	4 ± 1.1 <sup>a</sup>	4 ± 0.6 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 0.5 <sup>a</sup>
Número de raíces laterales	23.7 ± 8.8 <sup>a</sup>	28.5 ± 6.9 <sup>a</sup>	20.3 ± 5.8 <sup>a</sup>	32.8 ± 8.3 <sup>a</sup>
Longitud raíces laterales (mm)	60.4 ± 41 <sup>a</sup>	54.2 ± 33.4 <sup>a</sup>	46.4 ± 35.4 <sup>a</sup>	51.1 ± 33.1 <sup>a</sup>
Peso sistema foliar (g)	0.03 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>a</sup>
Peso sistema radicular (g)	0.09 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.02 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.02 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.04 ± 0.02 <sup>a</sup>
Peso total de la planta (g)	0.12 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.02 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios ± desviación estándar por tratamiento (n=18). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

### 3.4.3 Efecto de Citocalasina A en la patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en planta, sexto DPI

El efecto de CA en la patogenicidad de *F. vanettenii*, se evaluó en plántulas de *P. sativum* al sexto DPI. Para evaluar la severidad de los síntomas, se tomaron fotografías de las plántulas y se seleccionó la RI de la radícula (Figura 11). Posteriormente, se obtuvieron los valores de la intensidad de grises mediante el análisis de imágenes con el Software FIJI, los cuáles se transformaron a una escala de severidad (Tabla 18), como se describe en la metodología (2.3.3 y 2.4). El grado de severidad promedio en el tratamiento de H<sub>2</sub>O fue de 0 ± 0, para *F. vanettenii* fue de 0.6 ± 0.1, mientras que para las plántulas tratadas con 5 µg/mL y 20 µg/mL de CA, fue de 1.5 ± 0.5, y 1.7 ± 0.7, respectivamente, mostrando diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (P<0.05) (Tabla 19).



**Figura 11.** Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media en la infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*, seis días posinoculación. (A) Infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*. De izquierda a derecha: *P. sativum* +  $H_2O$ ; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (5  $\mu\text{g/mL}$ ); *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (20  $\mu\text{g/mL}$ ). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo). (B) Gráfica de cajas de la severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* con tratamiento con CA

**Tabla 18.** Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en *P. sativum*, causada por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA), sexto día posinoculación.

Grado de severidad	Síntoma	Coloración de la raíz	Rango de intensidad de grises
0	Sin síntoma	Blanca	260-137
1	Leve	Amarilla	136-121
2	Moderado	Café claro	120-104
3	Fuerte	Café oscuro	103-88
4	Severo	Negro	87-0

**Tabla 19.** Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media, sexto día posinoculación.

Tratamiento	Síntomas de pudrición de la raíz (%) <sup>1</sup>					Grado de severidad <sup>2</sup>
	Sin síntoma	Leve	Moderado	Fuerte	Severo	
H <sub>2</sub> O	100	-	-	-	-	0 ± 0 <sup>a</sup>
<i>F. vanettenii</i>	58	25	17	-	-	0.6 ± 0.1 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + CA (5 µg/mL)	-	58	34	8	-	1.5 ± 0.5 <sup>c</sup>
<i>F. vanettenii</i> + CA (20 µg/mL)	8	42	25	25	-	1.7 ± 0.7 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan el porcentaje de plántulas con síntomas de pudrición de raíz (n=12).

<sup>2</sup>Los valores representan el promedio del grado de severidad ± desviación estándar por tratamiento (n=12). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

(-) = 0.

El análisis estadístico de las variables para el estudio del desarrollo biológico de las plántulas no mostró diferencias significativas (Tabla 20).

**Tabla 20.** Desarrollo biológico de plántulas de *P. sativum* en pruebas de patogenicidad ante *F. vanettenii* en tratamiento con Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Inhibitoria Media (CIM) de Citocalasina A (CA), sexto día posinoculación.<sup>1</sup>

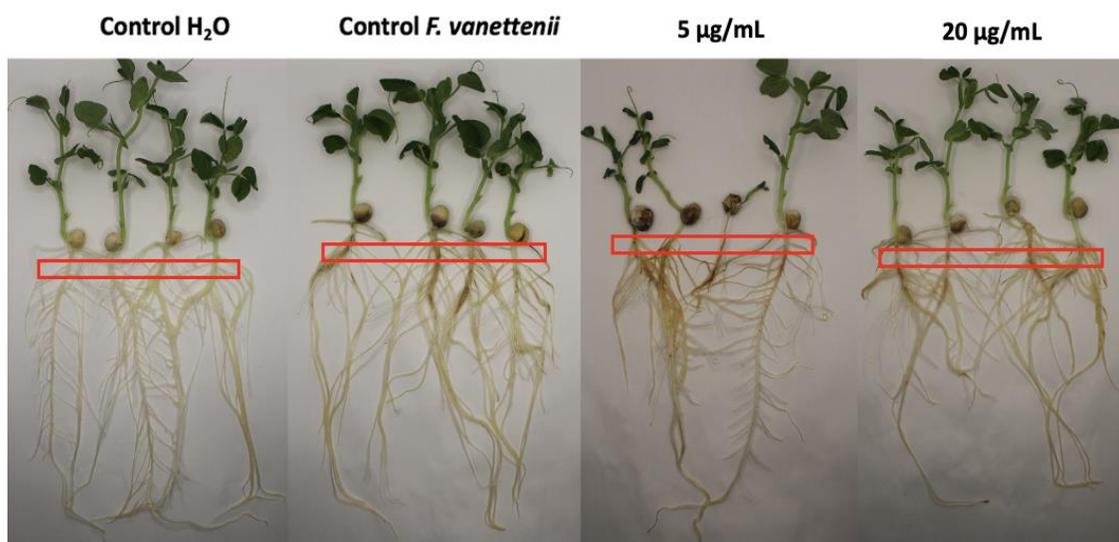
Parámetro	Tratamiento			
	H <sub>2</sub> O	<i>F. vanettenii</i>	<i>F. vanettenii</i> + CA CMI	<i>F. vanettenii</i> + CA CIM
Longitud de raíz principal (mm)	99.1 ± 44.5	96.5 ± 45.1	113.2 ± 46.6	116.9 ± 49.1
Longitud foliar (mm)	39.9 ± 3.6	37.4 ± 8.2	39.9 ± 2.8	31.8 ± 12.5
Longitud total de la planta (mm)	139.3 ± 43.5	135 ± 51.4	153.2 ± 46.8	148.7 ± 98.9
Número de nudos	2 ± 0.8	2 ± 0.8	2 ± 0.8	2 ± 0.8
Número de raíces laterales	26.8 ± 7.4	14.7 ± 2.3	20.7 ± 2.8	20.1 ± 1.1
Longitud raíces laterales (mm)	22.4 ± 17.1	27.9 ± 12.2	27.5 ± 14.9	35.1 ± 17.2
Peso sistema foliar (g)	0.03 ± 0.01	0.16 ± 0.03	0.04 ± 0.04	0.06 ± 0.08
Peso sistema radicular (g)	0.16 ± 0.03	0.13 ± 0.05	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.09
Peso total de la planta (g)	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.22 ± 0.06	0.24 ± 0.06

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios ± desviación estándar por tratamiento (n=12).

#### 3.4.4 Efecto de Citocalasina en la patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en planta, 14 DPI

El efecto de CA en la patogenicidad de *F. vanettenii* se evaluó en plántulas de *P. sativum* a 14 DPI. Para

evaluar la severidad de los síntomas se analizaron las lesiones en la radícula de manera visual y de acuerdo con la escala ordinal de la tabla 1. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos con *F. vanettenii* (Figura 25, Anexos), sin embargo, se observó un grado de severidad menor en el tratamiento *F. vanettenii* sin CA. Además, se realizó una evaluación de la severidad de los síntomas mediante el análisis de imágenes con el Software FIJI (Figura 12; Tabla 21) siguiendo lo descrito en la sección 3.4.1. Los resultados no mostraron diferencias estadísticas significativas en el grado de severidad de los síntomas entre los tratamientos con *F. vanettenii* (Tabla 22), confirmando la evaluación visual.



**Figura 12.** Efecto de Citocalasina A (CA) en concentraciones mínima inhibitoria e inhibitoria media en la infección de *P. sativum* por *F. vanettenii*, 14 días posinoculación. De izquierda a derecha: *P. sativum* + H<sub>2</sub>O; *P. sativum* + *F. vanettenii*; *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (5 µg/mL); *P. sativum* + *F. vanettenii* + CA (20 µg/mL). Región de interés (RI) de la radícula (cuadro rojo).

**Tabla 21.** Relación de intensidad de grises con escala de severidad de los síntomas de pudrición de raíz en *P. sativum*, causada por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA), 14 días posinoculación.

Grado de severidad	Síntoma	Coloración de la raíz	Rango de intensidad de grises
0	Sin síntoma	Blanca	260-131
1	Leve	Amarilla	130-113
2	Moderado	Café claro	112-95
3	Fuerte	Café oscuro	94-77
4	Severo	Negro	76-0

**Tabla 22.** Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA), 14 días posinoculación.

Tratamiento	Síntomas de pudrición de la raíz (%) <sup>1</sup>					Grado de severidad <sup>2</sup>
	Sin síntoma	Leve	Moderado	Fuerte	Severo	
H <sub>2</sub> O	100	-	-	-	-	0 ± 0 <sup>a</sup>
<i>F. vanettenii</i>	-	11	39	50	-	2.4 ± 0.7 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + CA (5 µg/mL)	-	-	11	67	22	3.1 ± 0.6 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + CA (20 µg/mL)	-	-	33	39	28	2.9 ± 0.8 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan el porcentaje de plántulas con síntomas de pudrición de raíz (n=14).

<sup>2</sup>Los valores representan el promedio del grado de severidad ± desviación estándar por tratamiento (n=14). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

(-) = 0.

El análisis estadístico de las variables para el estudio del desarrollo biológico de las plántulas no mostró diferencias significativas (Tabla 23).

**Tabla 23.** Desarrollo biológico de plántulas de *P. sativum* en pruebas de patogenicidad ante *F. vanettenii* en tratamiento con Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Inhibitoria Media (CIM) de Citocalasina A (CA), 14 días posinoculación.<sup>1</sup>

Parámetro	Tratamiento			
	H <sub>2</sub> O	<i>F. vanettenii</i>	<i>F. vanettenii</i> + CA CMI	<i>F. vanettenii</i> + CA CIM
Longitud de raíz principal (mm)	180.8 ± 43	157.3 ± 39.1	143.3 ± 49.7	151.4 ± 39.5
Longitud foliar (mm)	93.5 ± 21.4	82.6 ± 15.4	79.5 ± 32.5	82.1 ± 13
Longitud total de la planta (mm)	274.3 ± 42.2	238.8 ± 35.4	222.8 ± 45	233.5 ± 49.3
Número de nudos	4 ± 0.5	4 ± 0.5	4 ± 1.1	4 ± 0.3
Número de raíces laterales	30.3 ± 15	25.1 ± 10.5	33.4 ± 17.4	26 ± 16.8
Longitud raíces laterales (mm)	47.1 ± 39.09	58.6 ± 54.3	31.9 ± 22.7	49.4 ± 35.8
Peso sistema foliar (g)	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01
Peso sistema radicular (g)	0.01 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Peso total de la planta (g)	0.13 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.02

<sup>1</sup>Los valores representan los promedios ± desviación estándar por tratamiento (n=18).

## Capítulo 4.      Discusión

---

El presente estudio evaluó los efectos de los inhibidores de actina Lat B y CA en *F. vanettenii*, analizando su impacto en su desarrollo, secreción enzimática y patogenicidad. Los resultados obtenidos mostraron alteraciones en estos procesos, los cuales se discuten en las siguientes secciones.

### 4.1 Concentración mínima inhibitoria de compuestos despolimerizadores de actina en el crecimiento de *Fusarium vanettenii*

En este estudio se determinó la CMI y CIM de los compuestos despolimerizadores de actina Lat B y CA sobre el crecimiento radial de *F. vanettenii*. Para Lat B, se identificaron las concentraciones de 0.02 y 0.1 µg/mL, como CMI y CIM, respectivamente, las cuales provocaron una inhibición significativa del crecimiento fúngico. La identificación de estas concentraciones mínimas es de suma importancia para minimizar un efecto no deseable en las funciones biológicas que no son objetivo en el organismo bajo estudio. Estas concentraciones fueron notablemente menores a las reportadas para otras especies fúngicas. Por ejemplo, en *N. crassa*, 10 µg/mL de Lat B provocaron alteraciones en el crecimiento polarizado y la morfología celular (Delgado *et al.*, 2010). En *M. brunneum*, concentraciones entre 1 y 5 µg/mL causaron alteraciones en la polaridad y afectaron la secreción de enzimas extracelulares como proteasas y quitinasas (Dhar & Kaur, 2010). En *C. albicans*, la exposición a 0.06 µg/mL de Lat B inhibió la transición morfológica de levadura a hifa, lo que redujo su capacidad de invasión y virulencia (Delgado *et al.*, 2014). La sensibilidad observada en *F. vanettenii* a concentraciones tan bajas como 0.02 µg/mL sugiere una alta dependencia de la dinámica del citoesqueleto de actina para su crecimiento. Esta hipótesis se respalda en estudios que han demostrado que la disrupción del citoesqueleto de actina inducida por Lat B puede afectar procesos clave como la polarización celular, el crecimiento apical y la secreción de factores de virulencia (Revisado en Berepiki *et al.*, 2011; Delgado *et al.*, 2010; Delgado *et al.*, 2014; Dhar & Kaur, 2010; Torralba *et al.*, 1998).

Por su parte, el tratamiento con CA mostró efectos inhibitorios sobre el crecimiento radial de *F. vanettenii* a concentraciones de 5 y 20 µg/mL. Estas concentraciones se encuentran cercanas al rango reportado para otros hongos filamentosos. En *A. nidulans*, 10 µg/mL de CA indujeron acumulación de vesículas, alteraciones nucleares y una reducción en la secreción enzimática, particularmente de α-amilasa (Torralba *et al.*, 1998). En *M. oryzae*, concentraciones de 20 µg/mL afectaron la formación de apresorios y la

penetración en los tejidos vegetales (Revisado en Tucker & Talbot, 2001), mientras que en *B. cinerea*, 50 µg/mL de CA inhibieron la formación de conidios y apresorios, estructuras clave durante el proceso de infección (Turrà *et al.*, 2015). La sensibilidad de *F. vanettenii* a concentraciones bajas como 5 µg/mL respalda la hipótesis de que su crecimiento depende de la organización del citoesqueleto de actina. Este proceso, como se ha demostrado en estudios previos, puede verse alterado por compuestos como CA, los cuales interfieren en funciones esenciales como la polarización celular, el tráfico vesicular y la secreción de factores de virulencia (Berepiki *et al.*, 2010; Delgado *et al.*, 2010; Torralba *et al.*, 1998).

## **4.2 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en el desarrollo biológico de *Fusarium vanettenii***

A diferencia del crecimiento radial, el tratamiento con Lat B y CA mostró efectos diferenciados en diversos aspectos del desarrollo fúngico. A partir del análisis por microscopía confocal de barrido láser, se observó que ambos compuestos, en sus respectivas CMI y CIM (Lat B: 0.02 y 0.1 µg/mL; CA: 5 y 20 µg/mL), alteraron la tasa de elongación de las hifas, mientras que el ancho de las mismas no presentó cambios estadísticamente significativos. Esto sugiere que, en las concentraciones utilizadas, la arquitectura transversal de la hifa podría no ser el principal objetivo de estos compuestos, posiblemente debido a sus mecanismos de acción específicos.

En el caso de Lat B, se registró una disminución progresiva en la tasa de elongación: de  $1.1 \pm 0.46$  µm/min en el tratamiento de *F. vanettenii* sin Lat B, a  $0.96 \pm 0.33$  µm/min con 0.02 µg/mL, y a  $0.54 \pm 0.3$  µm/min con 0.1 µg/mL. No obstante, sólo la concentración más alta mostró una diferencia estadísticamente significativa respecto al control ( $P < 0.05$ ), lo que sugiere que, a concentraciones bajas, Lat B no compromete de forma crítica la elongación apical. En estudios previos en *N. crassa* y *A. nidulans*, se ha reportado que la desorganización del citoesqueleto de actina inducida por Lat B (10 µg/mL) afecta la organización apical y el tráfico vesicular, procesos esenciales para la elongación hifal (Delgado *et al.*, 2010; Torralba *et al.*, 1998; Berepiki *et al.*, 2010). Sin embargo, los resultados de este estudio con Lat B a CMI (0.02 µg/mL) contrastan con este patrón, ya que no se detectó una disminución significativa en la tasa de elongación, lo cual podría reflejar una mayor tolerancia de *F. vanettenii* a niveles bajos de desorganización de actina, la existencia de mecanismos compensatorios (Yang *et al.*, 2020), o bien, que el modo de acción de Lat B a esta concentración no interfiere de forma significativa con los procesos involucrados en la elongación apical.

En cuanto a los procesos reproductivos, el tratamiento con Lat B no mostró efectos inhibitorios significativos ni en la esporulación, ni en la germinación de *F. vanettenii*, lo cual podría indicar que, bajo las condiciones evaluadas, la dinámica de actina no es un componente crítico para dichos procesos. Esto contrasta con estudios previos, donde efectos en la esporulación se han correlacionado con alteraciones en el citoesqueleto de actina (Revisado en Berepiki *et al.*, 2011; Delgado *et al.*, 2010; Torralba *et al.*, 1998). Otra explicación es que para la variable esporulación se realizaron un número mínimo de repeticiones por tratamiento (n=3), y además se presentó una varianza alta en los valores registrados, por lo que se recomienda incrementar el número de repeticiones por tratamiento o realizar un análisis estadístico de mayor precisión para confirmar los resultados.

El tratamiento con CA sí mostró una disminución estadística significativa en la tasa de elongación: de  $1.1 \pm 0.46 \mu\text{m}/\text{min}$  en el tratamiento de *F. vanettenii* sin CA, a  $0.48 \pm 0.2 \mu\text{m}/\text{min}$  con la CMI ( $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ ), y a  $0.54 \pm 0.3 \mu\text{m}/\text{min}$  con CIM ( $20 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) ( $P < 0.05$ ). En estudios previos en *A. nidulans*, se ha reportado que la desorganización del citoesqueleto de actina inducida por CA afecta la organización apical y el tráfico vesicular, procesos esenciales para la elongación hifal (Torralba *et al.*, 1998).

Aunque se ha documentado que CA también interfiere con el tráfico vesicular y la dinámica de actina en diversos hongos filamentosos, los resultados de este estudio muestran que incluso a bajas concentraciones, su efecto en la elongación es más inmediato y pronunciado que el de Lat B. Esto podría estar relacionado con diferencias en sus mecanismos de acción: mientras que Lat B se une a la actina monomérica e impide la polimerización (Coué *et al.*, 1987; Spector *et al.*, 1989), CA se une a filamentos ya formados, inhibiendo su elongación o promoviendo su fragmentación (Revisado en Cooper, 1987; MacLean-Fletcher & Pollard, 1980), lo que podría generar un impacto más directo en la elongación apical. La respuesta observada en *F. vanettenii* sugiere una mayor sensibilidad de este organismo a la alteración de los filamentos ya ensamblados.

El tratamiento con CA mostró una reducción significativa en la esporulación: de  $8.1 \times 10^6 \pm 6.9 \times 10^6$  esporas/mL en el tratamiento de *F. vanettenii* sin CA, a  $4.2 \times 10^6 \pm 3.9 \times 10^6$  esporas/mL con CA ( $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ ), y a  $4.1 \times 10^6 \pm 3.8 \times 10^6$  esporas/mL con CA ( $20 \mu\text{g}/\text{mL}$ ), lo que representa una reducción del 48% ( $P < 0.05$ ). Este efecto no ha sido ampliamente documentado en la literatura, por lo que representa un hallazgo novedoso en *F. vanettenii*. Sin embargo, se ha reportado que alteraciones en el citoesqueleto de actina pueden afectar procesos de desarrollo como la esporulación, dado que este participa en la organización citoplasmática, el tráfico vesicular y la morfogénesis (Revisado en Berepiki *et al.*, 2011; Delgado *et al.*, 2010; Torralba *et al.*, 1998; revisado en Momany, 2002). Esto sugiere que el efecto observado de CA podría

estar vinculado a su acción sobre estos procesos celulares, esenciales en la formación y liberación de esporas. Además, refuerza la importancia de analizar los mecanismos moleculares específicos activados por cada compuesto, ya que la despolimerización de actina no es un proceso uniforme y puede tener consecuencias funcionales distintas según el tipo de inhibidor y el contexto celular.

A diferencia de la esporulación, el tratamiento con CA no mostró diferencias significativas en la germinación de *F. vanettinni*, aun cuando se observaron valores promedio diferentes. Esto podría indicar que CA no es un compuesto crítico para la germinación bajo las condiciones evaluadas. Sin embargo, se empleó un número mínimo de repeticiones por tratamiento (n=9), y además se presentó una varianza alta en los valores registrados, por lo que se recomienda incrementar el número de repeticiones por tratamiento o realizar un análisis estadístico de mayor precisión para confirmar estos resultados.

Por otro lado, los resultados de germinación con CA no mostraron efectos significativos. Estos valores son comparables a lo reportado en otros hongos filamentosos donde se han evaluado efectos de inhibidores de actina, como Lat B y CA sobre la germinación. En *A. nidulans* y *N. crassa*, se ha documentado que concentraciones bajas de Lat B ( $\leq 0.39 \mu\text{g/mL}$ ) o CA ( $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ ) no afectan significativamente la germinación, mientras que concentraciones más altas ( $> 1.95 \mu\text{g/mL}$  para Lat B o  $> 10 \mu\text{g/mL}$  para CA) pueden reducirla de forma más notoria (Delgado *et al.*, 2010; Berepiki *et al.*, 2010). Esto podría deberse a que, durante la germinación, el hongo prioriza mecanismos compensatorios que permiten reorganizar parcialmente el citoesqueleto (Dagdas *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2020). Además, es posible que compuestos como CA y Lat B pierdan efectividad en etapas posteriores debido a la degradación de la molécula o la recuperación del hongo mediante reestructuración del citoesqueleto (Callejas-Negrete, comunicación personal, abril 2025), lo cual podría explicar la ausencia de efectos sostenidos sobre la germinación.

Estos hallazgos sugieren que, si bien ambos compuestos interfieren con la elongación de la hifa a través de una posible alteración de la actina, su impacto sobre los procesos reproductivos es variable. Mientras que Lat B requiere una CIM para inducir una respuesta significativa, CA actúa desde una CMI sobre este parámetro.

### **4.3 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la actividad enzimática de *Fusarium vanettenii***

Uno de los hallazgos más relevantes fue el efecto diferencial de los compuestos despolimerizadores de

actina sobre la secreción de nucleasas. La actividad secretora de nucleasas de *F. vanettenii* no se vio afectada por Lat B en concentraciones mínimas y medias inhibitorias. En este estudio se observó que la CIM de Lat B (0.1 µg/mL) redujo el crecimiento radial y la tasa de elongación de manera significativa ( $P < 0.05$ ), lo cual podría alterar la vía secretora a través del citoesqueleto de actina al bloquear la polimerización de actina desde su forma monomérica. Lat B secuestra monómeros de G-actina, impidiendo su polimerización y provocando una desorganización más profunda y generalizada del citoesqueleto (Coué *et al.*, 1987). No obstante, Lat B (0.1 µg/mL) no causó alguna alteración en la secreción de nucleasas. Esto sugiere que el citoesqueleto de actina no fue afectado en su ruta de secreción enzimática o que existan mecanismos alternativos de secreción que permanecen funcionales bajo estas condiciones (Coué *et al.*, 1987; revisado en Cooper, 1987; Wakatsuki *et al.*, 2001).

Los tratamientos con CA también permitieron una actividad enzimática en *F. vanettenii*, aunque indujeron un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) en la actividad de nucleasas (CA [5 µg/mL]:  $12 \pm 0.86$  mm y CA [20 µg/mL]:  $12.6 \pm 0.43$  mm) en comparación con el tratamiento de *F. vanettenii* sin CA ( $9 \pm 0.57$  mm). Este incremento pudo ser en respuesta al estrés causado por CA (Revisado en Cairns *et al.*, 2021), aunque no se presentaron diferencias significativas en la actividad de nucleasas entre los tratamientos con CA, a medida que aumentó su concentración.

En este estudio se observó que las concentraciones de CA redujeron el desarrollo biológico (crecimiento radial, tasa de elongación, y esporulación) de manera significativa ( $P < 0.05$ ), lo cual podría alterar la vía secretora a través del citoesqueleto de actina (Revisado en Berepiki *et al.*, 2011; Delgado *et al.*, 2010; Torralba *et al.*, 1998) al unirse al extremo (+) de los filamentos de actina ya formados, bloqueando su elongación sin desensamblarlos completamente (Sampath & Pollard, 1991). Asimismo, en el caso de *F. oxysporum*, se ha documentado que la alteración de componentes del tráfico vesicular y la maquinaria secretora afecta la liberación de enzimas degradadoras de la pared celular, como celulasas y pectinasas. En contraste, el resultado de este estudio podría deberse a que CA no afectó la secreción enzimática a través de la ruta del citoesqueleto de actina, o que CA permitió preservar parcialmente ciertas funciones del tráfico vesicular, o que existen mecanismos compensatorios que permitieron la secreción enzimática (Revisado en Cairns *et al.*, 2021).

Otra posible explicación para los resultados obtenidos es que la secreción de nucleasas podría depender de rutas secretoras no convencionales, algunas de las cuales podrían tener una menor dependencia del citoesqueleto de actina. Esta hipótesis se sustenta en estudios de otros sistemas fúngicos; por ejemplo, en *A. nidulans* se ha propuesto la existencia de vías de secreción alternativas, que no han sido completamente

caracterizadas en esta especie (Casadevall *et al.*, 2009). En hongos filamentosos como *A. fumigatus* y *Cryptococcus neoformans*, se han descrito rutas de secreción alternativas más definidas, como la liberación de vesículas intraluminales al exterior en forma de exosomas, y la secreción de vesículas extracelulares por gemación directa de la membrana plasmática. Estas rutas no convencionales permiten el transporte de enzimas hidrolíticas, como proteasas, hacia el medio extracelular, incluso en condiciones donde la vía clásica está comprometida o el citoesqueleto se encuentra parcialmente desorganizado (Rodrigues *et al.*, 2007; Wolf *et al.*, 2014; revisado en Zamith-Miranda *et al.*, 2018).

#### **4.4 Efecto de compuestos despolimerizadores de actina en la patogenicidad de *Fusarium vanettenii* en *Pisum sativum***

En las pruebas de patogenicidad realizadas al sexto DPI en presencia de Lat B, la virulencia de *F. vanettenii* fue ligeramente menor sin ser estadísticamente significativa. Al 14 DPI, esta tendencia se mantuvo constante sin mostrar diferencias estadísticas significativas entre tratamientos con *F. vanettenii* a lo largo del tiempo. Lo anterior es consistente con los resultados sobre la actividad enzimática de *F. vanettenii* bajo tratamientos con Lat B.

Estudios previos han mostrado que ciertas alteraciones del citoesqueleto pueden activar mecanismos alternativos de secreción. Por ejemplo, en *F. oxysporum* la interrupción de componentes del tráfico vesicular, como la MAP quinasa FMK1, genera defectos en la secreción y una reducción significativa en la virulencia (Di Pietro *et al.*, 2001). De igual manera, se ha reportado que alteraciones en Rab GTPasas afectan negativamente la secreción y la patogenicidad (López-Berges *et al.*, 2010). Estos ejemplos refuerzan la idea de que la secreción en *F. vanettenii* puede ser altamente dependiente de la integridad del citoesqueleto de actina y que una alteración parcial, podría activar rutas compensatorias o facilitar procesos infecciosos clave.

Además, en otros fitopatógenos como *M. oryzae*, se ha comprobado que el citoesqueleto de actina juega un papel fundamental en la formación del apresorio y en la capacidad de infección. Compuestos como Lat B impide la organización de parches y filamentos de actina en el ápice de la hifa, lo cual compromete el crecimiento polar y la formación adecuada del apresorio, disminuyendo así la patogenicidad (Dagdas *et al.*, 2012). En este sentido, es probable que concentraciones bajas de Lat B no inhiban por completo la reorganización del citoesqueleto de actina, lo cual permitiría mantener parcialmente la capacidad de infección. Sin embargo, también podría existir una respuesta compensatoria del hongo, que le permita

reorganizar su citoesqueleto o activar rutas secretoras alternativas en condiciones de estrés (Dagdas *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2020; revisado en Cairns *et al.*, 2021), lo que explicaría por qué no se observaron diferencias significativas en la patogenicidad.

En contraste, en las pruebas de patogenicidad realizadas al sexto DPI en presencia de CA, se observó un aumento significativo en la virulencia de *F. vanettenii*, en comparación con *F. vanettenii* sin CA, lo cual es consistente con los resultados sobre la actividad enzimática de *F. vanettenii* bajo tratamientos con CA. Estos hallazgos soportan la hipótesis de que un aumento en la secreción de nucleasas facilita la infección de *F. vanettenii* en *P. sativum* en etapa temprana. Estas enzimas han sido identificadas como importantes factores de virulencia en diversos hongos patógenos, debido a su capacidad para degradar trampas de exDNA formadas por células del borde de la raíz del hospedero en su respuesta inmune (Wen *et al.*, 2009, Hawes *et al.*, 2011; revisado en Hawes *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2019). Además, en *F. graminearum*, se ha identificado la ribonucleasa Fg12 como un efector que induce muerte celular en tejidos vegetales (Yang *et al.*, 2021). Asimismo, en *C. albicans*, se ha demostrado que la secreción de nucleasas extracelulares facilita la evasión de las NETs y promueve la colonización del hospedero (Zhang *et al.*, 2017).

Sin embargo, a los 14 DPI, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos con *F. vanettenii*. Esto sugiere que el efecto de CA fue transitorio. En el caso de CA, actúa mediante la inhibición de la elongación de filamentos de actina ya existentes, lo cual puede permitir una recuperación más rápida por parte de la célula. De hecho, en estudios con *A. nidulans*, Torralba *et al.* (1998) observaron que, tras la exposición a CA, las células pueden reorganizar parcialmente su citoesqueleto mediante la síntesis de nuevos filamentos o la metabolización del compuesto, aunque este proceso puede tardar varios días. Esta capacidad de adaptación celular frente a la alteración del citoesqueleto ha sido observada también en *N. crassa* (Callejas-Negrete, comunicación personal, abril 2025), lo cual explicaría por qué el efecto de CA no se sostuvo hasta los 14 DPI en *F. vanettenii*.

## Capítulo 5. Conclusiones

---

Este estudio ofrece una visión detallada sobre los efectos de los inhibidores de actina, Latrunculina B (Lat B) y Citocalasina A (CA), sobre procesos clave del desarrollo biológico de *F. vanettenii*, así como sobre su actividad enzimática y virulencia.

Se identificaron concentraciones mínimas inhibitorias de 0.02 µg/mL para Lat B y 5 µg/mL para CA, que no indujeron una inhibición completa del crecimiento, permitiendo evaluar con mayor precisión las alteraciones en los procesos biológicos estudiados.

Respecto al desarrollo de *F. vanettenii*, los tratamientos con Lat B en CMI causaron una reducción significativa en el crecimiento radial y la tasa de elongación de la hifa, mientras que los tratamientos con CA en CMI redujeron el crecimiento radial, la tasa de elongación de la hifa y la esporulación.

El efecto de la CMI de CA causó un aumento en la secreción de nucleasas y en la patogenicidad de *F. vanettenii* en su interacción con *P. sativum*. Esta modificación en la interacción planta-hongo soporta la hipótesis planteada. Esto sugiere que una posible desestabilización del citoesqueleto de actina causada por CA en CMI, no afecta la secreción de nucleasas, ni la patogenicidad de *F. vanettenii* en planta.

Se recomienda realizar investigaciones a nivel molecular para confirmar los resultados obtenidos, y explorar mecanismos alternativos al citoesqueleto de actina para la secreción de nucleasas fúngicas en la patogenicidad de *F. vanettenii*. Esto generaría nuevas posibilidades para su manipulación con fines de control biotecnológico para aplicaciones médicas y agropecuarias.

## Literatura citada

- Al-Hatmi, A. M., Meis, J. F., & de Hoog, G. S. (2016). Fusarium: Molecular diversity and intrinsic drug resistance. *PLoS Pathogens*, 12(4), e1005464. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005464>
- Azor, M., Gené, J., Cano, J., & Guarro, J. (2007). Universal in vitro antifungal resistance of genetic clades of the *Fusarium solani* species complex. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(4), 1500-1503. <https://doi.org/10.1128/AAC.01618-06>
- Ben-Smith, A., Dove, S. K., Martin, A., Wakelam, M. J., & Savage, C. O. (2001). Antineutrophil cytoplasm autoantibodies from patients with systemic vasculitis activate neutrophils through distinct signaling cascades: Comparison with conventional Fcγ receptor ligation. *Blood*, 98(5), 1448-1455. <https://doi.org/10.1182/blood.v98.5.1448>
- Berends, E. T., Horswill, A. R., Haste, N. M., Monestier, M., Nizet, V., & von Köckritz-Blickwede, M. (2010). Nuclease expression by *Staphylococcus aureus* facilitates escape from neutrophil extracellular traps. *Journal of Innate Immunity*, 2(6), 576-586. <https://doi.org/10.1159/000319909>
- Berepiki, A., Lichius, A., & Read, N. D. (2011). Actin organization and dynamics in filamentous fungi. *Nature Reviews Microbiology*, 9(12), 876-887. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2666>
- Berepiki, A., Lichius, A., Shoji, J. Y., Tilsner, J., & Read, N. D. (2010). F-actin dynamics in *Neurospora crassa*. *Eukaryotic Cell*, 9(4), 547-557. <https://doi.org/10.1128/EC.00336-09>
- Borregaard, N. (2010). Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*, 33(5). <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.11.011>
- Brinkmann, V., & Zychlinsky, A. (2012). Neutrophil extracellular traps: Is immunity the second function of chromatin? *Journal of Cell Biology*, 198(5), 773-783. <https://doi.org/10.1083/jcb.201203170>
- Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., Weinrauch, Y., & Zychlinsky, A. (2004). Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 303(5663), 1532-1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- Bruns, S., Kniemeyer, O., Hasenberg, M., Aimaganianda, V., Nietzsche, S., Thywissen, A., Jeron, A., Latgé, J. P., Brakhage, A. A., & Gunzer, M. (2010). Production of extracellular traps against *Aspergillus fumigatus* in vitro and in infected lung tissue is dependent on invading neutrophils and influenced by hydrophobin RodA. *PLoS Pathogens*, 6(4), e1000873. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000873>
- Cairns, T. C., Zheng, X., Zheng, P., Sun, J., & Meyer, V. (2021). Turning inside out: Filamentous fungal secretion and its applications in biotechnology, agriculture, and the clinic. *Journal of Fungi (Basel)*, 7(7), 535. <https://doi.org/10.3390/jof7070535>
- Casadevall, A., Nosanchuk, J. D., Williamson, P., & Rodrigues, M. L. (2009). Vesicular transport across the fungal cell wall. *Trends in Microbiology*, 17(4), 158-162. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.12.005>
- Castaño-Zapata, J. (2009). Enfermedades importantes de las pasifloráceas en Colombia. En D. Miranda, G. Fischer, C. Carranza, S. Magnitskiy, F. Casierra, W. Piedrahíta, L. Flórez (Eds.), *Cultivo, poscosecha*

- y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: Maracuyá, granadilla, gulupa y curuba (pp. 223-245). *Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas*.
- Castaño-Zapata, J. (2015). Principios básicos de hongos fitopatógenos. *Centro Editorial Universidad de Caldas*.
- Chaponnier, C., Janmey, P. A., & Yin, H. L. (1986). The actin filament-severing domain of plasma gelsolin. *Journal of Cell Biology*, *103*, 1473–1481.
- Cooper, J. A. (1987). Effects of cytochalasin and phalloidin on actin. *The Journal of Cell Biology*, *105*(4), 1473–1478. <https://doi.org/10.1083/jcb.105.4.1473>
- Coué, M., Brenner, S. L., Spector, I., & Korn, E. D. (1987). Inhibition of actin polymerization by latrunculin A. *FEBS Letters*, *213*(2), 316–318. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(87\)81513-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(87)81513-2)
- Curlango-Rivera, G. (2014). Signals controlling extracellular trap formation in plant and animal immune responses. *Clinical Microbiology*, *03*(05). <https://doi.org/10.4172/2327-5073.1000166>
- Coleman, J. J., Rounsley, S. D., Rodriguez-Carres, M., Kuo, A., Wasmann, C. C., Grimwood, J., Schmutz, J., Taga, M., White, G. J., Zhou, S., Schwartz, D. C., Freitag, M., Ma, L. J., Danchin, E. G., Henrissat, B., Coutinho, P. M., Nelson, D. R., Straney, D., Napoli, C. A., Barker, B. M., Gribskov, M., Rep, M., Kroken, S., Molnár, I., Rensing, C., Kennell, J. C., Zamora, J., Farman, M. L., Selker, E. U., Salamov, A., Shapiro, H., Pangilinan, J., Lindquist, E., Lamers, C., Grigoriev, I. V., Geiser, D. M., Covert, S. F., Temporini, E., & Vanetten, H. D. (2009). The genome of *Nectria haematococca*: Contribution of supernumerary chromosomes to gene expansion. *PLoS Genetics*, *5*(8), e1000618. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000618>
- Coleman, J. J. (2016). The *Fusarium solani* species complex: Ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Molecular Plant Pathology*, *17*(2), 146-158. <https://doi.org/10.1111/mpp.12289>
- Dagdas, Y. F., Yoshino, K., Dagdas, G., Ryder, L. S., Bielska, E., Steinberg, G., & Talbot, N. J. (2012). Septin-mediated plant cell invasion by the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Science*, *336*(6088), 1590-1595. <https://doi.org/10.1126/science.1222934>
- Delgado-Álvarez, D. L., Bartnicki-García, S., Seiler, S., & Mouriño-Pérez, R. R. (2014). Septum development in *Neurospora crassa*: The septal actomyosin tangle. *PLoS ONE*, *9*(5), e96744. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096744>
- Delgado-Alvarez, D. L., Callejas-Negrete, O. A., Gómez, N., Freitag, M., Roberson, R. W., Smith, L. G., & Mouriño-Pérez, R. R. (2010). Visualization of F-actin localization and dynamics with live cell markers in *Neurospora crassa*. *Fungal Genetics and Biology*, *47*(7), 573-586. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.03.004>
- Demers, M., Wong, S. L., Martinod, K., Gallant, M., Cabral, J. E., Wang, Y., & Wagner, D. D. (2016). Priming of neutrophils toward NETosis promotes tumor growth. *Oncoimmunology*, *5*(5). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1134073>
- Desjardins, A. E., & Proctor, R. H. (2007). Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, *119*(1-2), 47-50. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.024>

- Dhar, P., & Kaur, G. (2010). Cuticle-degrading proteases produced by *Metarhizium anisopliae* and their induction in different media. *Indian Journal of Microbiology*, *50*(4), 449–455. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0098-1>
- Di Pietro, A., García-MacEira, F. I., Męglecz, E., & Roncero, M. I. (2001). A MAP kinase of the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* is essential for root penetration and pathogenesis. *Molecular Microbiology*, *39*(5), 1140-1152. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02327.x>
- Dinsdale, R. J., Hazeldine, J., Al Tarrah, K., Hampson, P., Devi, A., Ermogenous, C., Bamford, A. L., Bishop, J., Watts, S., Kirkman, E., Dalle Lucca, J. J., Midwinter, M., Woolley, T., Foster, M., Lord, J. M., Moiemmen, N., & Harrison, P. (2020). Dysregulation of the actin scavenging system and inhibition of DNase activity following severe thermal injury. *British Journal of Surgery*, *107*(4), 391-401. <https://doi.org/10.1002/bjs.11515>
- Douda, D. N., Yip, L., Khan, M. A., Grasemann, H., & Palaniyar, N. (2014). Akt is essential to induce NADPH-dependent NETosis and to switch the neutrophil death to apoptosis. *Blood*, *123*(4), 597-600. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-526707>
- Duggan, S., Essig, F., Hünninger, K., Mokhtari, Z., Bauer, L., Lehnert, T., Brandes, S., Häder, A., Jacobsen, I. D., Martin, R., Figge, M. T., Kurzai, O. (2015). Neutrophil activation by *Candida glabrata* but not *Candida albicans* promotes fungal uptake by monocytes. *Cellular Microbiology*, *17*(9), 1259-1276. <https://doi.org/10.1111/cmi.12443>
- Eulitz, D., & Mannherz, H. G. (2007). Inhibition of deoxyribonuclease I by actin is to protect cells from premature cell death. *Apoptosis*, *12*(8), 1511-1521. <https://doi.org/10.1007/s10495-007-0078-4>
- Gasca Venegas, A. (2023). Papel del citoesqueleto de actina en la organización celular del hongo entomopatógeno *Metarhizium brunneum*. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B. C.
- Geiser, D. M., Al-Hatmi, A. M. S., Aoki, T., Arie, T., Balmas, V., Barnes, I., Bergstrom, G. C., Bhattacharyya, M. K., Blomquist, C. L., Bowden, R. L., Brankovics, B., Brown, D. W., Burgess, L. W., Bushley, K., Busman, M., Cano-Lira, J. F., Carrillo, J. D., Chang, H. X., Chen, C. Y., ... Zhang, X. (2021). Phylogenomic analysis of a 55.1-kb 19-gene dataset resolves a monophyletic *Fusarium* that includes the *Fusarium solani* species complex. *Phytopathology*, *111*(7), 1064–1079. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-20-0330-LE>
- Guimarães-Costa, A. B., Nascimento, M. T. C., Wardini, A. B., Pinto-da-Silva, L. H., & Saraiva, E. M. (2014). ETosis: A microbicidal mechanism beyond cell death. *Journal of Parasitology Research*, *2014*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/959807>
- Gunawardena, U., & Hawes, M. C. (2002). Tissue specific localization of root infection by fungal pathogens: Role of root border cells. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *15*(11), 1128-1136. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.11.1128>
- Gabriel, C., McMaster, W. R., Girard, D., & Descoteaux, A. (2010). *Leishmania donovani* promastigotes evade the antimicrobial activity of neutrophil extracellular traps. *Journal of Immunology*, *185*(7), 4319-4327. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000893>
- García Bayona, L., Grajales, A., Cárdenas, M. E., Sierra, R., Lozano, G., Garavito, M. F., Cepero de García, M. C., Bernal, A., Jiménez, P., & Restrepo, S. (2011). Isolation and characterization of two strains of

- Fusarium oxysporum* causing potato dry rot in *Solanum tuberosum* in Colombia. *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(4), 166-172. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.03.007>
- Gurunathan, S., Kang, M. H., Jeyaraj, M., Qasim, M., & Kim, J. H. (2019). Review of the isolation, characterization, biological function, and multifarious therapeutic approaches of exosomes. *Cells*, 8(4), 307. <https://doi.org/10.3390/cells8040307>
- Hadwiger, L. A. (2015). Anatomy of a nonhost disease resistance response of pea to *Fusarium solani*: PR gene elicitation via DNase, chitosan and chromatin alterations. *Frontiers in Plant Science*, 6, 373. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00373>
- Hadwiger, L. A., Chang, M. M., & Parsons, M. A. (1995). *Fusarium solani* DNase is a signal for increasing expression of nonhost disease resistance response genes, hypersensitivity, and pisatin production. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 8(6), 871-879. <https://doi.org/10.1094/mpmi-8-0871>
- Hawes, M. C., Curlango-Rivera, G., Wen, F., White, G. J., VanEtten, H. D., *et al.* (2011). Extracellular DNA: The tip of root defenses? *Plant Science*, 180, 741-745. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.01.004>
- Hawes, M. C., Brigham, L. A., Wen, F., Woo, H. H., & Zhu, Y. (1998). Function of root border cells in plant health: Pioneers in the rhizosphere. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 311-327. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.311>
- Hawes, S. W., Chahal, R., Hallquist, M. N., Paulsen, D. J., Geier, C. F., & Luna, B. (2017). Modulation of reward-related neural activation on sensation seeking across development. *NeuroImage*, 147, 763-771. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.12.020>
- Hickey, P. C., Jacobson, D., Read, N. D., & Glass, L. N. (2004). Live-cell imaging of vegetative hyphal fusion in *Neurospora crassa*. *Fungal Genetics and Biology*, 41(6), 592-603. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.02.003>
- Janeway, C. A., Jr., & Medzhitov, R. (2002). Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology*, 20, 197-216. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359>
- National Institutes of Health (US). (2007). *Understanding emerging and re-emerging infectious diseases*. NIH Curriculum Supplement Series. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20370/>
- Lacks, S. A. (1981). Deoxyribonuclease I in mammalian tissues. Specificity of inhibition by actin. *Journal of Biological Chemistry*, 256(6), 2644-2648. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)42263-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)42263-X)
- Lightner, D. V., & Redman, R. M. (1976). Host-symbiont relationships: Understanding the change from commensalism to parasitism. *Journal of Invertebrate Pathology*, 27(3), 377-382. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(76\)90031-8](https://doi.org/10.1016/0022-2011(76)90031-8)
- López-Berges, M. S., Rispaill, N., Prados-Rosales, R. C., & Di Pietro, A. (2010). A nitrogen response pathway regulates virulence functions in *Fusarium oxysporum* via the protein kinase TOR and the bZIP protein MeaB. *Plant Cell*, 22(7), 2459-2475. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.075937>

- Lazarides, E., & Lindberg, U. (1974). Actin is the naturally occurring inhibitor of deoxyribonuclease I. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71(12), 4742-4746. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.12.4742>
- Liew, P., & Kubes, P. (2019). The neutrophil's role during health and disease. *Physiological Reviews*, 99(2), 1223-1248. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2018>
- Litman, G. W., Cannon, J. P., & Dishaw, L. J. (2007). The evolution of vertebrate Toll-like receptors. *Journal of Leukocyte Biology*, 82(2), 317-321. <https://doi.org/10.1189/jlb.1206713109-147>
- Liu, M. L., Lyu, X., & Werth, V. P. (2022). Recent progress in the mechanistic understanding of NET formation in neutrophils. *FEBS Journal*, 289(14), 3954-3966. <https://doi.org/10.1111/febs.16036>
- Lin, X., & Momany, M. (2004). Identification and complementation of abnormal hyphal branch mutants ahbA1 and ahbB1 in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genetics and Biology*, 41(11), 998-1006. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.07.005>
- Metzler, D. E., & Metzler, C. M. (2014). *Biochemistry: The chemical reactions of living cells* (2nd ed.). Academic Press.
- Miller, J. D. (2001). Factors that affect the occurrence of fumonisin. *Environmental Health Perspectives*, 109(Suppl 2), 321-324. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s2321>
- Mulcahy, H., Charron-Mazenod, L., & Lewenza, S. (2010). *Pseudomonas aeruginosa* produces an extracellular deoxyribonuclease that is required for utilization of DNA as a nutrient source. *Environmental Microbiology*, 12(6), 1621-1629. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02208.x>
- Momany, M. (2002). Polarity in filamentous fungi: establishment, maintenance, and new axes. *Current Opinion in Microbiology*, 5(6), 580-585. [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(02\)00368-5](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(02)00368-5)
- McKinney, E. F., & Smith, K. G. C. (2018). Metabolic exhaustion in infection, cancer, and autoimmunity. *Nature Immunology*, 21, 213-221. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0045-y>
- Metzler, K. D., Goosmann, C., Lubojemska, A., Zychlinsky, A., & Papayannopoulos, V. (2012). A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis. *Cell Reports*, 8(3), 883-896. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.06.044>
- Minh Tran, T., MacIntyre, A., Khokhani, D., Hawes, M., & Allen, C. (2016). Extracellular DNases of *Ralstonia solanacearum* modulate biofilms and facilitate bacterial wilt virulence. *Environmental Microbiology*, 18(11), 4103-4117. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13446>
- MacLean-Fletcher, S., & Pollard, T. D. (1980). Identification of a factor in conventional muscle actin preparations which inhibits actin filament self-association. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 96(1), 18-27. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(80\)91175-4](https://doi.org/10.1016/0006-291X(80)91175-4)
- National Institutes of Health (US). (2007). Understanding emerging and re-emerging infectious diseases. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20370/>
- Nelson, P. E., Dignani, M. C., & Anaissie, E. J. (1994). Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4), 479-504. <https://doi.org/10.1128/CMR.7.4.479>

- Neofytos, D., Horn, D., Anaissie, E., Steinbach, W., Olyaei, A., Fishman, J., Pfaller, M., Chang, C., Webster, K., & Marr, K. (2009). Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: Analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clinical Infectious Diseases*, 48(3), 265-273. <https://doi.org/10.1086/595846>
- Nucci, M., & Anaissie, E. (2007). Fusarium infections in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4), 695–704. <https://doi.org/10.1128/CMR.00014-07>
- Nicolás-Ávila, J. Á., Adrover, J. M., & Hidalgo, A. (2017). Neutrophils in homeostasis, immunity, and cancer. *Immunity*, 46(1), 15-28. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.12.012>
- Norn, S., Permin, H., Kruse, P. R., & Kruse, E. (2009). Fra pilebark til acetylsalicylsyre [From willow bark to acetylsalicylic acid]. *Dansk Medicinhistorisk Arbog*, 37, 79–98. PMID: 20509453
- O'Donnell, K., Al-Hatmi, A. M. S., Aoki, T., Brankovics, B., Cano-Lira, J. F., Coleman, J. J., de Hoog, G. S., Di Pietro, A., Frandsen, R. J. N., Geiser, D. M., Gibas, C. F. C., Guarro, J., Kim, H. S., Kistler, H. C., Laraba, I., Leslie, J. F., López-Berges, M. S., Lysøe, E., Meis, J. F., Monod, M., Proctor, R. H., Rep, M., Ruiz-Roldán, C., Šišić, A., Stajich, J. E., Steenkamp, E. T., Summerell, B. A., van der Lee, T. A. J., van Diepeningen, A. D., Verweij, P. E., Waalwijk, C., Ward, T. J., Wickes, B. L., Wiederhold, N. P., Wingfield, M. J., Zhang, N., & Zhang, S. X. (2020). No to Neocosmospora: Phylogenomic and practical reasons for continued inclusion of the *Fusarium solani* species complex in the genus *Fusarium*. *mSphere*, 5(5), e00810-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00810-20>
- Ondracek, A., & Lang, I. (2021). Neutrophil extracellular traps as prognostic markers in COVID-19. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 41(2), 995-998. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.315633>
- Ortiz, E., & Hoyos, L. (2012). Description of the symptomatology associated with fusariosis and its comparison with other diseases for the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) in the Sumapaz region (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 6(1), 110-116. <https://doi.org/10.17584/rcch.2012v6i1.1452>
- Ortiz, E., Cruz, M., Melgarejo, L. M., Marquínez, X., & Hoyos-Carvajal, L. (2014). Histopathological features of infections caused by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* in purple passionfruit plants (*Passiflora edulis* Sims). *Summa Phytopathologica*, 40(2), 134-140. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2644>
- Pollard, T. D., & Cooper, J. A. (1986). Actin and actin-binding proteins. A critical evaluation of mechanisms and functions. *Annual Review of Biochemistry*, 55, 987–1035. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.55.070186.005011>
- Park, H. J., Wang, W., Curlango-Rivera, G., Xiong, Z., Lin, Z., Huskey, D. A., Hawes, M. C., VanEtten, H. D., & Turgeon, B. G. (2019). A DNase from a fungal phytopathogen is a virulence factor likely deployed as counter defense against host-secreted extracellular DNA. *mBio*, 10(2), e02805-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.02805-18>
- Rodrigues, M. L., Nimrichter, L., Oliveira, D. L., Frases, S., Miranda, K., Zaragoza, O., Alvarez, M., Nakouzi, A., Feldmesser, M., & Casadevall, A. (2007). Vesicular polysaccharide export in *Cryptococcus neoformans* is a eukaryotic solution to the problem of fungal trans-cell wall transport. *Eukaryotic Cell*, 6(1), 48-59. <https://doi.org/10.1128/EC.00318-06>

- Sampath, P., & Pollard, T. D. (1991). Effects of cytochalasin, phalloidin, and pH on the elongation of actin filaments. *Biochemistry*, *30*(7), 1973-1980. <https://doi.org/10.1021/bi00221a034>
- Shimada, O., Ishikawa, H., Tosaka-Shimada, H., Yasuda, T., Kishi, K., & Suzuki, S. (1998). Detection of deoxyribonuclease I along the secretory pathway in Paneth cells of human small intestine. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *46*(7), 833-840. <https://doi.org/10.1177/002215549804600706>
- Smith, A. L. (1993). Bacterial meningitis. *Pediatrics in Review*, *14*(1), 11–18. <https://doi.org/10.1542/pir.14-1-11>
- Spector, I., Shochet, N. R., Blasberger, D., & Kashman, Y. (1989). Latrunculins—novel marine macrolides that disrupt microfilament organization and affect cell growth: I. Comparison with cytochalasin D. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, *13*(3), 127-144. <https://doi.org/10.1002/cm.970130302>
- Spolti, P., Del Ponte, E. M., Dong, Y., Cummings, J. A., & Bergstrom, G. C. (2014). Triazole sensitivity in a contemporary population of *Fusarium graminearum* from New York wheat and competitiveness of a tebuconazole-resistant isolate. *Plant Disease*, *98*(5), 607-613. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1051-RE>
- St Leger, R. J., Joshi, L., & Roberts, D. (1998). Ambient pH is a major determinant in the expression of cuticle-degrading enzymes and hydrophobin by *Metarhizium anisopliae*. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(2), 709-713. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.2.709-713.1998>
- Sumby, P., Barbian, K. D., Gardner, D. J., Whitney, A. R., Welty, D. M., Long, R. D., ... & Musser, J. M. (2005). Extracellular deoxyribonuclease made by group A *Streptococcus* assists pathogenesis by enhancing evasion of the innate immune response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(5), 1679-1684. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406641102>
- Szturmowicz, M., & Demkow, U. (2021). Neutrophil extracellular traps (NETs) in severe SARS-CoV-2 lung disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(16), 8854. <https://doi.org/10.3390/ijms22168854>
- Takeshita, H., Nakajima, T., Mogi, K., Kaneko, Y., Yasuda, T., Iida, R., & Kishi, K. (2004). Rapid quantification of DNase I activity in one-microliter serum samples. *Clinical Chemistry*, *50*(2), 446–448. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.025304>
- Torrallba, S., Raudaskoski, M., Pedregosa, A. M., & Laborda, F. (1998). Effect of cytochalasin A on apical growth, actin cytoskeleton, and secretion in *Aspergillus nidulans*. *Microbiology*, *144*(1), 45–53. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-1-45>
- Turrà, D., El Ghalid, M., Rossi, F., & Di Pietro, A. (2015). Fungal pathogen uses sex pheromone receptor for chemotropic sensing of host plant signals. *Nature*, *527*(7579), 521–524. <https://doi.org/10.1038/nature15516>
- Tucker, S. L., & Talbot, N. J. (2001). Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, *39*, 385–417. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.385>
- Takei, H., Araki, A., Watanabe, H., Ichinose, A., & Sendo, F. (1996). Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different

- from typical apoptosis or necrosis. *Journal of Leukocyte Biology*, 59(2), 229–240. <https://doi.org/10.1002/jlb.59.2.229>
- Trigo-Stockli, D. M., Obaldo, L. G., & Dominy, W. G. (2000). Utilization of deoxynivalenol-contaminated hard red winter wheat for shrimp feeds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 31(2), 247–254. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2000.tb00360.x>
- Tibayrenc, M. (Ed.). (2006). *Encyclopedia of Infectious Diseases: Modern Methodologies*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/0470114207>
- Upadhyay, A. (2020). Cancer: An unknown territory; rethinking before going ahead. *Genes and Diseases*, 8(5), 655–661. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.09.002>
- United Nations. (2023). Las muertes por COVID-19 sumarían 15 millones entre 2020 y 2021 | Naciones Unidas. <https://www.un.org/es/desa/las-muertes-por-covid-19-sumar%C3%ADan-15-millones-entre-2020-y-2021#:~:text=Las%20muertes%20por%20COVID%2D19,2020%20y%202021%20%7C%20Naciones%20Unidas>
- Urban, C. F., Ermert, D., Schmid, M., Abu-Abed, U., Goosmann, C., Nacken, W., Brinkmann, V., Jungblut, P. R., & Zychlinsky, A. (2009). Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathogens*, 5(10), e1000639. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000639>
- Urban, C. F., Reichard, U., Brinkmann, V., & Zychlinsky, A. (2006). Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cellular Microbiology*, 8(4), 668–676. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00659.x>
- van Diepeningen, A. D., Feng, P., Ahmed, S., Sudhadham, M., Bunyaratavej, S., & de Hoog, G. S. (2015). Spectrum of *Fusarium* infections in tropical dermatology evidenced by multilocus sequencing typing diagnostics. *Mycoses*, 58(1), 48–57. <https://doi.org/10.1111/myc.12273>
- Yipp, B. G., & Kubes, P. (2013). NETosis: How vital is it? *Blood*, 122(16), 2784–2794. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-457671>
- Yang, B., Wang, Y., Tian, M., Dai, K., Zheng, W., Liu, Z., Yang, S., Liu, X., Shi, D., Zhang, H., Wang, Y., Ye, W., & Wang, Y. (2021). Fg12 ribonuclease secretion contributes to *Fusarium graminearum* virulence and induces plant cell death. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(2), 365–377. <https://doi.org/10.1111/jipb.12997>
- Wakatsuki, T., Schwab, B., Thompson, N. C., & Elson, E. L. (2001). Effects of cytochalasin D and latrunculin B on mechanical properties of cells. *Journal of Cell Science*, 114(5), 1025–1036.
- Wen, F., Curlango-Rivera, G., & Hawes, M. C. (2007). Proteins among the polysaccharides: A new perspective on root cap slime. *Plant Signaling & Behavior*, 2, 410–412.
- Wen, F., White, G. J., VanEtten, H. D., Xiong, Z., & Hawes, M. C. (2009). Extracellular DNA is required for root tip resistance to fungal infection. *Plant Physiology*, 151(2), 820–829. <https://doi.org/10.1104/pp.109.142067>

- Wen, F., White, G. J., VanEtten, H. D., Xiong, Z., & Hawes, M. C. (2009). Extracellular DNA is required for root tip resistance to fungal infection. *Plant Physiology*, *151*(2), 820-829. <https://doi.org/10.1104/pp.109.142067>
- Wen, P. Y., Chang, S. M., Van den Bent, M. J., Vogelbaum, M. A., Macdonald, D. R., & Lee, E. Q. (2017). Response assessment in neuro-oncology clinical trials. *Journal of Clinical Oncology*, *35*(21), 2439-2449. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.72.7511>
- Wiseman, M. O., Price, R. L., Lightner, D. V., & Williams, R. R. (1982). Toxicity of aflatoxin B1 to penaeid shrimp. *Applied and Environmental Microbiology*, *44*(6), 1479-1481. <https://doi.org/10.1128/aem.44.6.1479-1481.1982>
- Wolf, J. M., Espadas-Moreno, J., Luque-Garcia, J. L., & Casadevall, A. (2014). Interaction of *Cryptococcus neoformans* extracellular vesicles with the cell wall. *Eukaryotic Cell*, *13*(12), 1484-1493. <https://doi.org/10.1128/EC.00111-14>
- World Health Organization. (2023). Infections and infectious diseases: A manual for nurses and midwives in the WHO European Region. [http://www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0013/102316/e79822.pdf](http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0013/102316/e79822.pdf)
- Yang, C., Li, J., Chen, X., Zhang, X., Liao, D., Yun, Y., Zheng, W., Abubakar, Y. S., Li, G., Wang, Z., & Zhou, J. (2020). FgVps9, a Rab5 GEF, is critical for DON biosynthesis and pathogenicity in *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 1714. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01714>
- Yipp, B. G., & Kubes, P. (2013). NETosis: How vital is it? *Blood*, *122*(16), 2784-2794. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-457671>
- Zamith-Miranda, D., Nimrichter, L., Rodrigues, M. L., & Nosanchuk, J. D. (2018). Fungal extracellular vesicles: Modulating host-pathogen interactions by both the fungus and the host. *Microbes and Infection*, *20*(9-10), 501-504. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2018.01.011>
- Zhang, B. B., Yao, Y. Y., Zhang, H. F., Kawakami, K., & Du, J. L. (2017). Left habenula mediates light-preference behavior in zebrafish via an asymmetrical visual pathway. *Neuron*, *93*(4), 914-928.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.01.011>
- Zhang, N., O'Donnell, K., Sutton, D. A., Nalim, F. A., Summerbell, R. C., Padhye, A. A., & Geiser, D. M. (2006). Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *Journal of Clinical Microbiology*, *44*(6), 2186-2190. <https://doi.org/10.1128/JCM.00120-06>
- Zheng, X., Zhu, Y., Liu, C., Liu, H., Giesy, J. P., Hecker, M., Lam, M. H., & Yu, H. (2012). Accumulation and biotransformation of BDE-47 by zebrafish larvae and teratogenicity and expression of genes along the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Environmental Science & Technology*, *46*(23), 12943-12951. <https://doi.org/10.1021/es302402d>
- Zhao, B., He, D., & Wang, L. (2021). Advances in *Fusarium* drug resistance research. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *24*, 215-219. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.12.016>

## Anexos

**Tabla 24.** Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Latrunculina B (Lat B), 14 días posinoculación. Síntomas visuales.

Tratamiento	Síntomas de pudrición de la raíz (%) <sup>1</sup>					Grado de severidad <sup>2</sup>
	Sin síntoma	Leve	Moderado	Fuerte	Severo	
H <sub>2</sub> O	100	-	-	-	-	0 ± 0 <sup>a</sup>
<i>F. vanettenii</i>	-	39	33	22	6	1.9 ± 0.9 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + Lat B (0.02 µg/mL)	-	22	44	22	11	2.2 ± 0.9 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + Lat B (0.1 µg/mL)	-	27	50	17	6	2 ± 0.8 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan el porcentaje de plántulas con síntomas de pudrición de raíz (n=18).

<sup>2</sup>Los valores representan el promedio del grado de severidad ± desviación estándar por tratamiento (n=18). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

(-) = 0.

**Tabla 25.** Severidad de los síntomas en *P. sativum* causados por *F. vanettenii* en tratamiento con Citocalasina A (CA), 14 días posinoculación. Síntomas visuales.

Tratamiento	Síntomas de pudrición de la raíz (%) <sup>1</sup>					Grado de severidad <sup>2</sup>
	Sin síntoma	Leve	Moderado	Fuerte	Severo	
H <sub>2</sub> O	100	-	-	-	-	0 ± 0 <sup>a</sup>
<i>F. vanettenii</i>	-	17	44	33	6	2.3 ± 0.8 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + CA (5 µg/mL)	-	-	17	56	27	3.1 ± 0.7 <sup>b</sup>
<i>F. vanettenii</i> + CA (20 µg/mL)	-	11	28	44	17	2.6 ± 0.9 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Los valores representan el porcentaje de plántulas con síntomas de pudrición de raíz (n=18).

<sup>2</sup>Los valores representan el promedio del grado de severidad ± desviación estándar por tratamiento (n=18). Valores con diferentes superíndices representan diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

(-) = 0.