

IDENTIFICACIÓN E INCIDENCIA DE TRES HONGOS FITOPATÓGENOS, DE REPORTE NUEVO, EN AVENA (*Avena sativa* L.) EN LA MESETA CENTRAL DE MÉXICO

IDENTIFICATION AND INCIDENCE OF THREE PHYTOPATHOGENIC FUNGI OF NEW REPORT ON OAT (*Avena sativa* L.) AT MEXICO'S CENTRAL PLATEAU

Elizabeth **García-León**¹, S. Gerardo **Leyva-Mir**², H. Eduardo **Villaseñor-Mir**³,
M. Florencia **Rodríguez-García**³, J. Manuel **Tovar-Pedraza**^{1*}

¹Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. ²Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México. ³Campo Experimental del Valle de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 56250. Los Reyes-Textcoco, Coatlinchán, Estado de México.

RESUMEN

La roya del tallo y la roya de la corona en el cultivo de avena (*Avena sativa* L.) son las enfermedades más destructivas en casi todo el mundo. Además, aumenta la incidencia de las enfermedades foliares causadas por un complejo de hongos patógenos. Durante los ciclos agrícolas primavera-verano de 2009 y 2010, síntomas severos de tizones foliares se observaron en lotes comerciales sembrados con avena en los estados de Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Morelos, Estado de México y Distrito Federal, México. Los objetivos de este estudio fueron identificar los agentes causales de los tizones foliares de la avena, así como determinar su incidencia y distribución en los valles altos de la Meseta Central de México. Hojas con síntomas de tizón foliar se recolectaron de 63 sitios en el ciclo 2009 y 100 sitios en el 2010. La determinación de los agentes causales de las enfermedades se realizó mediante los postulados de Koch. A través de un análisis morfológico, molecular y pruebas de patogenicidad se identificó a *Alternaria alternata*, *Bipolaris victoriae* y *Bipolaris sorokiniana* como los agentes causales de los tizones foliares. Las frecuencias de los hongos fueron 20.85, 12.26 y 9.2 % del total de los sitios visitados. Este es el primer reporte de estas especies de hongos fitopatógenos para México en avena. La incidencia de los tres hongos fue mayor en el ciclo 2010 y su distribución abarcó campos de avena en Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México y Distrito Federal. La importancia de la presencia de estos hongos es que son patógenos que pueden disminuir la producción y producen micotoxinas dañinas para el ganado que consume la avena como forraje.

ABSTRACT

Stem rust and crown rust in oat crops (*Avena sativa* L.) are the most destructive diseases in most of the world. In addition, the incidence of foliar diseases caused by a complex of pathogen fungi is increasing. During the spring-summer agricultural cycles in 2009 and 2010, severe symptoms of leaf blight were observed in commercial plots sown with oat, at the states of Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Morelos, Estado de México and Distrito Federal, México. The objectives of this study were to identify the causal agents of leaf blight in oats, as well as to determine their incidence and distribution in the high valleys of México's Central Plateau. Leaves with leaf blight symptoms were collected from 63 sites during the 2009 cycle and 100 sites in 2010. The determination of causal agents of the diseases was performed through Koch postulates. Using a morphological and molecular analysis, as well as pathogenicity tests, *Alternaria alternata*, *Bipolaris victoriae* and *Bipolaris sorokiniana* were identified as the causal agents for leaf blight. The frequencies of fungi were 20.85, 12.26 and 9.2 % of the total of sites visited. This is the first report of these species of phytopathogenic fungi on oat at México. The incidence of the three fungi was greater in the 2010 cycle and its distribution was in oat fields of Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México, and Distrito Federal. The importance of the presence of these fungi is that they are pathogens that can decrease production and produce mycotoxins that are harmful to livestock consuming oat as fodder.

Keyword: *Avena sativa*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris victoriae*, *Bipolaris sorokiniana*, *Cochliobolus*.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: abril, 2013. Aprobado: octubre, 2013.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 47: 815-827. 2013.

Palabras clave: *Avena sativa*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris victoriae*, *Bipolaris sorokiniana*, *Cochliobolus*.

INTRODUCCIÓN

En México la superficie sembrada con avena (*Avena sativa* L.) ha aumentado, aunque no se produce suficiente para abastecer las demandas, pues existe 50 % de déficit (SIAP, 2012). El área sembrada con avena en México en 2011 fue 1 004 526 ha (SIAP, 2012), distribuidas en todas las zonas agrícolas del país. Por su adaptación a condiciones ambientales diversas, la avena se considera un cultivo alternativo en los valles altos y en la región semiárida del norte-centro, particularmente cuando el inicio del período de lluvias se atrasa o la temperatura baja, pues la siembra de los cultivos tradicionales, como maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), se pone en riesgo (Villaseñor-Mir *et al.*, 2003).

La roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Eriks. & Henn.) y la roya de la corona (*Puccinia coronata* Fraser & Led.) en avena son las enfermedades más destructivas en casi todo el mundo. Las royas afectan significativamente la producción y la calidad del grano de avena en los valles altos de la Meseta Central de México (Leyva-Mir *et al.*, 2004; Villaseñor-Mir *et al.*, 2009); sin embargo, se conoce poco del complejo de patógenos (*Bipolaris* spp., *Drechslera* spp. y *Alternaria* spp.) causantes de manchas y tizones foliares. Según Zillinsky (1983), en infecciones severas causadas por el complejo de patógenos foliares en cereales de grano pequeño puede presentarse atraso del crecimiento de las plantas, manchado oscuro de los embriones y disminución del rendimiento del grano.

La avena, como otros cereales, es una de las alternativas principales para la rotación de cultivos, porque es poco susceptible al complejo de patógenos causantes de manchas y tizones foliares comunes en trigo y cebada (Casa y Reis, 2000). Sin embargo, en México hay incidencia y severidad alta de enfermedades ocasionadas por este complejo de hongos. Los objetivos de este estudio fueron identificar los agentes causantes de tizones foliares de la avena y determinar su incidencia en los valles altos de la Meseta Central de México.

INTRODUCTION

In México, the surface sown with oat (*Avena sativa* L.) has increased, although not enough is produced to meet the demand, for there is a 50 % deficit (SIAP, 2012). The area sown with oat in México in 2011 was 1 004 526 ha (SIAP, 2012), distributed in all the agricultural zones of the country. Because of its adaptation to diverse environmental conditions, oat is considered an alternative crop in the high valleys and the semi-arid region of the north-center, particularly when the beginning of the rain period is delayed or when the temperature drops, since sowing of traditional crops such as maize (*Zea mays* L.) and beans (*Phaseolus vulgaris* L.) is put at risk (Villaseñor-Mir *et al.*, 2003).

Stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Eriks. & Henn) and crown rust (*Puccinia coronata* Fraser & Led) in oat are the most destructive diseases in most of the world. Rusts affect production significantly and the grain quality of oat in the high valleys of México's High Plateau (Leyva-Mir *et al.*, 2004; Villaseñor-Mir *et al.*, 2009); however, little is known about the complex of pathogen fungi (*Bipolaris* spp., *Drechslera* spp. and *Alternaria* spp.) that causes leaf spots and blight. According to Zillinsky (1983), in severe infections caused by the foliar pathogen complex in cereals of small grains, a delay in the growth of the plants can occur, as well as dark staining of the embryos and a decrease in grain yield.

The cultivation of oat is considered other cereals, is one of the primary alternatives for crop rotation, because it is not very susceptible to the pathogen complex that causes common leaf spots and blight in wheat and barley (Casa and Reis, 2000). However, in México, there is a high incidence and severity of oat diseases caused by the fungal species complex. The objectives of this study were to identify the causal agents of leaf blight on oat and to determine their incidence in the high valleys of México's Central Plateau.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

Leaf tissue was collected in 163 samples from the Turquesa, Karma, Chihuahua, Cevamex, Cuauhtémoc, Gema, Ópalo, Obsidiana varieties, with symptoms of spots and blight, in the

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Las 163 muestras de tejido foliar de avena fueron recolectadas de las variedades Turquesa, Karma, Chihuahua, Cevamex, Cuauhtémoc, Gema, Ópalo, Obsidiana, con síntomas de manchas y tizones, en los valles altos productores de avena de los estados de Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Morelos, Estado de México y Distrito Federal. La recolecta se realizó durante los ciclos agrícolas primavera-verano (de junio a agosto) de 2009 y 2010 (Cuadro 1). Cada muestra consistió de cinco hojas de cada uno de los 63 sitios del ciclo 2009 y 100 sitios del ciclo 2010 cuando la avena estaba en la etapa de grano lechoso-masoso próximo a la madurez. Las plantas en campo presentaban infección natural, por las condiciones (humedad relativa > 80 % y temperatura > 25 °C) que prevalecieron en las localidades. Las muestras se depositaron en bolsas de papel encerado y fueron prensadas cuidadosamente para facilitar su procesamiento en el laboratorio.

Aislamiento y purificación del patógeno

Para aislar a los patógenos presentes en el tejido foliar se indujo la esporulación en tejido enfermo, en cámara húmeda. Para esto, piezas de aproximadamente 1 cm² de cada hoja (abarcando parte asintomática y sintomática) se desinfestaron 1 min en condiciones asépticas, en una solución de hipoclorito de sodio al 3 %, 1 min, se lavaron 3 min en agua destilada estéril y se secaron en papel absorbente esterilizado. Cinco piezas de tejido foliar se colocaron en cajas petri con papel filtro humedecido con agua destilada estéril. De cada recolecta se colocaron 10 piezas distribuidas en dos cajas petri y cada pieza fue una repetición. Las muestras se incubaron 24 a 72 h a 20±2 °C, iluminadas continuamente con luz blanca. Al formarse las estructuras de reproducción de los hongos en el tejido, se obtuvieron cultivos monospóricos mediante la transferencia directa de los conidios a cajas petri, con medios de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) (Difco®, EE.UU.) y jugo de verduras (V8).

Identificación morfológica

La identificación preliminar de los hongos se basó en la morfología de la colonia y estructuras de reproducción asexual (conidios y conidióforos). Para esto, preparaciones realizadas con glicerina al 10 % se observaron en un microscopio compuesto y se registró la forma y tamaño de 25 conidióforos y 50 conidios de cada uno de los aislados obtenidos. La identificación del género se realizó con las claves de Barnett y Hunter (2006), y para identificar la especie se utilizaron las claves de Ellis (1971), Kwasna (1995) y Simmons (2007).

high valleys where oat is produced in the states of Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Morelos, Estado de México and Distrito Federal. The collection was carried out during the spring-summer agricultural cycles (from June to August) in 2009 and 2010 (Table 1). Each sample consisted of five leaves from each one of the 63 sites in the 2009 cycle and 100 sites in the 2010 cycle, when oat was in the milky-doughy stage of the grain, approaching maturity. The plants in the field presented natural infection from the conditions (relative humidity > 80 % and temperature > 25 °C) that prevailed in the localities. The samples were placed in wax paper bags and were carefully pressed to ease their processing in the laboratory.

Isolation and purification of the pathogen

To isolate the pathogens present in the leaf tissue, sporulation was induced on the sick tissue, in a wet chamber. For this, pieces of approximately 1 cm² from each leaf (covering asymptomatic and symptomatic parts) were disinfested in aseptic conditions, in a sodium hypochlorite solution at 3 % for 1 min; they were washed for 3 min in sterile distilled water and dried on sterilized absorbent paper. Five pieces of leaf tissue were placed in Petri dishes that contained filter paper moistened with sterile distilled water. From each harvest 10 pieces were placed, distributed in two Petri dishes. Each piece was one repetition. The samples were incubated from 24 to 72 h under continuous white light at 30±2 °C. When the reproductive structures were formed in the tissue, monosporic cultures were obtained through the direct transference of conidia to the Petri dishes, with culture medium of potato-dextrose-agar (PDA) (Difco®, USA) and vegetable juice (V8).

Cuadro 1. Número de sitios de recolección de muestras con síntomas de tizón foliar en campos de avena en los valles altos de México, en los ciclos primavera-verano de 2009 y 2010.

Table 1. Number of sites for sample collection with symptoms of leaf blight in oat fields in México's high valleys, during the spring-summer cycles of 2009 and 2010.

Estado	Número de sitios de recolección de muestras		
	2009	2010	Total
Tlaxcala	19	41	60
Hidalgo	15	26	41
Estado de México	20	18	38
Distrito Federal	2	9	11
Morelos	4	3	7
Puebla	3	3	6

La incidencia de cada una de las tres especies de hongos por sitio se calculó con la siguiente ecuación: $Ii = (\sum ni / Ni) \cdot 100$; donde: Ii = incidencia de cada especie de hongo en el momento i ; ni = número de muestras con presencia de cada especie de hongo en el momento i ; Ni = número total de muestras analizadas.

Pruebas de patogenicidad

La patogenicidad de un aislado representativo de cada una de las tres especies de hongos se verificó mediante la inoculación de plántulas de avena cv. Chihuahua de 15 d de edad. Para cada especie de hongos, cinco plántulas se asperjaron con una suspensión de conidios (1×10^6 esporas mL^{-1}), a la cual se agregaron 5 gotas L^{-1} de un surfactante (Sigma-Tween 20®, EE.UU.). Tres plántulas asperjadas con agua destilada estéril sirvieron como testigo. Las plántulas se mantuvieron 48 h en cámaras de crecimiento a 25 °C y humedad relativa > 95 %. Luego, las plantas se transfirieron a un invernadero (18 a 20 °C) y se registró el desarrollo de síntomas cada 24 h. La prueba de patogenicidad para cada especie de hongo se realizó dos veces.

Identificación molecular

El ADN de cada especie de hongos usados en las pruebas de patogenicidad se extrajo desde colonias miceliales de aproximadamente 10 d de crecimiento en cajas petri con medio de cultivo PDA, iluminadas continuamente con luz blanca. La extracción se realizó con el kit Plant RNA Purification Reagent (Invitrogen®, EE.UU.) de acuerdo al protocolo descrito por el fabricante: maceración de 0.1 g de micelio en un mortero a -50 °C, transferencia a un tubo de microcentrifuga, adición de 500 μL de una solución de lisis y centrifugación a 13 000 rpm por 2 min. Luego, se agregaron 100 μL de NaCl 5 M y 300 μL de cloroformo, se centrifugó 10 min a 13 000 rpm, se agregaron 400 μL de isopropanol, se colocó a -20 °C por 10 min, se agregó 1 mL de etanol frío al 70 %, se dio un pulso de vortex, se centrifugó 5 min a 10 000 rpm, se secó 15 min, se agregaron 100 μL de agua desionizada estéril y se recolectó el ADN. La presencia de ADN se comprobó con electroforesis en gel de agarosa al 0.8 %, con 0.3 mg de bromuro de etidio mL^{-1} .

Para la reacción de amplificación se utilizaron los iniciadores universales ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS5 (5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG-3') (White *et al.*, 1990). Los componentes de la reacción fueron: amortiguador (1x), MgCl_2 3 μL , DNTPs 1 μL , iniciadores 2 μL de cada uno, y Taq polimerasa 0.4 μL . Las condiciones de amplificación fueron 95 °C por 5 min, 95 °C por 1 min, 55 °C por 1 min, 72 °C por 5 min y cada una se mantuvo 30 ciclos. Luego los tubos se colocaron a 72 °C por 5 min y finalmente a 4 °C.

Morphological identification

The preliminary identification of the fungi was based on the morphology of the colony and the asexual reproduction structures (conidia and conidiophores). For this, preparations made with glycerin at 10 % were observed in a compound microscope and the shape and size of 25 conidiophores and 50 conidia, from each one of the isolates obtained, were recorded. Identification of the genus was performed with the Barnett and Hunter (2006) keys, and to identify the species the Ellis (1971), Kwasna (1995) and Simmons (2007) keys were used.

The incidence of each one of the three fungal species per site was calculated with the following equation: $Ii = (\sum ni / Ni) \cdot 100$; where: Ii = incidence of each fungal species at moment i ; ni = number of samples with presence of each fungal species at moment i ; Ni = total number of samples analyzed.

Pathogenicity tests

The pathogenicity of a representative isolate from each one of the three fungal species was verified through the inoculation of oat plants cv. Chihuahua, 15 d old. For each one of the three fungal species, five seedlings were sprinkled with a conidial suspension (1×10^6 spores mL^{-1}), to which 5 drops L^{-1} of a surfactant (Sigma-Tween 20®, USA) was added. Three seedlings sprinkled with sterile distilled water served as control. The seedlings were kept in growth chambers at 25 °C and relative humidity > 95 %, for 48 h. Then, the plants were transferred to a greenhouse (18 to 20 °C) and the development of symptoms was recorded every 24 h. The pathogenicity test for each fungal species was carried out twice.

Molecular identification

The DNA of each species of fungi used in the pathogenicity tests was extracted from mycelial colonies after approximately 10 d of growth in Petri dishes with cultivation medium PDA, continually illuminated with white light. The extraction was performed with the Plant RNA Purification Reagent kit (Invitrogen®, USA), according to the protocol described by the manufacturer: macerating 0.1 g of mycelium in a mortar at -50 °C, transferring it to a microcentrifuge tube, adding 500 μL of a lysis solution, and centrifuging at 13 000 rpm for 2 min. Later, 100 μL of NaCl 5 M and 300 μL of chloroform were added, it was centrifuged for 10 min at 13 000 rpm, 400 μL of isopropanol were added, and it was placed at -20 °C for 10 min; 1 mL of cold ethanol at 70 % was added, a pulse of vortex was given, it was centrifuged for 5 min at 10 000 rpm, dried for 15 min,

Los productos de la reacción de PCR se separaron con electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % y secuenciaron con el Genetic Analyzer modelo 3100 (Applied Biosystem®, EE.UU.). Las secuencias obtenidas se depositaron en la base de datos del GenBank (NCBI, 2012) con número de acceso JQ867017, JQ867018 y KC012912.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislados

En las muestras evaluadas se obtuvieron hongos reportados comúnmente como patógenos y saprófitos en plantas de avena (datos no mostrados). Además, se caracterizaron dos especies de *Bipolaris* y una del género *Alternaria* (Figura 1 A-C).

Identificación morfológica

Las colonias de *Alternaria* en las lesiones de las hojas presentaron cadenas largas de conidios con coloración café clara (Figura 1 D) y las de *Bipolaris* exhibieron formación abundante de conidióforos y conidios color café oscuro (Figuras 1 E, F). En medio PDA, las colonias de *Alternaria* eran negras, con crecimiento en forma de anillos concéntricos y esporulación abundante a los 6 d de incubación (Figura 1G). El análisis morfológico mostró conidióforos simples, erectos, oliváceos-café claro, de 35 a 48×3 a 4 µm, con uno o varios poros apicales; conidios formados en cadena, elipsoidales a ovoides, oliváceos-café claro, septados transversalmente (4 a 6 septos) y con pocos o ningún septo longitudinal, de 15 a 35×6 a 11 µm (Figura 1J). Todas las características coincidieron con la descripción de *A. alternata* (Fr.) Keissl. reportada por Simmons (2007). *Alternaria alternata* es la especie productora de micotoxinas más importante y se ha identificado en cereales, girasol, olivo y otros frutos (Barkai-Golan, 2008). Según Simmons (2007), las especies de *Alternaria* reportadas en avena en el mundo son: *A. alternarina*, *A. avenicola*, *A. cerealis*, *A. uredinis* y *A. utile*. Por tanto, éste es el primer reporte de *A. alternata* causando tizón foliar de la avena en campo.

Uno de los dos aislados de *Bipolaris* en V8 mostró colonias con crecimiento micelial gris oscuro, compuestas por masas densas de estructuras asexuales (Figura 1H). En microscopía de luz se observaron conidióforos solitarios y en grupos, rectos o flexuosos,

100 µL of sterile deionized water was added, and the DNA was collected. The presence of DNA was tested with electrophoresis in agarose gel at 0.8 %, with 0.3 mg of ethidium bromide mL⁻¹.

For the amplification reaction, the universal primers ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') and ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') were used (White *et al.*, 1990). The components of the reaction were: buffer (1x), MgCl₂ 3 µL, dNTPs 1 µL, primers 2 µL of each and Taq polimerase 0.4 µL. The amplification conditions were 95 °C for 5 min, 95 °C for 1 min, 55 °C for 1 min, 72 °C for 5 min and each one was maintained for 30 cycles. Then the tubes were placed at 72 °C for 5 min and finally at 4 °C.

The products of the PCR reaction were separated with electrophoresis in agarose gel at 1.5 % and sequenced with the Genetic Analyzer model 3100 (Applied Biosystem®, USA). The sequences obtained were deposited in the GenBank (NCBI, 2012) database under accession numbers JQ867017, JQ867018 and KC012912.

RESULTS AND DISCUSSION

Isolates

In the samples evaluated, fungi that are commonly reported as pathogens and saprophytes in oat plants were obtained (data not shown). In addition, two species of *Bipolaris* and one from the genus *Alternaria* were characterized (Figure 1 A-C).

Morphological identification

The colonies of *Alternaria* in the leaf lesions presented long chains of conidia with light brown coloration (Figure 1 D) and those of *Bipolaris* exhibited abundant formation of conidiophores and dark brown conidia (Figures 1 E, F). On PDA, the *Alternaria* colonies were black, with growth in the shape of concentric rings and abundant sporulation at 6 d of incubation (Figure 1 G). The morphological analysis showed simple, erect, green olive-light brown colored conidophores, from 35 to 48×3 to 4 µm, with one or several apical pores; conidia were ellipsoidal to ovoid, formed in chains, green olive-light brown, transversally septated (4 to 6 septa) and with little or none longitudinal septum, from 15 to 35×6 to 11 µm (Figure 1 J). All the characteristics coincided with the description of *A. alternata* (Fr.) Keissl., reported by Simmons (2007). *Alternaria alternata* is the most important species for mycotoxin production, and it

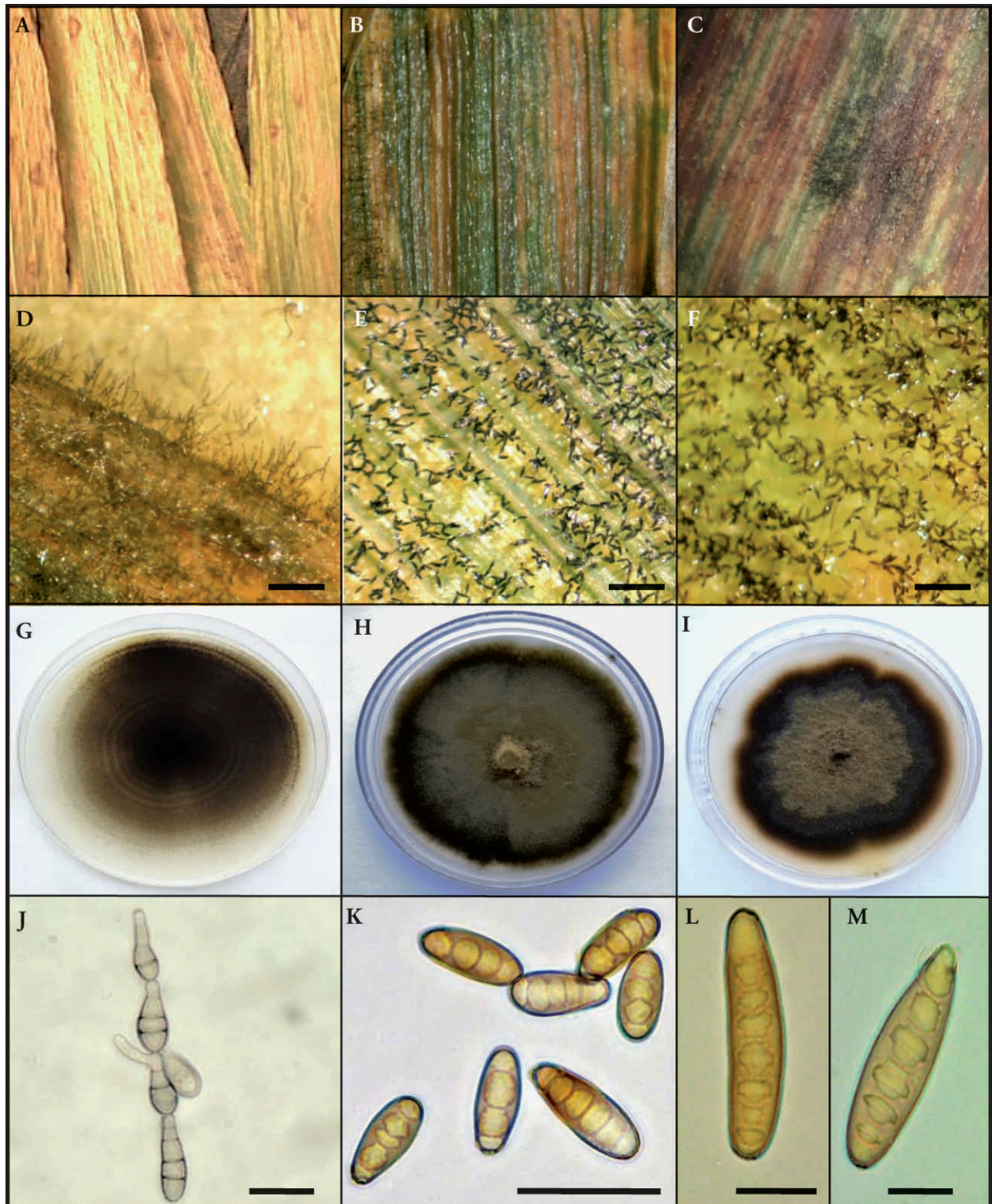


Figura 1. Síntomas, signos, colonia y conidios de *A. alternata* (A, D, G, J), *B. victoriae* (B, E, H, K) y *B. sorokiniana* (C, F, I, L, M), agentes inductores de tizón foliar en avena en México. Barras=500 μ m (D-F), 25 μ m (J), 100 μ m (K) y 25 μ m (L, M).

Figure 1. Symptoms, signs, colony and conidia of *A. alternata* (A, D, G, J), *B. victoriae* (B, E, H, K) and *B. sorokiniana* (C, F, I, L, M), inducing agents of leaf blight in oat in México. Bars=500 mm (D-F), 25 mm (J), 100 mm (K) and 25 mm (L, M).

lisos, café claro, de 190 a 235×6 a 9 μm ; conidios fusiformes, ligeramente curvos, con 5 a 7 septos, café claro-dorado, de 56 a 104×13 a 19 μm (Figura 1K). Todas las características morfológicas registradas coincidieron con las de *B. victoriae* (Meehan & Murphy) Shoem. (Teleomorfo: *Cochliobolus victoriae*) reportadas por Ellis (1971) y Kwasna (1995). La importancia de este hongo fitopatógeno radica en su dispersión rápida y en la producción de toxinas dañinas para el ganado que consume la avena contaminada (Sivanesan, 1987).

Las colonias de la segunda especie de *Bipolaris* presentaron crecimiento micelial gris oscuro-negro, compuesto por masas densas de estructuras asexuales en medio V8 (Figura 1I). Los conidióforos fueron solitarios, rectos o flexuosos, café claros y de 140 a 210×6 a 9 μm . Los conidios fueron ligeramente curvos y rectos, fusiformes a elipsoidales, lisos, café oliváceo-oscuro, más anchos en la parte media, de 55 a 110×16 a 26 μm , con extremos redondeados y con 5 a 9 células con forma de barril (Figuras 1L, M). Estas características morfológicas concuerdan con las de *B. sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (Teleomorfo: *Cochliobolus sativus*) descritas por Ellis (1971) y Kwasna (1995).

Prueba de patogenicidad

Diez días después de la inoculación (ddi), todas las plantas inoculadas con la suspensión de conidios de *A. alternata* presentaron manchas circulares necróticas a manera de anillos y halo amarillento; después coalescieron y necrosaron el tejido totalmente. Las hojas asperjadas con conidios de *B. victoriae* mostraron 9 ddi manchas oval-alargadas, café, apariencia rayada con margen clorótico a rojizo y formación de estructuras (conidios) color oscuro en el tejido. La presencia de pseudotecios de *C. victoriae* no se observó en los medios de cultivo ni en los tejidos infectados artificialmente en el invernadero. Todas las hojas asperjadas con conidios de *B. sorokiniana* 8 a 12 ddi desarrollaron manchas pequeñas café oscuro, redondas y elípticas, que cubrieron después toda la hoja; así mostraron un aspecto de necrosis total, con esporulación abundante. Las plantas con síntomas tempranos presentaron defoliación. La formación de pseudotecios de *C. sativus* no se presentó en el medio de cultivo ni en los tejidos infectados artificialmente.

has been identified in cereals, sunflower, olive and other fruits (Barkai-Golan, 2008). According to Simmons (2007), the species of *Alternaria* reported in oat in the world are: *A. alternarina*, *A. avenicola*, *A. cerealis*, *A. uredinis* and *A. utile*. Therefore, this is the first report of *A. alternata* causing leaf blight in oat in the field.

One of the two isolates of *Bipolaris* in V8 showed colonies with dark grey mycelial growth, made up of dense masses of asexual structures (Figure 1 H). In light microscopy conidiophores were observed in solitary and in groups, straight or flexible, smooth, light brown color, from 190 to 235×6 to 9 μm ; conidia were fusiform, slightly curved, with 5 to 7 septa, light brown-golden, from 56 to 104×13 to 19 μm (Figure 1 K). All the morphological characteristics registered coincide with those of *B. victoriae* (Meehan & Murphy) Shoem. (Teleomorph: *Cochliobolus victoriae*), reported by Ellis (1971) and Kwasna (1995). The importance of this phytopathogen fungus lies in its quick dispersion and in the production of toxins harmful to livestock that consumes the contaminated oat (Sivanesan, 1987).

Colonies of the second *Bipolaris* species presented dark grey-black mycelial growth, made up of dense masses of asexual structures in V8 medium (Figure 1 I). The conidiophores were solitary, straight or flexible, light brown and from 140 to 210×6 to 9 μm . Conidia were slightly curved and straight, fusiform to ellipsoidal, smooth, olive green-dark brown, wider in the middle part, from 55 to 110×16 to 26 μm , with round ends and 5 to 9 cells with barrel shape (Figure 1 L, M). These morphological characteristics coincide with those of *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (Teleomorph: *Cochliobolus sativus*) described by Ellis (1971) and Kwasna (1995).

Pathogenicity test

Ten days after inoculation (dai), all the plants inoculated with the conidial suspension of *A. alternata* presented necrotic circular spots in the shape of rings and a yellowish halo; they later coalesced and necrotized the tissue totally. The leaves sprinkled with *B. victoriae* conidia 9 dai showed oval-long spots, brown, striped appearance with chlorotic to reddish margin, and formation of structures (conidia) of dark color in the tissue. The presence of pseudothecia of *C. victoriae* was not observed in the

A partir del tejido infectado de plantas inoculadas con cada hongo, se reaislaron las tres especies de hongos, con características morfológicas similares a los aislados de las plantas en el campo.

Identificación molecular

La comparación en el BLAST de la secuencia JQ867017 mostró 100 % de similaridad con la secuencia de *A. alternata* (Genbank No. de acceso HQ014678); la secuencia JQ867018 mostró 98 % de similaridad con la secuencia de *Cochliobolus victoriae* (Anamorfo: *Bipolaris victoriae*) (Genbank No. de acceso EF452448) y la secuencia KC012912 fue 100 % similar a la secuencia EF452447 de *Cochliobolus sativus* (Anamorfo: *Bipolaris sorokiniana*). Esto confirmó los resultados de la identificación morfológica.

Incidencia de hongos por ciclo agrícola

En el ciclo primavera-verano de 2009 se obtuvieron frecuencias significativamente menores de las tres especies de hongos, respecto a 2010 (Figura 2). Esto podría deberse a la dispersión natural de los patógenos en el tiempo.

Incidencia de hongos por localidad

La incidencia de los patógenos en los sitios fue significativamente diferente (Cuadro 2) y su presencia en el follaje se relacionó con la similitud entre las regiones agroecológicas. Esto coincidió con lo señalado por Kurowski y Wysocka (2009), de que las condiciones ambientales y los factores de cada sitio en conjunto son determinantes para la presencia de los diferentes hongos que infectan a la avena.

Alternaria alternata se detectó en 20.85 % del total de las muestras y se distribuyó en Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México y Distrito Federal. Kiecana y Cegiello (2007) y Kurowski y Wysocka (2009) identificaron *A. alternata* como la especie fungosa más frecuente en las semillas de avena recolectadas en campos de Polonia. Esto indica que el patógeno puede dispersarse con la semillas infectadas.

Bipolaris victoriae se identificó en 12.26 % de los sitios estudiados y se detectó en Tlaxcala, Hidalgo y Estado de México (Cuadro 2). Este es un porcentaje de frecuencia alto, en comparación con otros hongos

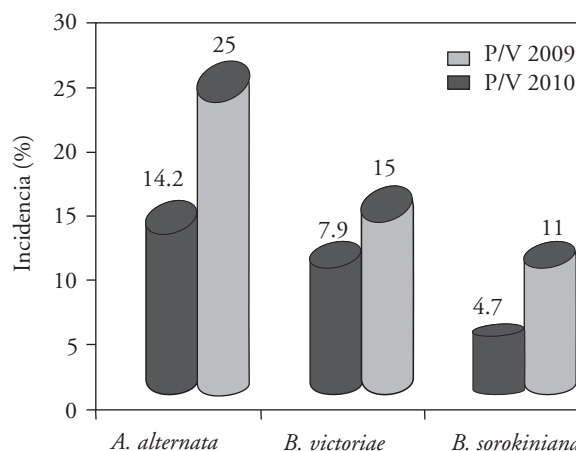


Figura 2. Porcentaje de incidencia de *A. alternata*, *B. victoriae* y *B. sorokiniana* en 163 campos de avena de los valles altos de México durante los ciclos primavera-verano (P/V) de 2009 (63 sitios) y 2010 (100 sitios).

Figure 2. Percentage of incidence of *A. alternata*, *B. victoriae* and *B. sorokiniana* in 163 oat fields in Mexico's high valleys during the spring-summer (P/V) cycles in 2009 (63 sites) and 2010 (100 sites).

cultivation media or in the tissues artificially infected in the greenhouse. All the leaves sprinkled with *B. sorokiniana* conidia developed small spots dark brown 8 to 12 dai, round and elliptic, which later covered the whole leaf; thus, they showed an appearance of total necrosis, with abundant sporulation. The plants with early symptoms presented defoliation. The formation of pseudothecia of *S. sativus* was not present in the cultivation medium or in the tissues artificially infected.

From the tissue infected from plants inoculated with each fungus, the three species of fungi were re-isolated, with morphological characteristics similar to the isolates from plants in the field.

Molecular identification

The comparison using BLAST of the sequence JQ867017 showed 100 % similarity with the *A. alternata* sequence (GenBank Accession no. HQ014678); the sequence JQ867018 showed 98 % similarity with the *Cochliobolus victoriae* sequence (Anamorph: *Bipolaris victoriae*) (GenBank Accession no. EF452448) and the sequence KC012912 was 100 % similar to sequence EF452447 of *Cochliobolus*

Cuadro 2. Incidencia de tizones foliares en avena (*Avena sativa* L.) causados por *A. alternata*, *B. victoriae* y *B. sorokiniana* en Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México y Distrito Federal, durante los ciclos primavera-verano 2009 y 2010.**Table 2. Incidence of leaf blights in oat (*Avena sativa* L.) caused by *A. alternata*, *B. victoriae* and *B. sorokiniana* in Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México and Distrito Federal, during the spring-summer cycle in 2009 and 2010.**

Sitios (2009)	Coordenadas	Altitud (msnm)	Variedad	Incidencia (%)		
				<i>A. alternata</i>	<i>B. victoriae</i>	<i>B. sorokiniana</i>
1. La Unión, Tlaxcala	19° 29' 13" N 98° 33' 52" O	2811	Turquesa	0	30	0
2. La Malinche, Tlaxcala	19° 16' 49" N 98° 02' 96" O	3034	Cevamex	50	0	0
3. Francisco I. Madero, Tlaxcala	19° 31' 69" N 98° 29' 95" O	2652	Obsidiana	30	0	0
4. Nanacamilpa, Tlaxcala	19° 20' N 98° 123' O	2811	Turquesa	0	60	50
5. Pista Pachuca-Sahagún, Hidalgo	19° 47' 54" N 98° 34' 52" O	2442	Chihuahua	0	20	0
6. Apan, Hidalgo	19° 42' 4" N 98° 27' 58" O	2474	Karma	0	70	0
7. Emiliano Zapata, Hidalgo	19° 38' 24" N 98° 31' 46" O	2503	Turquesa	30	0	0
8. La Violeta, Hidalgo	19° 56' 13" N 98° 19' 35" O	2645	Chihuahua	40	0	0
9. Chalco, Estado de México	19° 09' 20" N 98° 58' 17" O	2550	Cevamex	0	40	0
10. Ozumba, Estado de México	19° 02' 25" N 98° 48' 14" O	2340	Cuahtémoc	0	0	40
11. Avila Camacho, Estado de México	19° 19' 89" N 98° 45' 05" O	2940	Ópalo	0	0	50
12. Río Frio, Estado de México	19° 21' 51" N 98° 40' 13" O	3034	Gema	70	0	0
13. Huehuetoca, Estado de México	19° 45' N 99° 10' O	2250	Chihuahua	40	0	0
14. Tepexpan, Estado de México	19° 36' N 98° 54' O	2250	Cuahtémoc	40	0	0
15. Las Calaveras, Estado de México	19° 07' 30" N 98° 52' 25" O	2489	Cevamex	10	0	0
16. Ixtlahuaca, Estado de México	19° 34' N 99° 46' O	2560	Chihuahua	50	0	0
Sitios (2010)						
17. El rancho Zotoluc., Tlaxcala	19° 36' 65" N 98° 29' 04" O	2510	Turquesa	0	40	0
18. Teacalco 2, Tlaxcala	19° 20' 41" N 98° 04' 02" O	2617	Turquesa	0	90	0
19. El Pilancón, Tlaxcala	19° 30' 57" N 97° 53' 76" O	3142	Chihuahua	0	0	30
20. La Malinche 1, Tlaxcala	19° 16' 00" N 98° 02' 00" O	3184	Turquesa	90	0	40
21. La Malinche 2, Tlaxcala	19° 16' 49" N 98° 02' 96" O	3040	Turquesa	30	0	10
22. La Malinche 3, Tlaxcala	19° 17' 42" N 98° 03' 87" O	2973	Chihuahua	30	0	0

Continúa...

Cuadro 2. Continúa

Sitios (2009)	Coordenadas	Altitud (msnm)	Variedad	Incidencia (%)		
				<i>A. alternata</i>	<i>B. victoriae</i>	<i>B. sorokiniana</i>
23. La Malinche 4, Tlaxcala	19° 18' 05" N 98° 02' 15" O	2895	Karma	10	0	0
24. San Andrés Buenavista, Tlaxcala	19° 34' 07" N 98° 17' 95" O	2543	Karma	40	40	0
25. Teacalco 3, Tlaxcala	19° 21' 08" N 98° 02' 63" O	2608	Turquesa	50	0	0
26. Terrenate 3, Tlaxcala	19° 28' 22" N 97° 55' 08" O	2577	Obsidiana	40	0	0
27. El Rincón, Tlaxcala	19° 29' 70" N 97° 54' 15" O	2836	Chihuahua	10	50	0
28. La Rascona, Tlaxcala	19° 20' 35" N 97° 56' 97" O	2480	Obsidiana	60	0	0
29. Nanacamilpa 1, Tlaxcala	19° 28' 45" N 98° 32' 13" O	2748	Turquesa	0	40	0
30. Nanacamilpa 2, Tlaxcala	19° 28' 21" N 98° 34' 29" O	2808	Karma	0	50	0
31. Nicolás Bravo, Tlaxcala	19° 24' 49" N 97° 58' 98" O	2488	Karma	80	0	0
32. Francisco Villa, Tlaxcala	19° 36' 02" N 98° 28' 62" O	2533	Turquesa	40	40	0
33. Acuitzilapan, Estado de México	19° 47' N 99° 46' O	2722	Cevamex	20	20	0
34. San Bartolo, Estado de México	19° 48' N 99° 42' O	2740	Karma	30	0	0
35. Juchitepec, Estado de México	19° 05' 44" N 98° 55' 49" O	2814	Karma	0	50	0
36. Km. 21 Carretera Ixtapaluca a Río Frío, Estado de México	19° 19' 20" N 98° 49' 08" O	2479	Cevamex	70	0	0
37. Campo Santo, Estado de México	19° 22' 60" N 98° 49' 74" O	2481	Cuauhtémoc	0	60	0
38. Tlamacas, Estado de México.	19° 06' 15" N 98° 45' 49" O	2518	Gema	60	0	0
39. San Francisco, Estado de México	19° 21' 88" N 98° 51' 87" O	2319	Cevamex	0	0	70
40. Tepila, Estado de México	19° 22' 36" N 98° 47' 81" O	2681	Chihuahua	40	0	0
41. Chicoloapán, Estado de México	19° 23' 78" N 98° 51' 88" O	2315	Karma	0	0	30
42. Ixtapaluca, Estado de México	19° 19' 42" N 98° 52' 56" O	2270	Gema	0	0	50
43. Cabaña los gavilanes, D. F.	19° 13' 76" N 99° 16' 46" O	3278	Ópalo	0	0	50
44. Estación, D. F.	19° 09' 24" N 99° 09' 75" O	2938	Cevamex	0	0	40
45. Valle del Vidrio, D. F.	19° 11' 87" N 99° 14' 22" O	3340	Gema	30	0	40
46. Parres 3, D. F.	19° 06' 82" N 99° 11' 05" O	3013	Ópalo	0	0	50
47. Parres 2, D.F.	19° 07' 33" N 99° 11' 77" O	3021	Cevamex	0	0	10

Continúa...

Cuadro 2. Continúa

Sitios (2009)	Coordenadas	Altitud (msnm)	Variedad	Incidencia (%)		
				<i>A. alternata</i>	<i>B. victoriae</i>	<i>B. sorokiniana</i>
48. Coatzat-Tecocom., Hidalgo	19° 56' 13" N 98° 19' 35" O	2645	Chihuahua	0	60	0
49. Hacienda Veloz, Hidalgo	19° 37' 96" N 96° 30' 09" O	2570	Cuauhtémoc	70	0	0
50. Salida a Tepeapulco, Hidalgo	19° 46' 59" N 98° 32' 21" O	2570	Chihuahua	30	0	0
51. Somorriel 2, Hidalgo	19° 58' 39" N 98° 33' 36" O	2619	Chihuahua	20	30	0
52. Somorriel, Hidalgo	19° 58' 39" N 98° 33' 36" O	2619	Karma	20	0	0
53. Zempoala, Hidalgo	19° 47' 54" N 98° 34' 52" O	2442	Cuauhtémoc	20	30	0
54. Entrada a Tepeapulco, Hidalgo	19° 47' 54" N 98° 34' 52" O	2442	Cuauhtémoc	50	30	0
55. Cd. Sahagun-Jaltepec, Hidalgo	19° 42' N 98° 36' O	2480	Chihuahua	50	20	20
56. Pueblo Nuevo, Hidalgo	19° 45' 36" N 98° 19' 09" O	2745	Obsidiana	30	0	0

causantes de tizones. Este patógeno y la producción alta de toxinas, dañinas para el ganado que consume el forraje, parece tener importancia limitada (Sivanesan, 1987; De Saeger, 2011).

Bipolaris sorokiniana se recolectó en 9.2 % de las muestras y estuvo presente en campos de avena del Distrito Federal, Tlaxcala, Estado de México e Hidalgo (Cuadro 2). Lo anterior contrastó con lo reportado por Zillinsky (1983), quien indicó que *B. sorokiniana* afecta comúnmente a los cereales de grano pequeño, pero que raramente infecta avena.

Alternaria alternata no se presentó en la variedad Ópalo, *B. sorokiniana* no se detectó en la variedad Obsidiana y *B. victoriae* no se encontró en las variedades Ópalo, Obsidiana y Gema. Esto es relevante, pues las variedades señaladas podrían exhibir tolerancia o resistencia a la infección de esos hongos. Para confirmar lo anterior se necesita realizar estudios y determinar la susceptibilidad de cada variedad a cada patógeno, como lo realizado en tallos de avena por Mariscal-Amaro *et al.* (2009) para la roya causada por *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*.

En los estados de Morelos y Puebla se siembran las mismas variedades de avena que en los demás estados de los valles altos de México, y en muestras con síntomas de tizón foliar provenientes de estos dos

sativus (Anamorph: *Bipolaris sorokiniana*). This confirmed the results of morphological identification.

Incidencia of fungi per agricultural cycle

In the 2009 spring-summer cycle, significantly lower frequencies of the three species of fungi were obtained as compared to 2010 (Figure 2). This could be due to the natural dispersion of pathogens in time.

Incidencia of fungi per locality

The incidence of pathogens in the sites was significantly different (Table 2) and their presence in the foliage was related to the similarity between agro-ecological regions. This coincided with what was pointed out by Kurowski and Wysocka (2009), in that the environmental conditions and the specific factors from each site as a whole are determinant for the presence of different fungi that infect oat.

Alternaria alternata was detected in 20.85 % of all the samples and distributed in Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México and Distrito Federal. Kiecana and Cegiello (2007) and Kurowski and Wysocka (2009) identified *A. alternata* as the most frequent fungal species in oat seeds collected in fields in Poland. This

estados no se detectaron *A. alternata*, *B. victoriae* y *B. sorokiniana*. Lo anterior pudo deberse a que se recolectaron muestras únicamente de siete sitios de Morelos y seis de Puebla, alejados de las regiones productoras de avena de los otros estados de los valles altos de México. Es posible que los tres hongos no se hayan dispersado a esas áreas.

La presencia de los tres hongos y su relación con la altitud de los sitios de recolecta indicó que los tizones causados por *A. alternata*, *B. victoriae* y *B. sorokiniana* se distribuyeron en las zonas productoras localizadas entre 2250 y 3340, 2240 y 2836 y 2270 y 3340 msnm, respectivamente. Esto indica que *B. victoriae* no causó enfermedad en altitud superior a 2900 m, lo que debe estudiarse para conocer el efecto de la altitud en la incidencia y severidad de los síntomas ocasionados por el hongo.

Las royas son consideradas como los patógenos causantes de enfermedades foliares más importantes de la avena y los complejos de *Bipolaris* spp. y *Alternaria* spp. son patógenos potenciales, que podrían causar daños y pérdidas severas. Además, las tres especies reportadas en este estudio producen toxinas dañinas para el ganado consumidor de avena (Sivanesan, 1987; Barkai-Golan, 2008; De Saeger, 2011).

CONCLUSIONES

Alternaria alternata, *Bipolaris victoriae* y *Bipolaris sorokiniana* fueron identificados mediante análisis morfológico, molecular y pruebas de patogenicidad como los agentes causales de tizones foliares en campos de avena de los valles altos de la Meseta Central Mexicana. La incidencia de los hongos fue 20.85, 12.26 y 9.2 %, respectivamente, en los 163 sitios analizados. Este es el primer reporte de la presencia de las tres especies causantes de tizones foliares en el cultivo de avena en México.

La incidencia de las tres especies fue mayor en el año 2010 que en 2009 en los campos de avena de Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México y Distrito Federal.

LITERATURA CITADA

- Barkai-Golan, R. 2008. *Alternaria* Mycotoxins. In: Barkai-Golan, R., and N. Paster (eds). Mycotoxins in Fruits and Vegetables. Academic Press, California, USA. pp: 185- 204.
- Barnett, L. H., and B. B. Hunter. 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.

indicates that the pathogen can be dispersed with infected seeds.

Bipolaris victoriae was identified in 12.26 % of the sites studied and it was detected in Tlaxcala, Hidalgo and Estado de México (Table 2). This is a high frequency percentage, in comparison with other fungi that cause blight. This pathogen and the high production of toxins, which are harmful to the livestock consuming the fodder, seem to have limited importance (Sivanesan, 1987; De Saeger, 2011).

Bipolaris sorokiniana was collected in 9.2 % of the samples and was present in oat fields in Distrito Federal, Tlaxcala, Estado de México and Hidalgo (Table 2). This differs from what was reported by Zillinsky (1983), who indicated that *B. sorokiniana* commonly affects cereals of small grain, but rarely infects oat.

Alternaria alternata was not present in the Ópalo variety, *B. sorokiniana* was not detected in the Obsidiana variety and *B. victoriae* was not found in the Ópalo, Obsidiana and Gema varieties. This is relevant, since the varieties mentioned could exhibit tolerance or resistance to infection by these fungi. To confirm this, studies need to be performed in order to determine the susceptibility of each variety to each pathogen, such as the research performed with oat stems by Mariscal-Amaro *et al.* (2009) for rust caused by *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*.

The same oat varieties are cultivated in the states of Morelos and Puebla than in the rest of the states of México's high valleys, and in samples with symptoms of leaf blight from these two states, *A. alternata*, *B. victoriae* and *B. sorokiniana* were not detected. This could be because samples were collected only from seven sites in Morelos and six in Puebla, far from the oat producing regions of the other states in México's high valleys. It is possible that the three fungi have not been dispersed in these areas.

The presence of the three fungi and their relation with the altitude of collection sites indicated that blight caused by *A. alternata*, *B. victoriae* and *B. sorokiniana* were distributed in the producing zones located between 2250 and 3340, 2240 and 2836, and 2270 and 3340 masl, respectively. This indicates that *B. victoriae* did not cause the disease in an altitude higher than 2900 m, which should be studied further to understand the effect of altitude on the incidence and severity of symptoms caused by the fungus.

- Casa, R. T., e E. M. Reis. 2000. Doenças dos órgãos aéreos da aveia. *Rev. Corre Agrí.* 1: 18-21.
- De Saeger, S. 2011. Determining Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Food and Feed. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. 427 p.
- Ellis, M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. CAB International. Kew, Surrey, UK. 608 p.
- Kiecana, I., and M. Cegielski. 2007. Pathogenicity of *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. to selected oat (*Avena sativa* L.) genotypes. *Plant Breeding Seed Sci.* 56: 31-45.
- Kurowski, T. P., and U. Wysocka. 2009. Fungal communities colonizing grain of hulled and naked oat grown under organic farming system. *Phytopathologia* 54: 53-59.
- Kwasna, H. 1995. Ecology, taxonomy and nomenclature of Helminthosporia. In: Chelkowski, J. (ed). *Helminthosporia Metabolites, Biology, Plant Diseases*. Polish Academy of Science. Poznań, Poland. pp: 27-60.
- Leyva-Mir, S. G., E. Espitia-Rangel, H. E. Villaseñor-Mir, y J. Huerta-Espino. 2004. Pérdidas ocasionadas por *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Erikss. y Henn., causante de la roya del tallo en seis cultivares de avena (*Avena sativa* L.) en los Valles Altos de México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22(2): 166-171.
- Mariscal-Amaro, L. A., J. Huerta-Espino, H. E. Villaseñor-Mir, S. G. Leyva-Mir, J. S. Sandoval-Islas, e I. Benítez-Riquelme. 2009. Genética de la resistencia a roya del tallo (*Puccinia graminis* f. sp. *avenae* Erikss. & Henning) en tres genotipos de avena (*Avena sativa* L.). *Agrociencia* 43: 869-879.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2012. GenBank. www.ncbi.nlm.nih.gov/ (Consulta: septiembre 2012).
- Simmons, E. G. 2007. *Alternaria: An Identification Manual*. Fungal Biodiversity Centre, CBS Biodiversity Series No. 6. Utrecht, the Netherlands. 775 p.
- Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera (SIAP). 2012. México. www.siap.gob.mx (Consulta: septiembre 2012).
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. CAB International Mycological Institute. Wallingford, Oxon. 261 p.
- Villaseñor-Mir, H. E., E. Espitia-Rangel, y J. Huerta-Espino. 2003. El Campo Experimental Valle de México, estratégico en la producción nacional de avena: Historia y Aportaciones. In: 60 años de investigación en el Campo Experimental Valle de México. SAGARPA, INIFAP, Centro de Investigación del Centro, Campo Experimental Valle de México. Chapingo, Estado de México, México (Publicación Especial No.1). pp. 17-30.
- Villaseñor-Mir, H. E., A. Limón-Ortega, A. María-Ramírez, M. F. Rodríguez-García, J. Huerta-Espino, S. G. Leyva-Mir, y E.

The blights are considered as the pathogens that cause the most important leaf diseases in oat, and the *Bipolaris* spp. and *Alternaria* spp. complexes are potential pathogens that could cause damage and severe losses. In addition, the three fungal species identified in this study, produce toxins that are harmful to the livestock that consumes the contaminated oat (Sivanesan, 1987; Barkai-Golan, 2008; De Saeger, 2011).

CONCLUSIONS

Alternaria alternata, *Bipolaris victoriae* and *Bipolaris sorokiniana* were identified through morphological and molecular analyses, and pathogenicity tests, as the causal agents for leaf blight in oat fields of the high valleys in the Mexican Central Plateau. The incidence of the fungi was 20.85, 12.26 and 9.2 %, respectively, in the 163 sites analyzed. This is the first report of the presence of the three species that cause leaf blight in oat cultivation in México.

The incidence of the three species was higher in the year 2010 than in 2009, in the oat fields in Tlaxcala, Hidalgo, Estado de México and Distrito Federal.

—End of the English version—

---*---

- Espitia-Rangel. 2009. El cultivo de avena de temporal en el estado de Tlaxcala, Áreas potenciales, enfermedades, variedades. Folleto técnico No. 37 INIFAP-CIRCT. 23 p.
- Zillinsky, F. J. 1983. Common Diseases of Small Grain Cereals: A Guide to Identification. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. CIMMYT. México, D.F. 141 p.
- White, T. J., B. S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A., D. A. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (eds). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, California, USA. pp: 315-322.