

Primer informe de *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc. afectando al cultivo del garbanzo en Cuba



CU-ID: 2247/v37n2e08

First report of *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc. affecting chickpea in Cuba

✉ Yanisia Duarte Leal^{1*}, ✉ Benedicto Martínez Coca¹, ✉ Anayza Echevarría Hernández²,
✉ Erica Santos do Carmo de Souza², ✉ Robert N.G. Miller³, ✉ Adalberto C. Café-Filho³

¹Laboratorio de Micología Vegetal, Grupo de Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32 700, Mayabeque, Cuba.

²Unidad Científico Técnica de Base "Los Palacios" del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Km 1 1/2 carretera La Francia, Los Palacios, Pinar del Río, Cuba.

³Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Brasilia, Brasil.

RESUMEN: El trabajo tuvo como objetivo caracterizar morfológica y molecularmente aislamientos de *Fusarium* sp. procedentes de plantas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Para ello, se realizó la caracterización morfológica de los aislados de *Fusarium* sp. mediante el uso de una clave taxonómica. Para la identificación molecular se realizó la extracción de ADN, amplificación del gen que codifica para el factor de elongación y traducción 1 α (*tef-1 α*), purificación de los fragmentos amplificados y su secuenciación. Los resultados permitieron informar, por primera vez en Cuba, una nueva especie de *Fusarium* en el garbanzo [*Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc.], incluida en el clado Incarnatum, que pertenece al complejo de especies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC). Las cepas cubanas se agruparon filogenéticamente con el grupo FIESC 15. Este es el primer informe de *F. incarnatum* asociado al garbanzo en Cuba.

Palabras claves: fitopatógeno, suelo, *tef-1 α* , filogenia, taxonomía.

ABSTRACT: The objective of the work was to characterize isolates of *Fusarium* sp. from chickpea (*Cicer arietinum* L.) morphologically and molecularly. For this, the morphological characterization of the isolates of *Fusarium* sp. was conducted by using a taxonomic key and, for their molecular identification, DNA extraction, amplification of the translation and elongation factor 1 α (*tef-1 α*) gene, purification and sequencing of the amplified fragments were performed. The results allowed reporting the first identification of a new *Fusarium* species on chickpea in Cuba [*Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc.], a species belonging to the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex (FIESC). The Cuban strains were phylogenetically clustered with the FIESC 15 group. This is the first report of *F. incarnatum* associated with chickpea in Cuba.

Keys word: phytopathogen, soil, *tef-1 α* , phylogeny, taxonomy.

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.), a nivel mundial, se sitúa como la quinta leguminosa de importancia después de la soya (*Glycine max* L.), el haba (*Vicia faba* L.), los frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.) y los guisantes (*Pisum sativum* L.). En Cuba, para satisfacer el consumo interno de este grano, se realizan importaciones provenientes, mayoritariamente, de México, Canadá y España (1).

La producción mundial de garbanzo en 2018 fue de 17 millones de toneladas; se destacaron la India con 64 %, pues llegó a alcanzar 11 millones de toneladas, seguido por Australia con una producción de 998 mil toneladas, Turquía con 630 mil y Rusia con 620 mil toneladas (2).

Una de las causas principales de la disminución de los rendimientos de este cultivo son las enfermedades; entre las más importantes, en Cuba y el mundo, se encuentran las ocasionadas por especies de *Fusarium* (1).

La identificación morfológica de este fitopatógeno se fundamenta en características como forma, tamaño y septación de conidios, tipo de conidióforo y células conidiógenas, presencia o ausencia de clamidosporas, así como la evaluación de características adicionales de la tasa de crecimiento del micelio en cultivos agarizados (3, 4). Sin embargo, estos caracteres son insuficientes para describir los límites de las especies de *Fusarium* muy estrechamente relacionadas, como los miembros del complejo de especies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) (5).

Las técnicas moleculares, basadas en análisis de ADN (Ácido desoxirribonucleico), complementan las insuficiencias de la identificación morfológica, mediante el uso de marcadores específicos, que amplifican una región del genoma de estas especies de *Fusarium*. Estas herramientas posibilitan el cálculo de índices de variabilidad genética dentro de una población y establecen diferencias entre genotipos (6, 7).

*Correspondencia a: Yanisia Duarte Leal. E-mail: yduarteleal@gmail.com

Recibido: 11/07/2022

Aceptado: 10/08/2022

La secuenciación de genes, como el factor de elongación de la traducción 1 α (*tef-1 α*), la segunda subunidad mayor de la ARN polimerasa II (*rpb2*), la β -tubulina (*tub2*), la calmodulina (*cmdA*) y genes de otras regiones ribosomales, mostraron la existencia de varios complejos de especies como son *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen (FSSC), *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen (FOSC), *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) y *Fusarium fujikuroi* Nirenberg (FFSC), entre otros (8, 9, 10).

El FIESC se propuso en 2009, fundamentado en un sistema de tipificación de secuencias multilocus (MLST). Este complejo de especies incluye dos grandes clados, denominados Incarnatum y Equiseti, que contienen algunas especies previamente clasificadas en las secciones morfológicas polifiléticas *Arthrosporiella* y *Gibbosum* (11).

Actualmente, este complejo incluye 38 filoespecies reconocidas (FIESC 1-38), en una amplia gama de hábitats/hospedantes en todo el mundo (12). Las especies de FIESC se consideran saprófitas y patógenas oportunistas de plantas y, algunas, se encuentran asociadas con enfermedades humanas de entornos clínicos (13).

En Cuba, Dueñas *et al.* (14) notificaron la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Padwick) Matuo & K. Sato y *F. solani* en garbanzo en las antiguas provincias Ciudad de La Habana y La Habana, utilizando en ese estudio métodos convencionales de identificación de las especies de este género.

Por su parte, Duarte *et al.* (4, 15) identificaron morfológicamente las especies *Fusarium nygamai* Burgess & Trimboli, *Fusarium dlamini* Marasas, Nelson & Toussoun, *Fusarium phyllophilum* Nirenberg & O'Donnell, *F. solani* y *F. oxysporum* a partir de plantas enfermas de garbanzo en áreas de producción de la provincia Mayabeque, Cuba. Adicionalmente, el uso de herramientas moleculares permitió informar la presencia de *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg, en plantas de esta leguminosa (15).

Sin embargo, teniendo en cuenta la similitud de caracteres morfológicos existentes entre especies pertenecientes a diferentes complejos del género *Fusarium* y la necesidad de confirmar la variabilidad obtenida en la caracterización cultural y patogénica realizada en estudios anteriores (4), se decidió realizar la identificación morfológica y molecular de dos aislamientos monospóricos de *Fusarium*, obtenidos a partir de plantas de garbanzo con síntomas típicos de marchitez, necrosis y amarillamiento, lo cual constituye el objetivo de este trabajo.

Las investigaciones se efectuaron en el Laboratorio de Micología Vegetal (LMV) del Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Brasilia, Brasil.

Se utilizaron para el estudio dos aislamientos monospóricos de *Fusarium*, pertenecientes al cepario del LMV del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria

(CENSA), San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba. Estos aislamientos provinieron, inicialmente, de plantas de garbanzo con síntomas típicos de marchitez, necrosis y amarillamiento: proporcionadas por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), provincia Mayabeque, Cuba.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Los aislamientos de *Fusarium* se sembraron en tres medios de cultivo independientemente: Agar de hojas de clavel (CLA), Agar Papa Dextrosa (PDA; Difco, Detroit, USA) y Agar Sintético bajo en nutrientes (SNA), acorde a la clave informada por Leslie y Summerell (16). Las estructuras de los aislamientos se caracterizaron mediante preparaciones de fragmentos de tejido micelial en lactofenol y se observaron en un microscopio óptico (N-800M) (aumento 400 x).

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

Los aislamientos se sembraron en placas Petri de 90 mm de diámetro contentivas de 15 ml de medio de cultivo PDA y se sellaron con papel parafilm e incubaron a 25 \pm 2°C, durante siete días en oscuridad. En condiciones asépticas, el micelio de cada aislamiento de *Fusarium* se colectó con un asa bacteriológica estéril, y se conservó a -20°C hasta su procesamiento. El ADN se extrajo por el método CTAB (cetyl trimethyl-ammonium bromide) (17). Para la amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), del gen que codifica para el factor de elongación y traducción 1 α (*tef-1 α*), se utilizaron los cebadores: EF1 y EF2 (18).

Las reacciones de amplificación se ajustaron a un volumen final de 25 μ l con 1,5 mM MgCl₂, 0,2 μ M de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP's), 0,4 μ M para cada cebador, 0,5 U de *Taq* DNA polimerasa (Roche CustomBiotech, USA), 10 ng de ADN genómico de cada aislamiento y agua libre de nucleasa para completar el volumen total. La PCR se realizó en el termociclador ESCO (SwiftMaxPro, USA) con el siguiente programa de amplificación: paso inicial de desnaturalización a 94°C durante cinco min, seguido por 35 ciclos de reacción (30 s a 94°C de desnaturalización, 45 s a 58°C de anillamiento de los cebadores y 2 min a 72°C de extensión), seguido por una extensión final de 10 min a 72°C.

Los productos amplificados se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (1 %). Posteriormente, se observaron a través de un transiluminador de luz ultravioleta (Loccus Biotecnología, L-Pix, USA), se fotografiaron y registraron en una computadora.

El tamaño de cada fragmento amplificado se determinó por comparación con los marcadores de peso molecular de 100 pb *Low DNA Mass Ladder* y 1 Kb *Plus Ladder* (Invitrogen Life Technologies, USA).

Los productos finales de la amplificación se purificaron con exonucleasa I (Exo I) y fosfatasa alcalina de

camarón (rSAP) (ExoSAP-IT PCR Product Cleanup de la USB, USA), según las indicaciones del fabricante, y se mantuvieron a -20°C hasta su secuenciación. Los productos de PCR purificados se secuenciaron en ambas direcciones, con los respectivos cebadores específicos (forward y reverse), realizado en ACTGene, Análisis Moleculares Ltda (Porto Alegre, RS, Brasil).

Análisis filogenético

La edición de las secuencias se realizó con el software BioEdit Sequence Alignment Editor v7.2.5 (19), y se determinó la secuencia consenso de cada aislado manualmente con el software Lasergene SeqMan v7.0.0 (DNASTar, Madison, USA). Para identificar los aislados, se realizó un análisis comparativo entre las secuencias consenso y las existentes en la base de datos del GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) con el uso de la Herramienta Básica de Alineamiento Local (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) y *Fusarium* MLST (Esquemas de muestreo de Loci y Tipificación de Secuencias Multilocus) (<http://www.westerdijkinstituut.nl/fusarium/>). Las secuencias generadas se depositaron en la base de datos del

GenBank. En este análisis, también se incluyeron las secuencias de referencia del gen *tef-1a* de especies pertenecientes al Complejo de especies de *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) de *Fusarium irregulare* M.M. Wang, Qian Chen & L. Cai; *Fusarium sulawense* N. Maryani, Sand.-Den., L. Lombard, Kema & Crous; *Fusarium pernambucanum* A.C.S. Santos, C.S. Lima, P.V. Tiago & N.T. Oliveira; *Fusarium luffae* M.M. Wang, Qian Chen & L. Cai; *Fusarium multiceps* J.W. Xia, L. Lombard, Sand.-Den., X.G. Zhang & Crous; *Fusarium caatingaense* A.C.S. Santos, C.S. Lima, P.V. Tiago & N.T. Oliveira; *Fusarium guilinense* M.M. Wang, Qian Chen & L. Cai; *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc.; *Fusarium tanahbumbuense* N. Maryani, Sand.-Den., L. Lombard, Kema & Crous; *Fusarium nanum* M.M. Wang, Qian Chen & L. Cai, *Fusarium hainanense* M.M. Wang, Qian Chen & L. Cai (5, 11, 13, 20, 21, 22, 23) (Tabla 1).

El alineamiento de las secuencias se realizó con el programa ClustalW, software MEGA v7.0.14 (24). La construcción del árbol evolutivo se realizó con un valor de remuestreo de 1000 réplicas. Los análisis filogenéticos se realizaron con el coeficiente del Vecino más Cercano (NJ del inglés Neighbor-joining).

Tabla 1. Aislados de *Fusarium* de referencia pertenecientes al complejo de especies de *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) incluidos en este estudio / Reference *Fusarium* isolates belonging to the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex included in this study.

Especies de <i>Fusarium</i>	FIESC*	Origen geográfico	# acceso del GenBank/ <i>tef</i>	Fuente de aislamiento
<i>F. irregulare</i>	15-a	Texas	GQ505609	Espuito humano
<i>F. irregulare</i>	15-b	Texas	GQ505611	Sangre humana
<i>F. sulawense</i>	16-a	Texas	GQ505628	Humano
<i>F. sulawense</i>	16-b	Illinois	GQ505640	Lavado bronquial Humano
<i>F. pernambucanum</i>	17-a	Texas	GQ505613	Humano
<i>F. pernambucanum</i>	17-b	Congo	GQ505655	<i>Musa nana</i> Lour
<i>F. luffae</i>	18-a	Texas	GQ505608	Espuito humano
<i>F. luffae</i>	18-b	Illinois	GQ505612	Celulitis diabética humana
<i>F. multiceps</i>	19-a	Florida	GQ505666	Manatí
<i>F. caatingaense</i>	20-a	Texas	GQ505627	Espuito humano
<i>F. guilinense</i>	21-a	Australia	GQ505590	<i>Medicago sativa</i>
<i>F. guilinense</i>	21-b	Brasil	GQ505614	Endocarditis humana
<i>Fusarium</i> sp.	22-a	Texas	GQ505626	Seno etmoidal humano
<i>F. incarnatum</i>	23-a	Texas	GQ505616	Humano
<i>F. incarnatum</i>	23-b	India	GQ505591	<i>Oryza sativa</i> L.
<i>F. tanahbumbuense</i>	24-a	Minnesota	GQ505629	Líquido intravítreo humano
<i>F. tanahbumbuense</i>	24-b	Connecticut	GQ505657	Rizomas de espartina
<i>F. nanum</i>	25-a	China	GQ505596	<i>Oryza</i> sp.
<i>F. nanum</i>	25-b	Texas	GQ505620	Cultivo nasal humano
<i>F. hainanense</i>	26-a	Cuba	GQ505598	Hojarasca
<i>F. hainanense</i>	26-b	Costa Rica	GQ505604	Rama de <i>Acacia</i> sp.
<i>Fusarium</i> sp.	27-a	Kenya	GQ505595	<i>Chrysanthemum</i> sp.
<i>Fusarium</i> sp.	34-a	USA	MH582434	Desconocido
<i>Fusarium</i> sp.	36-a	India	MH582444	Trigo (<i>Triticum</i> L.)
<i>Fusarium</i> sp.	36-b	India	MH582443	<i>Zea mays</i> L.

*FIESC-Complejo de Especies de *Fusarium incarnatum-equiseti*

Como especie fuera de grupo, se designó a *Fusarium concolor* (GQ505674), basado en estudios previos de análisis filogenético (20).

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Las colonias de los dos aislados de *Fusarium* en medio de cultivo PDA mostraron un crecimiento radial diario de 12 mm a 25°C. El micelio fúngico fue color salmón por el anverso y reverso. Las colonias tuvieron bordes redondeados con textura algodonosa, y en el centro formaron anillos (Fig. 1A-B). En el micelio que creció sobre la superficie del medio de cultivo SNA, se observó abundante esporulación. En el medio CLA, el micelio aéreo presentó una elevada producción de esporodocios formados sobre las hojas de clavel.

Los dos aislamientos de *Fusarium* desarrollaron macroconidios rectos a ligeramente curvados en esporodocios con tres a cinco septos, células apicales ligeramente curvadas de 17,5 a 39,6 µm de largo y 3,4 a 7,8 µm de ancho, y célula basal desarrollada (Fig. 1C, D y E). Los microconidios fueron ovoides, con 0 a 1 septo, formados en falsas cabezas en mono-

fiálides y polifiálides (Fig. 1F y G). Las clamidosporas se observaron formadas pareadas terminales y en los macroconidios (Fig. 1H).

Estas características morfológicas y culturales sugieren que los aislamientos pertenecen a la especie *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc.; sin embargo, el estudio molecular ratificará o no este diagnóstico morfológico. Ávila *et al.* (13) y Wang *et al.* (25) informaron caracteres morfológicos similares, cuando identificaron aislamientos de *F. incarnatum* obtenidos de muestras de arroz (*Oriza sativa* L.) en Brasil y en el Distrito de Jinshan, Shanghai, China, respectivamente.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

A partir del análisis realizado por PCR con los cebadores EF1 y EF2, las secuencias cubanas obtenidas se depositaron en la base de datos del GenBank con los números de acceso MT163656 y MT787338. La comparación de las secuencias cubanas con las depositadas en la base de datos del NCBI y de *Fusarium* MLST mostró que las mismas presentaron 100 % de identidad con la secuencia de *F. incarnatum* (número de acceso GQ915510) (26).

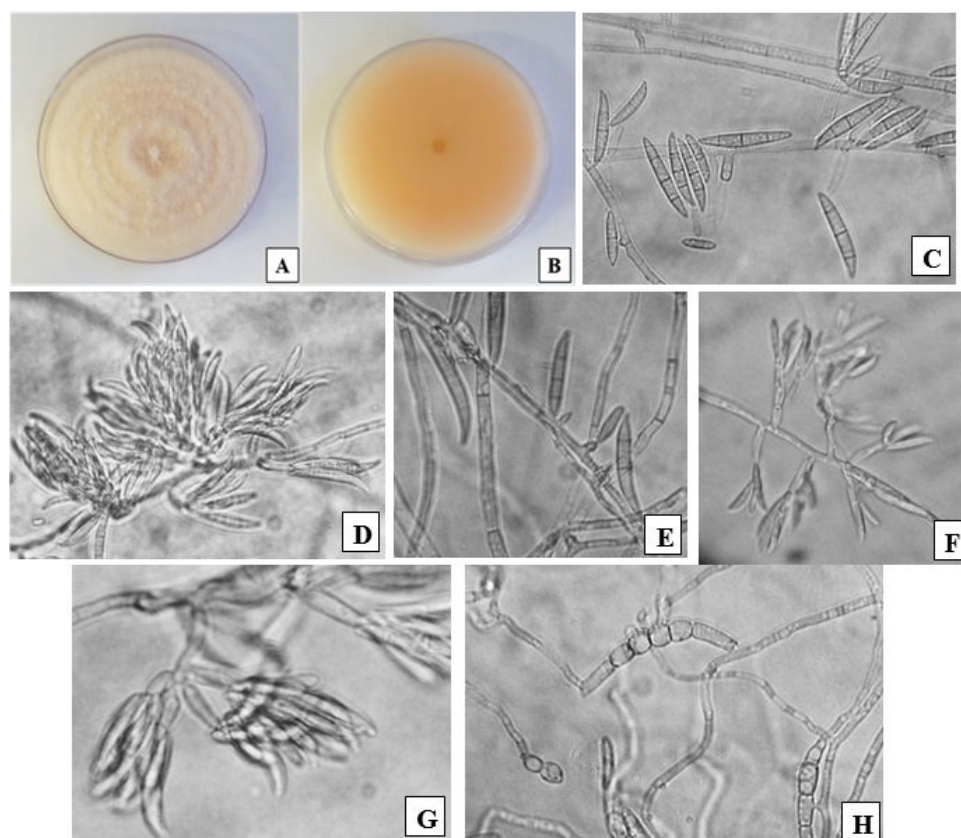


Figura 1. Colonias de *Fusarium* crecidas sobre medio PDA incubadas a 25°C (A: anverso, B: reverso). Morfología de las estructuras de *Fusarium* crecido sobre medio CLA a 25°C (C-H). C y E, macroconidios multiseptados y microconidios. D, macroconidios formados en esporodocios. F, microconidios formados en falsas cabezas. G, macroconidios formados sobre monofiálides y polifiálides. H, clamidospora terminal pareada, clamidospora en conidios. / *Fusarium* colonies grown on PDA medium and incubated at 25°C (A: obverse, B: reverse). Morphology of the structures of *Fusarium* grown on CLA medium at 25 °C (C-H). C and E, multiseptate macroconidia and microconidia. D, macroconidia formed in sporodochia. F, microconidia formed in false heads. G, macroconidia formed on monophialides and polyphialides. H, paired terminal chlamydospore, chlamydospore in conidia.

en días húmedos. Durante el proceso de colonización, en los vasos xilemáticos ocurre una reducción del flujo de agua y de los nutrientes, desde las raíces hacia la parte superior de la planta, por lo que se produce marchitez, amarillamiento, necrosis de hojas, caída de los peciolos y muerte de la planta (33).

Según la literatura consultada, este es el primer estudio de *F. incarnatum* en garbanzo en Cuba empleando datos de secuencia de ADN. Estos resultados permitirán desarrollar un manejo más eficiente, teniendo en cuenta esta especie involucrada en el complejo de *Fusarium incarnatum-equiseti*, presente en este cultivo, con lo que se reducirá el efecto de la enfermedad en campo y la reducción de importaciones por este rubro.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al apoyo parcial del Ministerio de Educación de Brasil, Programa CAPES-MES CUBA DOCENTES, por la beca otorgada a la estudiante de posgrado Yanisia Duarte Leal en el marco del Proyecto de colaboración Cuba-Brasil. También quisieran agradecer a las Doctoras Madelaine Quiñones Pantoja y Jersys Arévalo por sus recomendaciones.

REFERENCIAS

1. Vargas-Blandino D, Cárdenas-Travieso RM. Cultivo del garbanzo, una posible solución frente al cambio climático. *Cultivos Tropicales*. 2021; 42(1):12.
2. FAOSTAT. Base de datos estadística. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data> [Acceso 27 junio 2022].
3. Retana K, Ramírez-Coché JA, Castro O, Blanco-Meneses M. Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 2018; 42(1):115-126.
4. Duarte Y, Echevarría A, Martínez B. Identificación y caracterización de aislamientos de *Fusarium* spp. presentes en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Cuba. *Rev. Protección Veg.* 2016; 31(3):173-183.
5. Villani A, Robert H, Proctor RH, Hye-Seon K, Brown DW, Logrieco AF, Amatulli MT, et al. Variation in secondary metabolite production potential in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex revealed by comparative analysis of 13 genomes. *BMC Genomics*. 2019; 20:314.
6. Sixto F, Valdez N, Zamora F, Lopez R, Melgoza CM, Garzón JA. Identificación molecular de *Fusarium* spp. aislados de maíz en Sinaloa, México. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 2018; 9(8): 1675-1689.
7. Salazar C, Lagos LE, Díaz V, Mora S, Betancourth C. Caracterización de *Fusarium* spp. asociado con la pudrición basal de la cebolla de rama. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 2020; 23(1):1-11.
8. O'Donnell K, Sutton DA, Balajee SA, Rinaldi MG, Schroers H-F, Sarver BAJ, et al. Internet-Accessible DNA Sequence Database for Identifying Fusaria from Human and Animal Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48(10):3708-3718.
9. Park B, Park J, Cheong K-Ch, Choi J, Jung K, Kim D, et al. Cyber infrastructure for *Fusarium*: three integrated platforms supporting strain identification, phylogenetics, comparative genomics and knowledge sharing. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39 (Database issue): D640-D646.
10. Lombard L, Sandoval-Denis M, Lamprecht SC, Crous PW. Epitypification of *Fusarium oxysporum* clearing the taxonomic chaos. *Persoonia*. 2019; 43:1-47.
11. Santos AC da Silva, Correia JV, Souza C, Barbosa R do N, Félix da Costa A, Vieira P, et al. Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. *Mycologia*. 2019; 1-16.
12. Jedidi I, Jurado M, Cruz A, Mounir M, Said S, González-Jaén MT. Phylogenetic analysis and growth profiles of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex strains isolated from Tunisian cereals. *International Journal of Food Microbiology*. 2021; 353:1-10.
13. Ávila CF, Moreira GM, Nicollib CP, LB Gomesb, Abreu LM, Pfenning LH, et al. *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with Brazilian rice: Phylogeny, morphology and toxigenic potential. *International Journal of Food Microbiology*. 2019; 306:1-8.
14. Dueñas GJM, Shagarodsky T, Fresneda JA, Hernández FY, González J. Caracterización de especies del género *Fusarium* en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*) en las provincias Ciudad Habana y la Habana. *Temas de Ciencia y Tecnología*. 2007; 11(32):63-66.
15. Duarte-Leal Y, Martínez-Coca B, Echevarría-Hernández A, Santos do Carmo de Souza E, Miller RNG, Café-Filho AC. First report of vascular wilt caused by *Fusarium proliferatum* on chickpea in Cuba. *New Disease Report*. 2020; 41(32):1.
16. Leslie JF, Summerell BA. *The Fusarium Laboratory Manual*: Blackwell Publishing Professional, Ames, IA, EEUU. 2006: 388p.

17. Doyle JJ, Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 1990; 12:13-15.
18. O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998; 95:2044-2049.
19. Hall TA. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 1999; 41:95-98.
20. Maryani N, Sandoval-Denis M, Lombard L, Crous PW, Kema GHJ. New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. *Persoonia*. 2019; 43:48-69.
21. Xia JW, Sandoval-Denis M, Crous PW, Zhang XG, Lombard L. Numbers to names-restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *Persoonia*. 2019; 43:186-221.
22. Wang MM, Chen Q, Diao YZ, Duan WJ, Cai L. *Fusarium incarnatum-equiseti* complex from China. *Persoonia*. 2019; 43: 70-89.
23. O'Donnell K, McCormick SP, Busman M, Proctor RH, Ward TJ, Doehring G, *et al.* Marasas *et al.* "Toxigenic *Fusarium* Species: Identity and Mycotoxicology" revisited. *Mycologia*. 2018; 110(6):1058-1080 <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1519773>
24. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 2016; 33: 1870-1874.
25. Wang L, Ge SL, Zhao K, Shiwen H. First report of *Fusarium incarnatum* causing spikelet rot on rice in China. *Plant Disease*. 2021; 105 (10). <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2660-PDN>: Corpus ID: 231759887
26. Proctor RH, McCormick SP, Alexander NJ, Desjardins AE. Evidence that a secondary metabolic biosynthetic gene cluster has grown by gene relocation during evolution of the filamentous fungus *Fusarium*. *Mol. Microbiol.* 2009; 74 (5):1128-1142.
27. Marcenaro D, Valkonen JPT. Seed pathogenic Fungi in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* cv. INTA Rojo) in Nicaragua. *PLoS ONE*. 2016; 11(12):e0168662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168662>
28. Herrera L, Díaz M, Gil VD, Acosta MC, Fleites L, Lazo Y. Hongos asociados a las pudriciones radicales en garbanzo (*Cicer arietinum*). *Centro Agrícola*. 2020; 47(NE):84-87.
29. Fierros GA, Acosta JA, Ortega PF, Padilla I, Álvarez A, Ramírez M. Distribución de hongos asociados a pudriciones de raíz del garbanzo. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 2019; 10(1):131-142.
30. Azevedo DMQ, Rocha FS, Costa CA, Pfenning LH, Da Costa SS, Melo MP, *et al.* Etiology of root rot and wilt disease of chickpea in Brazil. *Trop. plant pathol.* 2017. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0145-5>.
31. Zhou Q, Yang Y, Wang Y, Jones C, Feindel D, Harding M, *et al.* Phylogenetic, phenotypic and host range characterization of five *Fusarium* species isolated from chickpea in Alberta, Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 2021; 43 (5): 651-657. <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1869830>.
32. Vargas-Blandino D, Cárdenas-Travieso RM. Cultivo del garbanzo, una posible solución frente al cambio climático. *Cultivos Tropicales*. 2021; 42(1):1-12.
33. Jendoubi W, Bouhadida M, Boukteb A, Béji M, Kharrat M. *Fusarium* Wilt Affecting Chickpea Crop. *Agriculture*. 2017; 7(23):1-16. <https://doi.org/10.3390/agriculture7030023>.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores: Yanisia Duarte Leal: **Análisis formal. Investigación. Metodología. Visualización. Escritura - borrador original.** Benedicto Martínez Coca: **Análisis formal. Metodología. Validación. Redacción (revisión y edición).** Anayza Echevarria: **Investigación.** Santos do Carmo de Souza: **Investigación. Metodología.** Robert N. G. Miller: **Conceptualización. Metodología. Adquisición de fondos. Recursos. Redacción (revisión y edición).** Adalberto C Café-Filho: **Conceptualización. Adquisición de fondos. Administración de Proyecto. Recursos. Redacción (revisión y edición).**

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)