



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Área académica de Ciencias Agrícolas y Forestales

**“Identificación por morfología y análisis multilocus de la cenicilla
Golovinomyces ambrosiae en Tulancingo, Hgo.”**

TESIS

Para obtener el Título de
Ingeniero en Biotecnología

P R E S E N T A

Yolanda Guzmán Vargas

Director de tesis

Dra. Irma Morales Rodríguez

Codirector

Dr. Candelario Ortega Acosta

Comité tutorial

Dr. Cristian Raziel Delgado González

Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez

Dr. Armando Zepeda Bastida

Julio 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Agropecuarias
Institute of Agricultural Sciences
Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales
Academic Area of Agricultural and Forestry Sciences

Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hgo., a 15 de junio de 2026
Asunto: Autorización de impresión

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Por este conducto y con fundamento en el Título Cuarto, Capítulo I, Artículo 40 del Reglamento de Titulación, le comunico que el jurado que le fue asignado a la pasante de Licenciatura en Ingeniería en Biotecnología, **Yolanda Guzmán Vargas**, quien presenta el trabajo de Tesis denominado **"Identificación por morfología y análisis multilocus de la cenicilla *Golovinomyces ambrosiae* en Tulancingo, Hgo."**, que después de revisarlo en reunión de comité de tesis, se ha decidido autorizar la impresión de este, una vez, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los miembros del comité de tesis:

DIRECTORA	DRA. IRMA MORALES RODRÍGUEZ
CODIRECTOR	DR. CANDELARIO ORTEGA ACOSTA
ASESOR	DR. CRISTIÁN RAZIEL DELGADO GONZÁLEZ
ASESORA	DRA. NYDIA EDITH REYES RODRÍGUEZ
ASESOR	DR. ARMANDO ZEPEDA BASTIDA

Sin otro particular por el momento, me despido de usted.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

Mtro. Luis González de la Rosa
Coordinador del PE de Ingeniería en
Biotecnología
Vo. Bo
Dr. Armando Peláez Acero
Director del Instituto de Ciencias
Agropecuarias (ICAp)

"Amor, Orden y Progreso"



Av. Universidad No. 133, Col. San Miguel Huatengo, Santiago
Tulantepec. C.P. 43775. Hidalgo, Mexico.
Teléfono: 7717172000 Ext. 42073
profe_5566@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), anteriormente Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado mediante la beca para Madres Mexicanas Jefas de Familia durante mis estudios de licenciatura.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por las facilidades otorgadas durante la estancia académica.

Al Laboratorio de Virus del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, bajo la responsabilidad del Dr. Daniel Ochoa Martínez, por el apoyo y las facilidades brindadas durante el desarrollo experimental.

Al proyecto de investigación “Los Erysiphales de México” (Biodiversidad, sistemática, hospedantes y distribución), liderado por la Dra. María de Jesús Yáñez Morales, Profesora Investigadora Titular del Posgrado de Fitosanidad-Fitopatología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México.

Al M. en C. Gustavo Alonso López Zepeda, por su apoyo en la identificación de las plantas hospedantes.

Al Dr. Juan Ocampo López, responsable del Laboratorio de Histología de ICAP, por las facilidades otorgadas para el uso de las instalaciones.

A Alejandro Téllez Ordoñez de la Ingeniería en Biotecnología del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), por el apoyo brindado durante el muestreo.

A la Dra. Irma Morales Rodríguez, por la ayuda, conocimiento y tiempo dedicado a la culminación de este trabajo, gracias por creer en mí.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi hijo, Lalito, quien ha sido mi mayor inspiración para salir adelante. Gracias por acompañarme, comprenderme y alegrar cada uno de mis días con tu sonrisa. Este logro también es tuyo.

A mis padres, por creer siempre en mí y acompañarme en cada etapa, incluso cuando el camino parecía difícil. Gracias por su amor incondicional, por sus enseñanzas y por impulsarme a nunca rendirme.

A mis hermanos, por su apoyo incondicional, su cariño y su compañía. Si hoy he llegado hasta aquí, es en gran parte gracias al amor y consejos que siempre me han brindado.

A Miguel, por creer en mí, por su apoyo incondicional, por sus consejos, su cariño, por escucharme, por acompañarme en cada una de las aventuras y desafíos que formaron parte de este proceso, fue más fácil enfrentar los días difíciles en tu compañía.

A mis amigas Ana Belén y Miranda, gracias por hacer que mi paso por la universidad fuera más fácil, con aprendizajes y lleno de momentos inolvidables. Gracias por su amistad, su apoyo y por estar siempre presentes.

A mi amiga Alma, por creer en mí, escucharme, aconsejarme y acompañarme en cada paso de este camino.

A David, por acompañarme en la culminación de este camino que esperé durante tanto tiempo y que representa un logro en mi vida. Gracias por tu apoyo, tus consejos, tu cariño y por cada uno de los aprendizajes compartidos. Gracias por todos los momentos felices y por las aventuras que hicieron este proceso aún más especial.

Finalmente, dedico este trabajo a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a mi crecimiento personal y profesional.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
RESUMEN.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
REVISIÓN DE LITERATURA	12
1. Fitopatología.....	12
1.1 Hongos fitopatógenos	12
1.2 Estrategias nutricionales de los hongos fitopatógenos	12
1.3 Hongos biotróficos: Erysiphales (cenicilla)	14
1.4 Características generales de Erysiphales	14
1.5 Ciclo de vida de la cenicilla	17
1.6 Importancia fitopatológica.....	17
1.7 Especificidad hospedante-patógeno.....	18
2. Sistemática y taxonomía de Erysiphales	18
2.1 Orden Erysiphales (cenicilla)	18
2.2 Clasificación taxonómica de Erysiphales	18
2.3 Problemas de identificación en Erysiphales	19
2.4 La familia Asteraceae como hospedante de Erysiphales	20
2.5 <i>Helminthotheca echioides</i>	20
2.6 Distribución	21
2.7 Importancia ecológica y agrícola	21
2.8 Reportes de cenicilla en esta especie	21
3. Filogenia	22
3.1 Marcadores moleculares en taxonomía de hongos	22
3.1.1 Regiones ribosomales	22
3.1.2 Genes codificantes de proteínas.....	24
3.2 Filogenia molecular y sistemática	25
3.2.1 Árbol filogenético	25

3.2.2 Análisis concatenado de genes	27
3.2.3 Análisis multilocus en Erysiphales.....	27
OBJETIVO.....	28
Objetivo general.....	28
Objetivos específicos	28
HIPÓTESIS	28
JUSTIFICACIÓN.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS	30
4.1 Localización del área de muestreo	30
4.2 Muestreo	30
4.3 Análisis morfológico e identificación taxonómica	30
4.4 Extracción de ADN	31
4.5 Amplificación por PCR.....	32
4.6 Electroforesis	33
4.7 Secuenciación Sanger	33
4.8 Análisis filogenético	34
RESULTADOS.....	38
5.1 Identificación del hospedante	38
5.2 Análisis morfológico	38
5.2.1 Comparación morfológica con especies afines	40
5.3 Análisis molecular	44
5.4 Secuencias de las regiones ITS, LSU, TUB2 y GAPDH.....	44
5.5 Análisis de similitud (BLAST).....	45
5.6 Análisis filogenéticos	46
5.6.1 Análisis filogenético por región génica.....	46
5.6.2 Análisis filogenético concatenado.....	49
DISCUSIÓN.....	52
CONCLUSIÓN	55
REFERENCIAS	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de los hongos biótrofos, necrótrofos y hemibiótrofos.	13
Cuadro 2. Fórmulas utilizadas para el análisis morfologico de las estructuras	31
Cuadro 3. Lista de primers utilizados.	32
Cuadro 4. Secuencias utilizadas en el análisis filogenético.	35
Cuadro 5. Comparación morfológica entre la especie de estudio y especies alineadas de <i>Golovinomyces en el banco de genes</i> .	42
Cuadro 6. Secuencias obtenidas	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Forma de conidios.	15
Figura 2. Germinación de conidios.	15
Figura 3. Forma de apresorios.	16
Figura 4. Ejemplo de algunos tipos de conidióforos.	16
Figura 5. Esquema de las regiones del ADN ribosomal.	23
Figura 6. Abrojo europeo (<i>Helminthotheca echioides</i>).	38
Figura 7. Síntomas y signos de <i>Golovinomyces ambrosiae</i> en <i>Helminthotheca echioides</i> .	39
Figura 8. Estructuras morfológicas de <i>Golovinomyces ambrosiae</i> en <i>Helminthotheca echioides</i> .	40
Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa 1% de los productos amplificados por PCR de las regiones LSU, TUB y del gen GAPDH.	44
Figura 10. Árbol de máxima verosimilitud de la región ITS.	47
Figura 11. Árbol de máxima verosimilitud de la región LSU.	47
Figura 12. Árbol de máxima verosimilitud del genTub2.	48
Figura 13. Árbol de máxima verosimilitud del gen GAPDH.	49
Figura 14. Árbol de máxima verosimilitud de secuencias combinadas de ITS, LSU y GAPDH.	50

RESUMEN

Para la identificación de especies de hongos u otros organismos, y que no se diferencian molecularmente por amplificación de la región ITS-nARN, se requiere análisis múltiples con varios marcadores. Tal caso se documentó en este estudio con especies causantes de “cenicilla” y colectadas en plantas medicinales. El objetivo del estudio fue identificar por morfología y análisis multilocus a una especie de *Golovinomyces* en una planta medicinal silvestre, en Tulancingo, Hidalgo. En marzo de 2026, se colectaron muestras en “abrojo europeo” con síntomas y signos de cenicilla. Los síntomas se observaron en el estereomicroscopio, y de los signos se hicieron montajes y las estructuras se midieron en micrómetros (apresorios, conidióforos y conidios), y fotografiaron en el microscopio óptico. La identificación fue con claves taxonómicas y descripciones de especies Tipo de literatura especializada. La planta hospedante fue identificada en el laboratorio de Botánica del ICAP. La caracterización molecular se hizo por secuenciación de ITS, LSU, TUB2 y GAPDH. El hospedante se identificó como *Helminthotheca echioides*, y la cenicilla se identificó morfológicamente como *Golovinomyces ambrosiae*; no se observó estado sexual. Los análisis filogenéticos por ITS y LSU no diferenciaron *G. ambrosiae* de *G. latisporus* y *G. eurybiarum*; estuvieron en un mismo clado con Bootstrap del 100 %. Por TUB2 y GAPDH si se diferenció *G. ambrosiae* de las otras especies, al ubicarse en un clado único con 100 % de Bootstrap. El estudio contribuye al conocimiento de la biodiversidad y distribución de especies biotróficas obligadas de cenicilla en México. En ninguno de los marcadores analizados se obtuvo secuencia tipo.

INTRODUCCIÓN

Los hongos pertenecientes al orden Erysiphales (Ascomycota) causan la enfermedad conocida como “cenicilla”, son fitopatógenos biotróficos obligados capaces de infectar una amplia diversidad de plantas cultivadas, silvestres y arvenses. Además, estos organismos pueden actuar como fuentes de inóculo, favoreciendo la persistencia y propagación de nuevas infecciones en cultivos de importancia agrícola (Agrios, 2005; Braun & Cook, 2012). Debido a que obtienen nutrientes exclusivamente de tejidos vivos, no es posible su crecimiento en medios de cultivo. Por ello, su identificación se basa principalmente en caracteres morfológicos comparados con claves taxonómicas y especies tipo, así como en la relación con la familia hospedante y en el uso de herramientas moleculares (Braun & Cook, 2012). Se han descrito aproximadamente 900 especies de cenicillas dentro de la familia *Erysiphaceae*, distribuidas en 19 géneros que infectan más de 10,000 especies de plantas en el mundo (Amano, 1986; Braun & Cook, 2012).

Golovinomyces sp. fue propuesto originalmente por Uwe Braun (1978) como una sección después del género *Erysiphe*. Actualmente, Braun y Takamatsu (2000) reconocieron a *Golovinomyces* como un género independiente y establecieron la tribu Golovinomyceteae. Este género comprende aproximadamente 57 especies y cinco variedades (Qiu et al., 2020). Este género presenta especies crípticas también llamadas especies hermanas o complejos de especies, estos son grupos de organismos que tienen características morfológicas similares y difíciles de diferenciar entre sí, sin embargo son especies biológicas o evolutivas distintas. Para poder delimitar estas especies se requieren análisis de secuencias de ADN y análisis filogenéticos (Shin & Allmon, 2023).

Se han utilizado regiones ITS (*Internal Transcribed Spacer*) y LSU del ADN ribosomal, debido a que estos marcadores ribosomales presentan regiones conservadas que facilitan la comparación entre especies relacionadas. Sin embargo, en diversos complejos de especies de *Erysiphales*, las secuencias ITS y LSU muestran una resolución limitada para discriminar taxones estrechamente relacionados, ya que generan clados con bajos niveles de separación genética o altos valores de similitud entre especies. Por ello, estudios recientes han incorporado genes codificantes de proteínas, como *GAPDH* (*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*) y *TUB2* (β -tubulina), los cuales presentan mayor variabilidad nucleotídica y un mayor número de sitios filogenéticamente informativos, permitiendo mejorar la

separación de clados y aumentar el soporte estadístico bootstrap en los análisis filogenéticos (Ellingham et al., 2019; Bradshaw et al., 2022).

A pesar de la amplia distribución y relevancia económica de las cenicillas en México, los estudios con enfoque multilocus en especies del género *Golovinomyces* siguen siendo limitados, particularmente en el estado de Hidalgo.

Debido a esto el objetivo del presente estudio fue identificar por morfología y mediante un análisis multilocus basado en las regiones ITS, LSU y genes GAPDH y TUB2 para delimitar la especie de *Golovinomyces* asociada a abrojo europeo (*Helminthotheca echioides*) en Tulancingo, Hidalgo.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Fitopatología

1.1 Hongos fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos tienen características biológicas que les permiten infectar y colonizar a sus hospedantes, como la producción de esporas que facilitan su dispersión, la capacidad de germinar sobre la superficie de la planta, formación de estructuras especializadas, secreción de enzimas y moléculas efectora (Rivera Coto, 2007; Castaño Zapata, 2015).

Se encuentran principalmente dentro de los filos *Ascomycota* y *Basidiomycota*. Dentro del filo *Ascomycota*, los hongos fitopatógenos se encuentran distribuidos en diversas clases taxonómicas, entre las que destacan *Dothideomycetes*, caracterizados por producir ascomas del tipo pseudotecio e incluir géneros fitopatógenos como *Cladosporium* spp.; *Sordariomycetes*, que producen peritecios y comprenden géneros de importancia fitopatológica como *Magnaporthe* spp.; y *Leotiomycetes*, clase caracterizada por producir ascomas tipo apotecio y que incluye a los hongos causantes de oídios pertenecientes al orden *Erysiphales*, por ejemplo, el género *Erysiphe* (Doehlemann et al., 2017).

1.2 Estrategias nutricionales de los hongos fitopatógenos

La interacción y el tipo de daño de los hongos fitopatógenos a la planta hospedante está determinada por la forma en la que obtienen nutrientes de su hospedante. Se llaman parásitos obligados aquellos que dependen completamente de los tejidos vivos del hospedante para completar su ciclo de vida, mientras que los patógenos facultativos pueden desarrollarse tanto en el hospedante como de manera independiente en condiciones saprofiticas, de acuerdo con sus requerimientos nutricionales. Además se clasifican según su estilo de vida patogénica y la forma en que se alimentan del huésped en biótrofos, necrótrofos y hemibiotrofos (Doehlemann et al., 2017). Algunas de sus principales características se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1.

Características de los hongos biótrofos, necrótrofos y hemibiótrofos (Doehlemann et al., 2017)

Característica	Biótrofos	Necrótrofos	Hemibiótrofos
Fuente de nutrientes	Obtienen nutrientes de células vivas del hospedante	Se alimentan de tejido vegetal muerto	Inicialmente de células vivas y posteriormente de tejido muerto
Efecto en el hospedante	Mantienen vivas las células infectadas	Inducen la muerte celular antes o durante la colonización	Fase inicial sin muerte celular seguida de necrosis
Estrategia de infección	Forman estructuras especializadas como haustorios para absorber nutrientes y suprimir las defensas del hospedante	Secretan toxinas, enzimas hidrolíticas y otros compuestos que provocan necrosis	Presentan una fase biotrófica seguida de una fase necrotrófica
Tipo de interacción con la planta	Relación íntima y prolongada con células vivas	Colonización posterior a la muerte del tejido	Interacción inicialmente similar a la biotrofia y posteriormente a la necrotrófia
Ejemplos de patógenos	Cenicillas (orden Erysiphales) y royas (orden <i>Pucciniales</i>)	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Colletotrichum</i> spp., <i>Magnaporthe oryzae</i>

1.3 Hongos biotróficos: Erysiphales (cenicilla)

Como se mencionó anteriormente, las cenicillas pertenecientes al orden Erysiphales son fitopatógenos vegetales biotróficos obligados que requieren de su hospedante para crecer, reproducirse y obtener los compuestos necesarios para su metabolismo, durante este proceso de infección mantienen vivas las células del hospedante (Matsuda & Takamatsu, 2003).

1.4 Características generales de Erysiphales

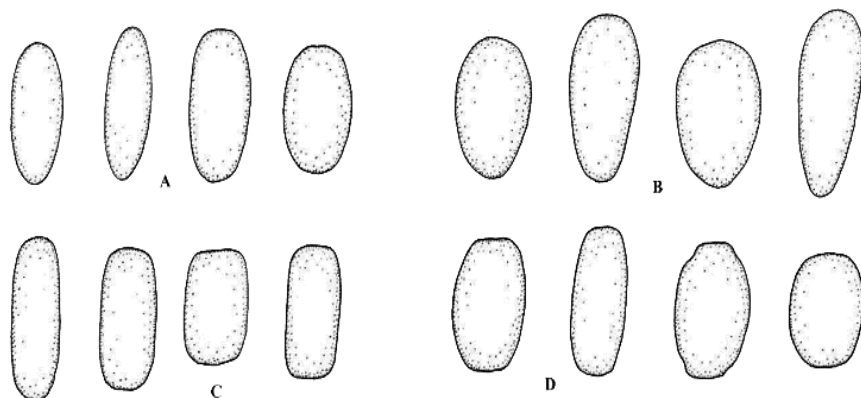
En el orden Erysiphales, durante su ciclo de vida presentan una fase asexual (anamorfo, forma: conidios) y una fase sexual (teleomorfo, forma: casmotecios). Los caracteres asexuales, como la morfología de los conidios, el tipo de conidiación y los patrones de germinación, son de gran importancia en la taxonomía moderna, especialmente en estudios donde las estructuras sexuales no siempre están presentes. Por otro lado, los sexuales, representados principalmente por los ascomas (chasmotecios), así como por la morfología de sus apéndices, el número de ascas y las características de las ascosporas, constituyen la base de la clasificación tradicional del grupo (Bélanger et al., 2002). En conjunto, ambos tipos de caracteres permiten una delimitación más precisa de géneros y especies dentro del orden. A continuación se describen los principales caracteres taxonómicos asociados a cada fase.

Características de la fase anamorfa o asexual (Braun & Cook, 2012):

- Conidios: Son estructuras unicelulares, hialinas y de pared delgada; presentan variación en forma (cilíndrica, elipsoidal, ovoidal, doliiforme) (Figura 1), tamaño y relación largo/ancho; pueden mostrar dimorfismo entre conidios primarios y secundarios. También se considera el tipo de conidiación, tipo *Pseudoidium* (conidios solitarios) o tipo catenescence (conidios en cadenas).

Figura 1

Formas de conidios

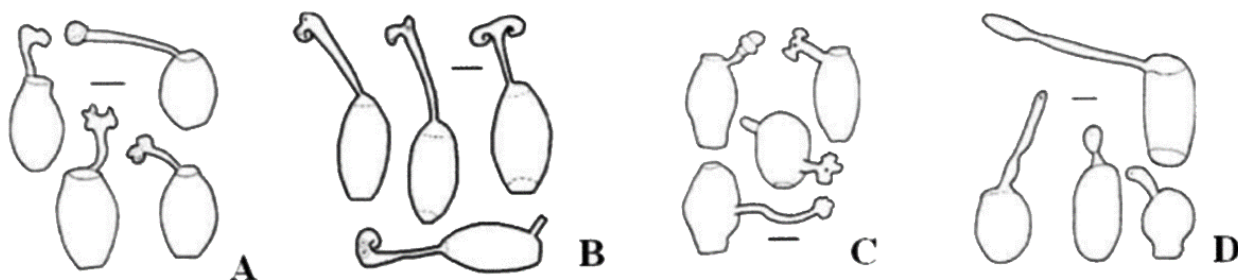


Formas de los conidios: (A) elipsoide, (B) ovoide (obovoide), (C) cilíndrica y (D) doliforme. Tomado de *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*, de Braun y Cook (2012). Imagen utilizada únicamente con fines académicos y científicos.

- Germinación de conidios: Patrón del tubo germinativo, incluyendo forma, número, posición y tipo de apesorio desarrollado (Figura 2).

Figura 2

Germinación de conidios.



Ejemplos de los tipos de germinación de conidios en cenicillas: (A) tipo *Pseudoidium*, (B) tipo *Pseudoidium*, (C) tipo *Striatoidium*, (D) tipo *Euoidium*. Tomado de *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*, de Braun y Cook (2012). Imagen utilizada únicamente con fines académicos y científicos. Barras = 10 μ m

- Apesorios: Son estructuras de fijación al hospedero; pueden ser indistintos, en forma de protuberancia, lobulados, coraliformes o en gancho (Figura 3).

Figura 3

Forma de apresorios.

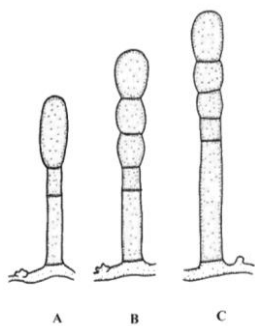


(A) indistintos, (B y C) ligeramente en forma de protuberancia, (D a F) en forma de protuberancia, (G) en forma de protuberancia con superficie crenulada, (H) ligeramente lobulados, (I) lobulados. Tomado de *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*, de Braun y Cook (2012). Imagen utilizada únicamente con fines académicos y científicos.

- Conidióforos: Hifas especializadas productoras de conidios; varían en longitud, forma (rectos, curvos, flexuosos) y disposición celular (Figura 4).

Figura 4

Ejemplos de algunos tipos de conidióforos.



(A) Conidios formados individualmente (tipo Pseudoidium), (B) Conidios catenescences (en cadenas genuinas), (C) Conidios catenescences. Tomado de *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*, de Braun y Cook (2012). Imagen utilizada únicamente con fines académicos y científicos.

- Micelio: Generalmente epífito, hialino y septado; puede presentar variaciones en persistencia, pigmentación y grosor de hifas.
- Haustorios: Órganos de absorción que se desarrollan dentro de las células del hospedante; generalmente globosos o lobulados.

Características de la fase sexual (Braun & Cook, 2012):

- Ascoma (chasmotecio): Cuerpo fructífero cerrado, generalmente esférico, que contiene las ascas; varía en tamaño, color y disposición sobre el hospedante.
- Apéndices del ascoma: Proyecciones externas del ascoma; varían en forma (simples, ramificadas, unciformes, dicotómicas), longitud, número y ornamentación.
- Ascas: Estructuras que contienen las ascosporas; varían en forma (globosa, elipsoidal), tamaño y disposición, para clasificación taxonómica se considera el número de ascas contenidas en casa ascoma.
- Ascosporas: Esporas sexuales contenidas en las ascas; varían en número, forma, tamaño.
- Peridio: Pared del ascoma formada por células organizadas; presenta variación en tamaño y forma de las células.

1.5 Ciclo de vida de la cenicilla

El ciclo de vida de los hongos del orden *Erysiphales* incluye fases de reproducción asexual y sexual. La infección generalmente comienza cuando los conidios se depositan sobre la superficie de la planta y germinan bajo condiciones ambientales favorables. Posteriormente, el hongo desarrolla micelio superficial y forma haustorios para obtener nutrientes del hospedante (Bélanger et al., 2002).

Durante la fase asexual, el patógeno produce grandes cantidades de conidios que facilitan la rápida dispersión de la enfermedad. En determinadas condiciones ambientales, algunos oídios pueden producir estructuras sexuales denominadas chasmotecios, dentro de las cuales se desarrollan las ascas con ascosporas. Estas estructuras permiten la supervivencia del patógeno en condiciones adversas y contribuyen a la persistencia de la enfermedad entre ciclos de cultivo (Braun & Cook, 2012).

1.6 Importancia fitopatológica

Desde el punto de vista fitopatológico, los *Erysiphales* presentan una amplia distribución geográfica y afectan a una gran diversidad de plantas cultivadas y silvestres. Se estima que estos patógenos pueden infectar más de 10,000 especies de plantas pertenecientes a numerosas familias botánicas (Amano, 1986; Braun & Cook, 2012). La infección causada por cenicillas interfiere con procesos fisiológicos esenciales como la fotosíntesis, la transpiración y el crecimiento, lo que puede provocar reducciones significativas en el rendimiento y calidad de los cultivos (Agrios, 2005; Glawe, 2008).

En el contexto agrícola, las cenicillas representan un problema fitosanitario relevante debido a su rápida dispersión y capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales. Además, su control suele implicar el uso intensivo de fungicidas, lo que incrementa los costos de producción y favorece la aparición de resistencia en las poblaciones del patógeno (McGrath, 2001; Glawe, 2008).

En México, los *Erysiphales* han sido reportados en diversos sistemas agrícolas, afectando cultivos como cucurbitáceas, solanáceas, cereales, forestales y ornamentales, así como especies silvestres que pueden actuar como reservorios de inóculo (Braun & Cook, 2012; Araujo et al., 2012; Rodríguez-Alvarado et al., 2007; Villanueva-Arce et al., 1999; Yáñez-Morales et al., 2009).

1.7 Especificidad hospedante-patógeno

Otra característica importante de las especies de la familia Erysiphaceae es su alto grado de especificidad hacia el hospedante, ya que muchas de ellas son capaces de infectar únicamente a una especie vegetal o a un grupo reducido de plantas relacionadas. Esta especialización suele estar asociada con procesos de coevolución entre el patógeno y la planta hospedante, lo que favorece la adaptación del hongo a su hospedante específico. Como resultado, los hongos desarrollan diversos mecanismos que les permiten evadir o suprimir las respuestas de defensa de la planta, facilitando así la colonización de los tejidos vegetales y la obtención continua de nutrientes necesarios para su desarrollo (Matsuda & Takamatsu, 2003).

2. Sistemática y taxonomía de Erysiphales

2.1 Orden Erysiphales (cenicilla)

Las cenicillas pertenece al orden Erysiphales, conocidas por producir una apariencia blanquecina o polvorienta sobre la superficie de hojas, tallos y otros órganos vegetales (Bradshaw et al., 2022).

2.2 Clasificación taxonómica de Erysiphales

Actualmente, la familia *Erysiphaceae* se encuentra organizada en diversas tribus y subtribus que agrupan a los principales géneros del orden Erysiphales. Dentro de la tribu *Erysipheae* se incluye el género *Erysiphe*, el cual comprende géneros previamente reconocidos como *Bulbomicrosphaera*, *Bulbouncinula*, *Furcouncinula*, *Medusosphaera*, *Microsphaera*, *Setoerysiphe*, *Typhulochaeta*, *Uncinula* y *Uncinuliella*. Otra de las tribus reconocidas es *Golovinomyceteae*, la cual se subdivide en las subtribus *Neoerysiphinae*, que incluye al

género *Neoërysiphe*; *Golovinomycetinae*, que agrupa al género *Golovinomyces*; y *Arthrocladiellinae*, representada por el género *Arthrocladiella*. Asimismo, la tribu *Cystothecaceae* comprende la subtribu *Cystothecinae*, integrada por los géneros *Cystotheca* y *Podosphaera*, incluyendo a *Sphaerotheca*; además de la subtribu *Sawadaeinae*, representada por el género *Sawadaea*. Por otro lado, la tribu *Phyllactinieae* incluye los géneros *Leveillula*, *Phyllactinia*, *Pleochaeta* y *Queirozia*, mientras que la tribu *Blumerieae* está representada por el género *Blumeria*. Finalmente, también se reconoce a *Microidium* como un género anamórfico dentro de Erysiphales (Braun & Cook, 2012). Esta clasificación refleja la diversidad y complejidad del grupo, así como la importancia de los caracteres morfológicos y moleculares en la delimitación de los taxones dentro de los Erysiphales.

2.3 Problemas de identificación en Erysiphales

La clasificación de los *Erysiphales* ha sido ampliamente revisada en las últimas décadas con base en evidencia morfológica y molecular. Tradicionalmente, la delimitación taxonómica dentro de este grupo se sustentaba principalmente en caracteres morfológicos tanto del estado sexual como del asexual, incluyendo la morfología de los ascomas (casmotecios), sus apéndices, así como la forma de los conidios y los tipos de germinación. No obstante, estos caracteres pueden presentar una elevada variabilidad fenotípica, ya que su desarrollo está influenciado por factores ambientales, el hospedante, estado sexual y asexual del hongo (Bélanger et al., 2002). Esta variabilidad puede generar diferencias morfológicas dentro de una misma especie. Muchas especies de Erysiphales presentan morfologías muy similares, especialmente en su fase asexual, lo que ha llevado históricamente a confusiones taxonómicas y a la formación de complejos de especies (Takamatsu, 2004; Braun & Cook, 2012). Otra limitación importante es que en numerosos casos las estructuras sexuales no están presentes en las muestras analizadas, ya sea por condiciones ambientales o por el momento de colecta, lo que impide observar caracteres clave para la identificación. En estas situaciones, la determinación se basa únicamente en estructuras anamórficas, las cuales suelen ser insuficientes para diferenciar especies cercanas. Además, aunque la especificidad hacia el hospedante puede ser un criterio útil, no siempre es estricta, ya que existen especies con amplios rangos de hospedantes de diferentes familias botánicas (Braun & Cook, 2012).

Actualmente, la taxonomía del grupo integra estos caracteres morfológicos junto con análisis filogenéticos derivados de secuencias de ADN, los cuales permiten reflejar con mayor precisión las relaciones evolutivas entre las especies (Braun & Cook, 2012).

En conjunto, estas limitaciones evidencian que la identificación basada exclusivamente en la morfología puede resultar imprecisa en Erysiphales, lo que ha impulsado la incorporación de herramientas moleculares como complemento indispensable para una correcta delimitación de especies.

2.4 La familia Asteraceae como hospedante de Erysiphales

La familia Asteraceae, es uno de los grupos más diversos de angiospermas, con una amplia distribución en México y a nivel mundial. Se ha reportado la riqueza y abundancia de esta familia en distintos ecosistemas del país, donde forma parte importante de la vegetación tanto en ambientes naturales como modificados por el hombre, favoreciendo su interacción con diversos organismos, incluidos algunos de carácter fitopatógeno (Villaseñor, 2018; Rzedowski & Calderón de Rzedowski, 2022).

Algunos géneros como *Golovinomyces*, *Erysiphe* y *Podosphaera* se asocian frecuentemente con hospedantes pertenecientes a la familia Asteraceae (Braun & Cook, 2012). Estas especies muestran patrones de coevolución entre el hongo y sus hospedantes de las tribus de la familia Asteraceae y ha sido demostrado en diferentes estudios filogenéticos basados en secuencias de ADN ribosomal donde varias especies de *Golovinomyces* se agrupan de acuerdo con las que infectan (Matsuda & Takamatsu, 2003).

La combinación de alta diversidad, amplia distribución y presencia en ambientes agrícolas y ruderales convierte a la familia Asteraceae en un componente clave en la epidemiología de las cenicillas. En particular, muchas de sus especies actúan como reservorios de inóculo, facilitando la dispersión y persistencia de estos patógenos en distintos ecosistemas, lo que incrementa su relevancia desde el punto de vista fitopatológico.

2.5 *Helminthotheca echioides*

Helminthotheca echioides es una planta perteneciente a la familia Asteraceae, conocida en México como “abrojo”. Originalmente fue descrita como *Picris echioides* por Carlos Linneo, y posteriormente transferida al género *Helminthotheca*. Es una especie anual a perenne (CONABIO, 2026)

Clasificación taxonómica:

- Reino: Plantae
 - División: Tracheophyta
 - Clase: Magnoliopsida
 - Orden: Asterales
 - Familia: Asteraceae
 - Género: *Helminthotheca*
 - Especie: *Helminthotheca echiodides*

2.6 Distribución

Es una especie nativa de la región mediterránea; sin embargo, en la actualidad presenta una amplia distribución como resultado de su introducción y naturalización en diversos continentes (CONABIO, 2026).

Se encuentra ampliamente distribuida en:

- Europa
- América (Norte y Sur)
- Australia y Nueva Zelanda
- África
- México

2.7 Importancia ecológica y agrícola

En México, *Helminthotheca echiodides* es reportada como una maleza principalmente ruderal, frecuentemente asociada a sitios con drenaje deficiente. Esta especie es común en ambientes perturbados, donde se establece en campos agrícolas, bordes de caminos, terrenos baldíos y zonas urbanas (CONABIO, 2026).

Su importancia radica no solo en su carácter invasivo como maleza, sino también en su papel potencial como fuentes de inóculo y hospedantes alternos de patógenos, lo que puede contribuir a la persistencia y dispersión de enfermedades que afectan a cultivos de interés agrícola (Agrios, 2005; CONABIO, 2026).

2.8 Reportes de cenicilla en esta especie

En especies de la familia Asteraceae, a la cual pertenece *Helminthotheca echiodides*, se ha documentado la presencia de hongos del orden Erysiphales (Qiu et al., 2020). Sin embargo, de acuerdo con el *Taxonomic Manual of the Erysiphales* de Uwe Braun y Roger T. A. Cook (2012), no existen registros específicos del género *Helminthotheca* como hospedante de estos

hongos. Asimismo, no se encontraron reportes de Erysiphales infectando a *H. echinoides* en la literatura consultada.

3. Filogenia

3.1 Marcadores moleculares en taxonomía de hongos

Un marcador molecular es una porción específica de la secuencia de ADN de un genoma que se utiliza para la identificación de especies y el estudio de relaciones evolutivas (Oliveira & Azevedo, 2022). En grupos como las cenicillas (orden Erysiphales), donde la morfología puede ser reducida o altamente conservada, las herramientas moleculares en conjunto con las características morfológicas han sido fundamentales para delimitar especies, resolver complejos crípticos y establecer relaciones filogenéticas más precisas (Braun & Cook, 2012).

3.1.1 Regiones ribosomales

Las regiones del ADN ribosomal (ADNr) constituyen los marcadores moleculares más utilizados en la taxonomía de hongos, debido a su organización en múltiples copias en el genoma, lo que facilita su amplificación mediante PCR, así como a la presencia de regiones altamente conservadas intercaladas con regiones variables (Schoch et al., 2012).

El ADN ribosomal se encuentra organizado en unidades repetidas en tándem que incluyen los genes que codifican para el ARN ribosomal pequeño (SSU o 18S), el gen 5.8S y el ARN ribosomal grande (LSU o 28S), separados por espaciadores internos transcritos (ITS1 e ITS2). Esta estructura permite utilizar distintas regiones del ADNr dependiendo del nivel taxonómico de interés (Raja et al., 2017; White et al., 1990).

Las regiones conservadas, como el SSU y el LSU, son útiles para estudios filogenéticos a niveles taxonómicos superiores, ya que presentan menor tasa de evolución. En contraste, las regiones ITS presentan una mayor variabilidad, lo que permite su uso en la delimitación de especies y en la identificación molecular de hongos (Raja et al., 2017).

3.1.1.1 ITS (Internal Transcribed Spacer)

La región ITS, que incluye los espaciadores ITS1 e ITS2 y el gen 5.8S, es reconocida como el principal marcador de código de barras en hongos por el Consorcio para el Código de Barras de la Vida (Schoch et al., 2012).

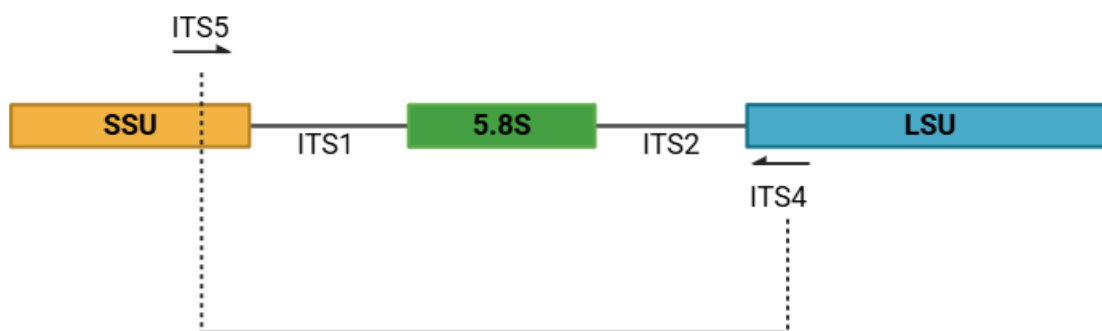
Para la amplificación de la región ITS completa o de segmentos específicos de esta, se emplean diversos cebadores (Figura 6). Los cebadores más utilizados fueron desarrollados a

principios de la década de 1990, cuando aún se conocía una fracción limitada de la variabilidad del ADN ribosomal en hongos (White et al., 1990).

En particular, la amplificación de la región ITS del ADN ribosomal se realiza comúnmente mediante el uso de los cebadores universales ITS5 e ITS4, los cuales permiten obtener un fragmento que incluye los espaciadores ITS1 e ITS2, así como el gen 5.8S (White et al., 1990). El cebador ITS5 se une a la región conservada del gen 18S rRNA, mientras que ITS4 se alinea con la región del gen 28S rRNA, lo que posibilita la amplificación completa de la región ITS (Bellemain et al., 2010).

Figura 5.

Esquema de las regiones del ADN ribosomal y la región donde se unen los primers ITS4 e ITS5.



Nota: Creado con BioRender.com, basado en la organización del ADN ribosomal descrita en White et al. (1990) y Bellemain et al., (2010).

3.1.1.2 LSU

La región LSU (subunidad grande del ADN ribosomal, 28S rRNA) es un marcador molecular ampliamente utilizado en estudios filogenéticos de hongos, debido a su nivel intermedio de variabilidad en comparación con otras regiones del ADN ribosomal. A diferencia del gen SSU, que presenta una evolución más conservada, y de la región ITS, que evoluciona más rápidamente, el LSU ofrece un balance adecuado que permite su aplicación en la delimitación de relaciones taxonómicas a niveles intermedios, como género y familia (Kurtzman et al., 2003; Bellemain et al., 2010).

En Erysiphales, el LSU ha sido empleado para establecer relaciones evolutivas entre géneros y confirmar la posición taxonómica de especies, aunque su menor variabilidad limita su uso en la delimitación fina de especies (Braun & Cook, 2012).

3.1.2 Genes codificantes de proteínas

Los genes codificantes de proteínas son secuencias de ADN que contienen la información necesaria para la síntesis de proteínas funcionales dentro de la célula. A diferencia de regiones altamente conservadas como el ADN ribosomal, estos genes presentan una mayor variabilidad en sus secuencias, lo que los convierte en herramientas útiles para estudios filogenéticos y de delimitación de especies (Qiu et al., 2020).

3.1.2.1 GAPDH (Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa)

La gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) es una enzima central en la glucólisis, una vía metabólica fundamental para la obtención de energía en las células. Esta enzima cataliza la conversión del gliceraldehído-3-fosfato en 1,3-bisfosfoglicerato, reacción en la cual se reduce el NAD^+ a NADH, contribuyendo así a la generación de energía química en forma de equivalentes reductores (Leyva Carrillo et al., 2025).

Además de su papel metabólico, GAPDH ha sido ampliamente estudiada por su expresión relativamente constante en distintos tipos celulares y condiciones experimentales, aunque GAPDH no es el marcador común en comparación con regiones como el ITS en hongos, su secuencia ha sido empleada en algunos análisis filogenéticos debido a su conservación y presencia en una amplia variedad de organismos (Bradshaw et al., 2022).

3.1.2.2 Tubulina β (TUB2)

Las proteínas de tubulina son los componentes principales de los microtúbulos, las cuales se asocian con otras proteínas como las quinesinas y dineínas para ensamblar polímeros dinámicos en los microtúbulos que son importantes para la división celular, transporte, generación, mantenimiento y movimiento celular (Vela-Corcía et al., 2014).

Existen siete variedades dentro de la familia de proteínas: α (alfa), β (beta), γ (gamma), δ (delta), ϵ (épsilon), ζ (zeta) y η (eta), pero las tubulinas α y β están presentes con mayor abundancia en células eucariotas formando parte de heterodímeros en los microtúbulos, las otras variedades son relacionadas con funciones del cuerpo basal de las células y organismos eucariotas (Vela-Corcía et al., 2014).

Además se ha reportado que las tubulinas α y β tienen una notable conservación evolutiva, especialmente en sus regiones N-terminales, con identidades de secuencia de 65–70 % entre taxones eucariotas. Debido a su alta conservación, el gen de la β -tubulina es utilizado como

marcador para estudios filogenéticos y evolutivos en diversos grupos de organismos, especialmente en filos de hongos (Einax & Voigt, 2003).

3.2 Filogenia molecular y sistemática

La filogenética molecular es una disciplina que permite inferir las relaciones evolutivas entre organismos mediante la comparación de secuencias de ADN, bajo el principio de que los genomas evolucionan por la acumulación gradual de mutaciones. En este sentido, la cantidad de diferencias en la secuencia de nucleótidos entre dos organismos refleja el tiempo transcurrido desde su ancestro común, de modo que secuencias más similares indican divergencias más recientes. El desarrollo de la filogenética molecular se basa en la transición desde la taxonomía tradicional, fundamentada en caracteres morfológicos, hacia el uso de datos moleculares. Estos últimos presentan importantes ventajas: permiten analizar un gran número de caracteres simultáneamente, ya que cada posición de nucleótido constituye una unidad de información; son objetivamente identificables (A, T, C y G); y pueden transformarse fácilmente en datos numéricos, lo que facilita su análisis mediante herramientas estadísticas y computacionales (Brown, 2002).

3.2.1 Árbol filogenético

Los árboles filogenéticos son una reconstrucción de árboles que representan las relaciones evolutivas entre los organismos analizados. Estos árboles están formados por nodos y ramas: los nodos externos representan las secuencias actuales, mientras que los nodos internos corresponden a ancestros comunes hipotéticos. La longitud de las ramas refleja el grado de divergencia genética. Asimismo, es importante distinguir entre árboles sin raíz, que muestran relaciones sin dirección evolutiva, y árboles con raíz, que permiten inferir la secuencia de eventos evolutivos mediante la inclusión de un grupo externo (Brown, 2002).

La reconstrucción de árboles filogenéticos consiste principalmente en los siguientes pasos:

- Alineación de secuencias y generación de datos comparativos: Es el paso preliminar más importante en la reconstrucción de árboles filogenéticos, debido a que el análisis filogenético se basa en la comparación de secuencias de nucleótidos, lo cual solo es posible mediante un alineamiento adecuado que permita identificar diferencias y similitudes. Existen métodos matemáticos para optimizar el alineamiento como el enfoque de similitud (maximiza coincidencias) y el enfoque de distancia (minimiza diferencias). En la mayoría de los análisis se realiza un alineamiento múltiple, ya que

se comparan varias secuencias simultáneamente. Debido a su complejidad, los alineamientos múltiples se realizan con programas informáticos especializados, siendo uno de los más utilizados Clustal y MUSCLE (Brown, 2002).

- **Conversión de datos comparativos en un árbol filogenético:** Puede llevarse a cabo mediante diversos métodos, entre los enfoques más comunes se encuentran los métodos basados en distancias, como el de unión de vecinos, que convierten las diferencias entre secuencias en matrices de distancias para inferir relaciones evolutivas de manera rápida y eficiente. Métodos basados en caracteres, como máxima parsimonia, que considera los cambios en los nucleótidos y busca el árbol que requiere el menor número de transformaciones evolutivas y métodos de máxima verosimilitud que estima la probabilidad de un árbol dado un modelo específico de evolución molecular. Los métodos bayesianos constituyen un enfoque estadístico más avanzado, ya que calculan la probabilidad de los árboles a partir de los datos observados e incorporan la incertidumbre en la estimación filogenética. En conjunto, estos métodos ofrecen diferentes aproximaciones para la inferencia filogenética, y la elección del más adecuado depende de las características del conjunto de datos y del objetivo del estudio (Brown, 2002; Felsenstein, 1981; Nascimento et al., 2017).
- **Evaluación de árbol reconstruido:** La evaluación de la confiabilidad de un árbol filogenético reconstruido se realiza comúnmente mediante el análisis de bootstrap, considerado uno de los métodos más utilizados para estimar el soporte de los nodos. Este procedimiento consiste en generar múltiples alineamientos a partir del alineamiento original, mediante la selección aleatoria de columnas con reemplazo. Aunque las nuevas matrices de datos difieren entre sí, conservan un patrón de variabilidad similar al original. Generalmente, se generan alrededor de 1000 réplicas, lo que permite reconstruir el mismo número de árboles filogenéticos. A cada nodo del árbol original se le asigna un valor de bootstrap, el cual indica la frecuencia con la que dicho patrón de ramificación aparece en los árboles replicados. Los valores de bootstrap se interpretan como una medida de soporte estadístico: valores superiores al 70% (por ejemplo, 700 de 1000 réplicas) se consideran evidencia de un soporte confiable, mientras que valores bajos indican una menor confianza en la estabilidad de ese nodo dentro del árbol (Brown, 2002).

- Reloj molecular: Permite inferir el momento en que ocurrieron los eventos de divergencia evolutiva, basándose en la tasa de acumulación de mutaciones en las secuencias. Para obtener estimaciones precisas, el reloj molecular debe ser calibrado, generalmente utilizando evidencia externa (Brown, 2002).

En estudios filogenéticos a nivel intraespecífico, es fundamental emplear loci genéticos altamente variables, ya que la baja divergencia entre individuos de una misma especie limita la cantidad de información filogenética disponible. Por ello, se seleccionan marcadores moleculares polimórficos que permitan detectar diferencias genéticas sutiles. En hongos, regiones como el ITS del ADN ribosomal, así como genes codificantes han demostrado ser útiles debido a su variabilidad (Brown, 2002; Ellingham et al., 2019; Bradshaw et al., 2022; Bradshaw & Tobin, 2020).

3.2.2 Análisis concatenado de genes

El análisis concatenado de genes es un método bioinformático que une secuencias de ADN o proteínas de diferentes loci (genes) de una misma cepa en un único conjunto de datos continuo (supermatriz) para mejorar la resolución de relaciones filogenéticas (CIAD, 2026). Este enfoque aumenta la potencia estadística, siendo superior al análisis de genes individuales, y se realiza comúnmente utilizando herramientas como Mesquite y SPLACE.

3.2.3 Análisis multilocus en *Erysiphales*

El análisis multilocus es una estrategia de análisis molecular que consiste en la secuenciación y análisis conjunto de múltiples genes o regiones variables del ADN, con el fin de identificar organismos y evaluar sus relaciones evolutivas. Este método es conocido como análisis de secuencias multilocus (MLSA) o tipificación de secuencias multilocus (MLST), y ha sido ampliamente aplicado en estudios filogenéticos y taxonómicos (Wen et al., 2020).

En los hongos del orden *Erysiphales*, el uso de enfoques multilocus ha adquirido gran relevancia debido a la alta similitud morfológica entre especies y la presencia de complejos de especies crípticas dificulta su delimitación precisa cuando se emplea únicamente una región genética. Por ello, el análisis combinado de múltiples loci, como la región ITS, LSU y genes codificantes de proteínas permite reconstruir filogenias más robustas, incrementando la resolución taxonómica dentro del mismo grupo (Qiu et al., 2020; Bradshaw et al., 2022; Bradshaw & Tobin, 2020).

OBJETIVO

Objetivo general

Identificar por morfología y mediante un análisis multilocus basado en las regiones ITS, LSU y genes GAPDH y TUB2 para delimitar la especie de *Golovinomyces* asociada a *Helminthotheca echioides* en Tulancingo, Hidalgo.

Objetivos específicos

- Realizar la identificación de la planta hospedante *Helminthotheca echioides*.
- Caracterizar y delimitar morfológicamente muestras de cenicilla presentes en *Helminthotheca echioides* en Tulancingo, Hidalgo.
- Realizar análisis filogenéticos con las secuencias de las regiones ITS, LSU, GAPDH y TUB2 para determinar la posición taxonómica del hongo dentro del género *Golovinomyces*.

HIPÓTESIS

La integración de ITS, LSU, GAPDH y TUB2 permitirá una delimitación filogenética con mayor soporte estadístico que el uso exclusivo de marcadores ribosomales.

JUSTIFICACIÓN

La delimitación de especies dentro del género *Golovinomyces* ha representado un desafío constante en la micología sistemática debido a la alta similitud morfológica entre especies y a la limitada resolución de algunos marcadores moleculares cuando se emplean de manera aislada. Aunque la región ITS ha sido ampliamente utilizada como código de barras fúngico para la identificación de especies, diversos estudios han demostrado que este marcador no siempre proporciona suficiente poder discriminatorio para resolver complejos de especies estrechamente relacionadas dentro de las cenicillas. Investigaciones recientes en la sistemática de *Erysiphales* han resaltado la importancia de integrar enfoques multilocus que combinen regiones ribosomales (ITS y LSU) con genes codificantes de proteínas, como GAPDH y TUB2, la unión de estos marcadores mejora la resolución filogenética y permite una delimitación de especies estable (Ellingham et al., 2019; Bradshaw et al., 2022; Bradshaw & Tobin, 2020). Asimismo, se ha demostrado que el uso de múltiples loci contribuye a clarificar relaciones filogenéticas ambiguas y a reconocer linajes previamente no diferenciados mediante análisis basados en un solo marcador. De igual manera, diversos trabajos enfocados en la secuenciación de materiales fúngicos y en la revisión de complejos de especies han evidenciado que la integración de datos morfológicos y moleculares mejora los estudios de sistemática en hongos fitopatógenos (Bradshaw & Tobin, 2020). En este contexto, el uso de un enfoque multilocus se considera una herramienta disponible para garantizar identificaciones taxonómicas confiables y mejorar la comprensión de la diversidad fúngica. A pesar de la amplia distribución y relevancia de los oídios en México, los estudios con enfoque multilocus en diversas especies de *Erysiphales* siguen siendo limitados. En el caso de *Golovinomyces* asociado a *Helminthotheca echiioides*, no existen estudios previos en la región que documenten su identidad específica mediante análisis filogenéticos y taxonómicos. Por ello, este estudio podría representar el primer registro de la asociación entre *Golovinomyces* y *H. echiioides* en el estado de Hidalgo. La aplicación de un enfoque multilocus basado en las regiones ITS, LSU, TUB2 y GAPDH permitirá determinar con mayor precisión la especie presente y aportar información novedosa sobre la diversidad de cenicillas en esta región del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización del área de muestreo

Las muestras se recolectaron en el municipio de Tulancingo de Bravo, Hidalgo, localizado en los Valles Altos del estado de Hidalgo dentro del Altiplano Central de México, a una altitud de 2157 m s. n. m. (20°07'09" N, 98°21'78" O). Durante el periodo de muestreo (invierno-primavera), la región presentó condiciones climáticas de seco a semihúmedo, con una humedad relativa de 55 % a 80 % (Weather Atlas, 2024). Asimismo, se registraron temperaturas máximas entre 21 y 26 °C y mínimas de 7 a 14 °C, con precipitaciones acumuladas de 0.8 a 193 mm entre febrero y junio (Meteostat, 2026; WeatherSpark, 2026).

4.2 Muestreo

La colecta del material vegetal de plantas silvestres con síntomas y signos de cenicilla se realizó el 26 de febrero de 2025 en áreas cercanas a terrenos de cultivo en el municipio de Tulancingo, Hidalgo. Se seleccionaron plantas de *Helminthotheca echioides* con presencia visible de colonias activas de micelio blanco pulverulento sobre la superficie foliar.

La selección de plantas se efectuó mediante inspección visual, priorizando individuos con síntomas representativos de la enfermedad. De cada planta se recolectaron hojas. No se realizó un conteo individual de estructuras vegetales, debido a que la colecta estuvo dirigida a obtener material con síntomas visibles para su análisis fitopatológico.

Las muestras fueron obtenidas utilizando herramientas limpias y desinfectadas para evitar contaminación cruzada entre colectas. Posteriormente, el material vegetal fue colocado en bolsas de papel y hojas de periódico rotuladas, registrando información correspondiente al sitio de muestreo, coordenadas geográficas, altitud, condiciones ambientales, fecha de colecta, hospedero y características generales de los síntomas observados. Las muestras vegetales fueron prensadas entre papel periódico, realizando cambios periódicos del papel para favorecer su adecuado secado. Posteriormente, el ejemplar fue depositado en el Herbario del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo (No. de acceso 1817).

4.3 Análisis morfológico e identificación taxonómica

Las muestras prensadas y etiquetadas fueron examinadas bajo un estereomicroscopio (Olympus, mod. SZ745, USA) para observar signos compatibles con cenicilla. Para el análisis morfológico, se realizaron montajes temporales en ácido láctico al 85 % (Sigma-Aldrich, México), los cuales fueron observados en un microscopio óptico (Olympus, mod.

BX41, USA). Las microfotografías de conidios y conidióforos se obtuvieron utilizando el objetivo 10×, mientras que los apresorios fueron fotografiados con el objetivo 40×. La medición de las estructuras morfológicas se realizó a partir de las microfotografías mediante el software Image-Pro v. 6.0, generando tablas de datos para calcular promedios y rangos de las estructuras analizadas. Asimismo, se calculó la relación largo/ancho de los conidios utilizando las fórmulas descritas en el Cuadro 2. En total se midieron 100 conidios en µm utilizando el objetivo 10×, mientras que de 10 a 15 apresorios y conidióforos fueron medidos con el objetivo 40×.

Cuadro 2.

Fórmulas utilizadas para el análisis morfométrico de las estructuras.

Parámetro	Fórmula	Descripción
Promedio (media aritmética)	$Promedio = \frac{\sum x}{n}$	Calcula el valor promedio de las mediciones obtenidas para cada estructura morfológica
Relación largo/ancho de conidios	$Relación\ l/a = \frac{largo\ de\ conidio}{ancho\ de\ conidio}$	Expresa la proporción entre la longitud (L) y el ancho (A) de los conidios.

^a Qiu et al., (2020). ^b Bradshaw et al., (2022^a)

La identificación taxonómica se realizó mediante la comparación de caracteres morfológicos con claves taxonómicas, descripciones originales y especies tipo incluidas en la monografía de *Erysiphales* (Braun & Cook, 2012), complementada con literatura especializada. La determinación taxonómica del hospedante se realizó en el laboratorio de Botánica del ICAp.

4.4 Extracción de ADN

La extracción de ADN nuclear se realizó mediante el método de Chelex-100 al 5 % descrito por Hirata y Takamatsu (1996), con ligeras modificaciones. Para ello, se utilizó material vegetal con síntomas de cenicilla. Con un bisturí esterilizado se cortaron secciones foliares de aproximadamente 0.5 cm², las cuales se observaron bajo un estereomicroscopio; con

ayuda de una aguja de punta fina se aislaron conidios, conidióforos y micelio, que se depositaron en tubos de 1.5 mL que contenían 100 µL de Chelex-100 al 5 % (Bio-Rad Laboratories) y 5 µL de Tritón X-100 al 2 %. Posteriormente, los tubos se incubaron en un thermoblock a 56 °C durante 60 min, con agitación en vortex cada 30 min. Enseguida, se incubaron a 95 °C por 8 min, se homogenizaron mediante vortex y se centrifugaron a 20,000 *g* durante 5 min. Se recuperaron 80 µL del sobrenadante y se transfirieron a tubos nuevos de 1.5 mL, a los cuales se añadieron 80 µL de isopropanol frío (−20 °C). La mezcla se incubó 10 min a −20 °C y posteriormente se centrifugó a 20,000 × *g* durante 10 min. El sobrenadante se eliminó por decantación y el pellet se dejó secar a temperatura ambiente durante 10–20 min. Finalmente, el ADN se resuspendió en 20 µL de agua libre de nucleasas. La concentración y calidad del ADN se evaluaron mediante un espectrofotómetro NanoDrop 2000.

4.5 Amplificación por PCR

Para la amplificación de las regiones ITS (Internal Transcribed Spacer), LSU, TUB2 (β-tubulina) y GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), se utilizaron los primers descritos en la Cuadro 3.

Cuadro

3

Lista de primers utilizados.

Región	Primers	Secuencia de cebadores (5' - 3')	Tamaño del amplicón
ITS ^a	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	600 pb
	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	
LSU ^b	LSU1	ACCCGCTGAACTTAAGCATA	500 pb
	LSU2	CCTTGGTCCGTGTTTCAAGA	
TUB2 ^b	TubF1	AGGTTCACCTCCAGACTGG	450 pb
	TubR1	CCAGCACGAACAGCATCCAT	
GAPDH ^c	PMGAPDH1	GGAATGGCTATGCGTGTACC	300 pb
	PMGAPDH3R	CCCCATTCGTTGTCGTACCATG	

^a White et al., (1990). ^b Qiu et al., (2020). ^c Bradshaw et al., 2022a

Todas las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 10 µL, que contenía 2 µL de buffer de PCR, 0.6 µL de MgCl₂, 0.2 µL de dNTPs, 0.6 µL de cada iniciador, 4 µL de agua, 0.1 µL de *Taq* ADN polimerasa y 2.5 µL de ADN genómico. Las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 min, seguida

de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 s, alineamiento a 52 °C por 30 s y extensión a 72 °C por 1 min, con una extensión final a 72 °C durante 7 min. Las muestras que amplificaron el tamaño esperado se enviaron a secuenciación por el método de Sanger en Macrogen (República de Corea).

4.6 Electroforesis

Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %. Para la preparación del gel, se disolvieron 0.3 g de agarosa en 30 mL de buffer TAE 0.5X en un matraz, mezclando suavemente. La solución se calentó en un horno de microondas en intervalos de 10 s, agitando cuidadosamente entre cada intervalo para evitar la formación de burbujas, hasta obtener una mezcla completamente transparente, se dejó enfriar a temperatura ambiente hasta alcanzar una temperatura de 35 °C a 40 °C y se colocó la cámara de electroforesis sobre una superficie plana y se insertaron los peines. La solución de agarosa se vertió en la cámara por una esquina y se dejó solidificar durante 20–30 min. Una vez solidificado el gel, se añadió buffer de corrida hasta cubrir completamente el gel.

Para la carga de las muestras, se mezclaron 2 µL de producto de PCR con 2 µL de buffer de carga que contenía Gelred (2x), el cual se utilizó como intercalador. Asimismo, se cargaron 2 µL de marcador de peso molecular de 1kb y 2 µL de Gelred (2x).

4.7 Secuenciación Sanger

Las muestras que presentaron amplificación del tamaño esperado (ITS 600 pb, LSU 500 pb, GAPDH 300 pb y TUB2 450 pb) fueron enviadas a secuenciación mediante el método de Sanger en Macrogen, República de Corea. Para cada región ITS, LSU y GAPDH amplificada se obtuvieron dos secuencias (forward y reverse), las cuales fueron editadas y ensambladas en el programa MEGA versión 12 (Kumar et al., 2018).

La edición de secuencias consistió en la revisión manual de la calidad de los cromatogramas, el recorte de extremos con baja calidad y la corrección de bases ambiguas. Posteriormente, las secuencias forward y reverse se ensamblaron en Geneious Prime Versión 2021.1.1 para obtener una secuencia consenso. Las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos del NCBI BLAST mediante el programa BLASTn. Se seleccionaron las secuencias con mayor porcentaje de similitud correspondientes a las regiones ITS, LSU y GAPDH obtenidas en este estudio, las cuales fueron empleadas en los análisis posteriores.

4.8 Análisis filogenético

Para la generación de los árboles filogenéticos de las secuencias ITS, LSU, TUB2 y GAPDH, se elaboró un archivo en formato FASTA con secuencias publicadas de *Golovinomyces ambrosiae*, *G. latisporus*, *G. eurybiarum*, *G. sonchicola* y *G. monardae*, reportadas por Bradshaw et al. (2022) y Qiu et al. (2020), enlistadas en el Cuadro 4. Como grupo externo (outgroup) se utilizaron *Rachnopeziza araneosa* (003988555) y *Golovinomyces magnicellulatus* (HMJAU-PM91840). Las secuencias se alinearon individualmente mediante MUSCLE. Los árboles filogenéticos individuales se construyeron mediante el método de máxima verosimilitud en MEGA Versión 12 (Kumar et al., 2018).

Para el análisis concatenado de las regiones ribosomales (ITS y LSU) y genes codificantes como GAPDH y TUB2, se alinearon individualmente mediante MUSCLE en MEGA (Kumar et al., 2018) y se concatenaron en Mesquite version 4.02 (Modularist Evolutionary Biology Software) exportando el archivo en formato PAU para Mr. Bayes. El árbol filogenético se reconstruyó en IQ-TREE, utilizando selección automática de modelos evolutivos y fusión de particiones (MFP+MERGE). El soporte estadístico de los clados se evaluó mediante bootstrap con 1000 repeticiones.

Cuadro 4.

Secuencias utilizadas en el análisis filogenético.

Especie	Hospedante	Voucher	Numero de acceso de GenBank			
			ITS	LSU	GAPDH	TUB2
<i>Arachnopeziza araneosa</i>		003988555				
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Ratibida columnifera</i>	FH00941246			ON075629	MK452468
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Liatris spicata</i>	FH00941247			ON075628	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Acalypha rhomboidea</i>	FH00941206			ON075624	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Rudbeckia fulgida</i>	FH00941203			ON075630	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Acalypha rhomboidea</i>	FH00941205	ON073871	ON073871	ON075648	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Asclepias syriaca</i>	FH00941223	ON073873		ON075625	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Dhalia sp.</i>	FH00941248			ON075626	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Zinnia elegans</i>	FH00941245	ON073878	ON073878	ON075631	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^b	<i>Eutrochium dubium</i>	FH00941204			ON075627	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^a	<i>Eupatorium maculatum</i>	FH01122011	ON367005	ON367005	ON360705	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^a	<i>Vernonia fasciculata</i>	FH01122014	ON367012	ON367012	ON360709	
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^e	<i>Dahlia pinnata</i>	KUS-F32139	PV581790			
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^e	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	KSNUH-730	PV581790			
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^e	<i>Xanthium canadense</i>	KUS-F30795	OQ165157			
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^e	<i>Leucanthemum vulgare</i>	KUS-F31803	ON834490			

Especie	Hospedante	Voucher	Numero de acceso de GenBank			
			ITS	LSU	GAPDH	TUB2
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^a	<i>Eutrichium sp.</i>	FH00965657	ON367006			
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^c	<i>A. trifida</i>	HMJAU-PM91813				MK452468
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^c	<i>D. pinnata</i>	HMJAU-PM91818				MK452471
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^c	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	HMJAU-PM91809				MK452465
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^c	<i>A. novi-belgii</i>	HMJAU-PM91805				MK452461
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^c	<i>A. artemisiifolia</i>	HMJAU-PM91810				MK452466
<i>Golovinomyces cichoracearum</i> ^e	<i>Tragopogon dubius</i>	KUS-F31010	PV581821	PV581822		
<i>Golovinomyces cichoracearum</i> ^d	<i>Scorzonera hispanica</i>	62708	AB077681	AB077681		
<i>Golovinomyces cichoracearum</i> ^d	<i>Scorzonera hispanica</i>	MUMH759	AB077682			
<i>Golovinomyces eurybium</i> ^a	<i>Eurybia divaricata</i>	FH00941263 Holotype	ON367032		ON360718	
<i>Golovinomyces eurybium</i> ^a	<i>Eurybia divaricata</i>	FH00941281	ON367031			
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^a	<i>Helianthus annuus</i>	FH00941221	ON073881		ON075649	
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^a	<i>Helianthus annuus</i>	FH00941243			ON075632	
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^e	<i>H. tuberosus</i>	KUS-F31441	PV581773			
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^e	<i>H. salicifolius</i>	KUS-F32146	PV581819			
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^c	<i>H. tuberosus</i>	HMJAU-PM91823				MK452476
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^c	<i>Helianthus annuus</i>	HMJAU-PM91830				MK452483

Especie	Hospedante	Voucher	Numero de acceso de GenBank			
			ITS	LSU	GAPDH	TUB2
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^c	<i>Helianthus sp.</i>	HMJAU-PM91852				MK452500
<i>Golovinomyces macrocarpus</i> ^e	<i>Achillea alpina</i>	KUS-F31851	PV581776			
<i>Golovinomyces magnicellulatus</i> ^c	<i>P. alkekengi</i>	HMJAU-PM91840				MK452486
<i>Golovinomyces monardae</i> ^a	<i>Mentha arvensis</i>	FH01122029	ON367050		ON360733	
<i>Golovinomyces monardae</i> ^a	<i>Monarda diymon</i>	FH00941280	ON367051		ON360734	
<i>Golovinomyces sonchicola</i> ^a	<i>Sochchus oleraceus</i>	KUS-F32561 Holotype	ON367059		ON360740	
<i>Golovinomyces sonchicola</i> ^a	<i>Sonchus sp.</i>	KUS-F32038	ON367060		ON360741	

^aBradshaw et al., (2022^a). ^bBradshaw et al., (2022b). ^cQiu et al., (2020). ^dMatsuda & Takamatsu (2003). ^ePark et al., (2025).

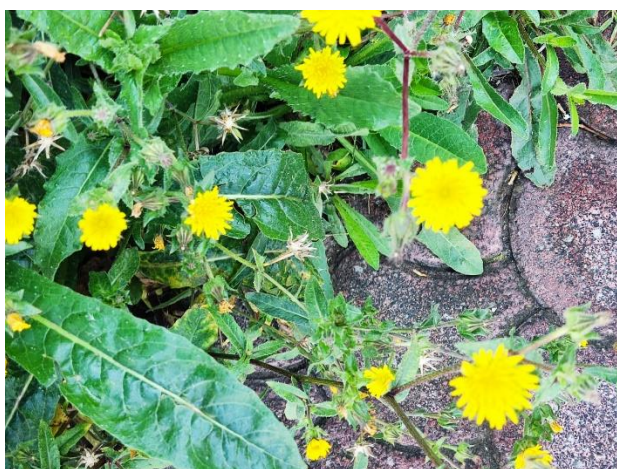
RESULTADOS

5.1 Identificación del hospedante

La planta hospedante analizada fue identificada como *Helminthotheca echiioides* (L.) Holub, perteneciente a la familia Asteraceae (Figura 6), conocida comúnmente como abrojo europeo. La determinación taxonómica se realizó mediante comparación de caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos utilizando literatura botánica especializada y fue corroborada en el Laboratorio de Botánica del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Las plantas analizadas presentaron hojas pubescentes, márgenes dentados y capítulos florales amarillos característicos de la especie.

Figura 6.

Abrojo europeo (*Helminthotheca echiioides*).



5.2 Análisis morfológico

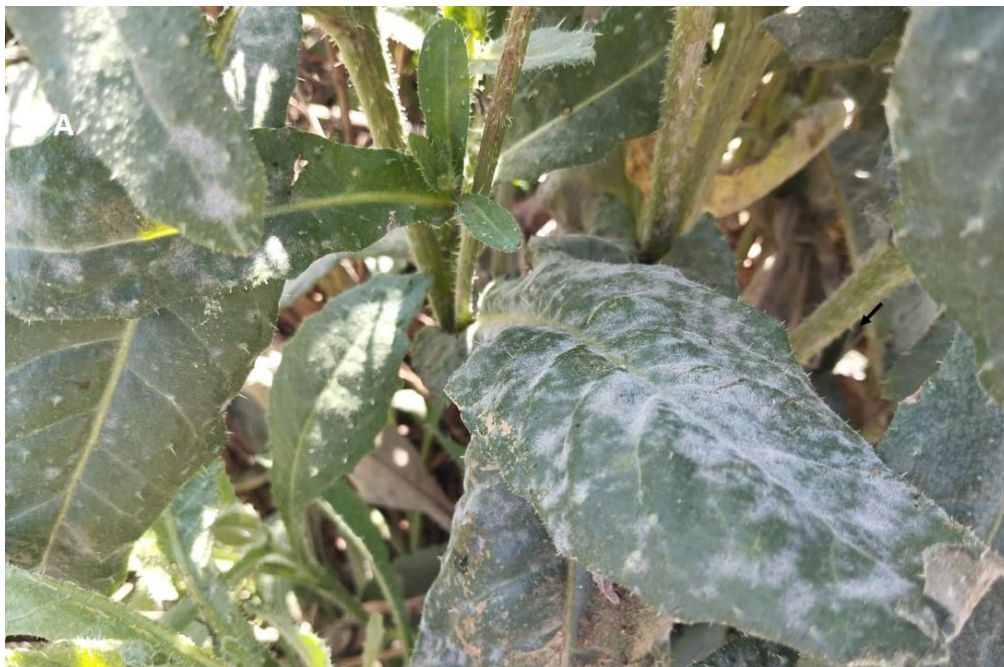
Las muestras analizadas fueron identificadas como *Golovinomyces ambrosiae* (Schwein.) U. Braun & R.T.A. Cook colectada en hojas de *Helminthotheca echiioides* (L.) Holub (Asteraceae) (arvense: abrojo europeo) Figura 7.

Las estructuras morfológicas se describen a continuación:

- Estado vegetativo: Micelio anfigeno en colonias blanquecinas y difusas que cubren completamente la hoja, con hifas rectas a flexuosas de 5–7 μm de ancho; hifas con apresorios en forma de protuberancia, de 4.5–7.5 μm de diámetro, solitarios, algunos dispuestos en serie por célula (2–3 apresorios por hifa), ocasionalmente ligeramente crenulados (Figura 7).

Figura 7.

Síntomas y signos de *Golovinomyces ambrosiae* en *Helminthotheca echioides*.

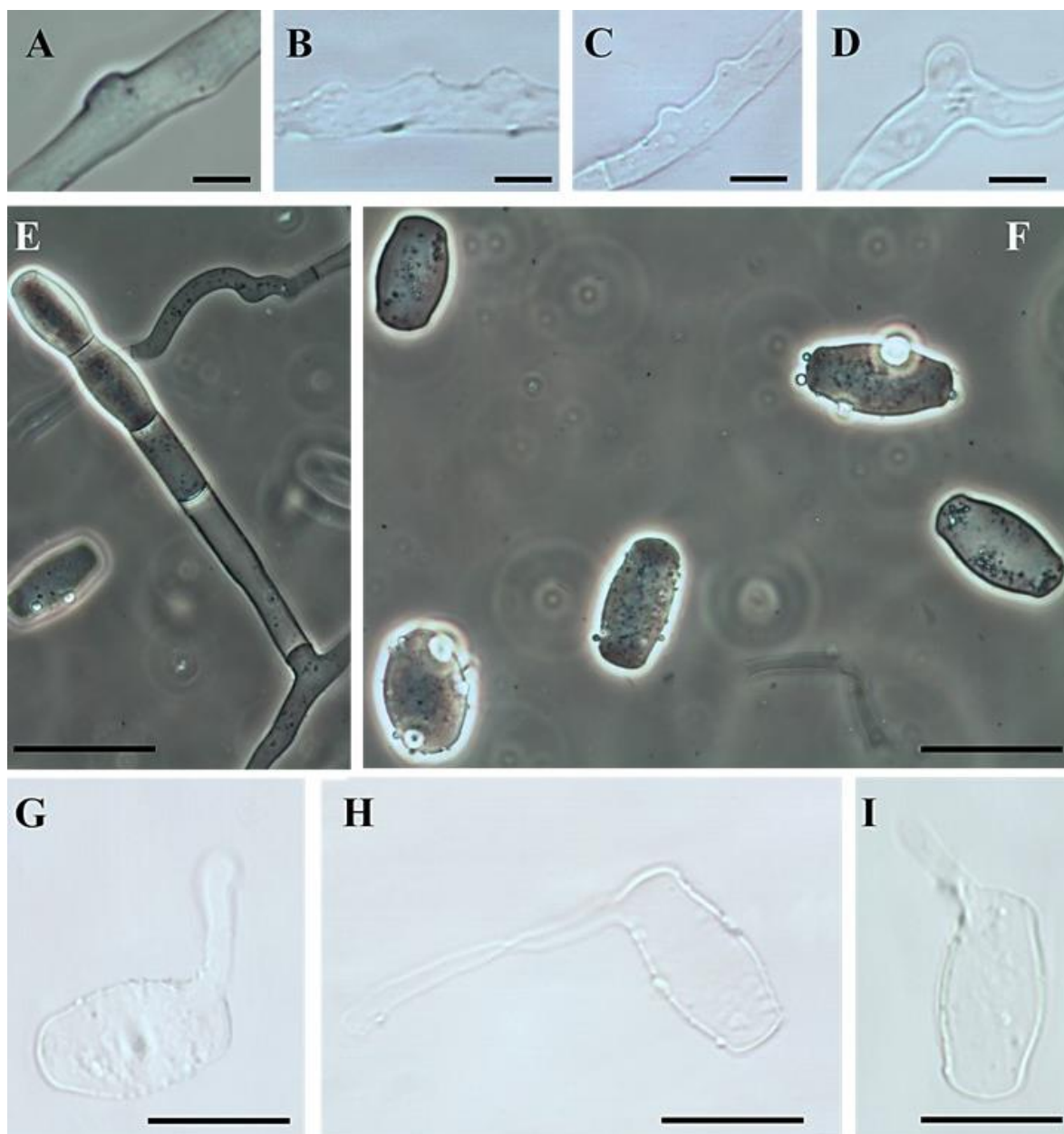


Planta de abrojo europeo con síntomas de cenicilla.

- Estado asexual: Conidióforos rectos, de 110.5–183 μm de largo; célula basal recta, algunas levemente curvadas, algunas ligeramente constrictas en la base, y septo basal un poco arriba de la unión con la célula madre, de 34.5–68(–82.5) $\times$ 9–17 μm y seguidas de 1–3 células más cortas; conidios hialinos, en cadenas cortas de hasta 3 conidios, elipsoides, doliformes, de 25–36(–40.5) $\times$ (13–)14.5–19.5 μm , L:A de 1.8 a 2.0, tubos germinativos que surgen de un extremo, solitarios, cortos a moderadamente largos del tipo *Euoidium*. (Figura 8).
- Estado sexual: No se observó

Figura 8.

Estructuras morfológicas de *Golovinomyces ambrosiae* en *Helminthotheca echioides*.



A) Apresorio crenado. B) Apresorios en serie tres por célula hifal. C) Apresorios en serie. D. Apresorio solitario. E) Conidióforos. F) Conidios. G-I) Germinación de conidios. Escalas: A-D= 5 μ m; E-I = 20 μ m.

5.2.1 Comparación morfológica con especies afines

La especie de estudio se distingue de *G. latissporus* principalmente por la ausencia de apresorios en pares opuestos, carácter diagnóstico de esta última especie. Asimismo, los

conidios observados en analizada presentan menores dimensiones y una mayor relación longitud/anchura, mientras que en *G. latiporus* estos son relativamente más anchos. Además, los valores de la célula basal en la muestra de este estudio se encuentran dentro del rango reportado para *G. ambrosiae*.

De manera complementaria, la muestra analizada también difiere de otras especies afines del género. En comparación con *Golovinomyces eurybiarum*, presenta conidios de mayor tamaño y una célula basal más larga. Respecto a *G. spadiceus*, aunque comparte características generales en la forma de los conidios, la muestra correspondiente a este estudio presenta diferencias en las dimensiones y en la disposición de los apresorios. Adicionalmente, *G. cichoracearum* se distingue por presentar apresorios con superficie más marcadamente crenulada o lobulada.

En conjunto, estas diferencias morfológicas, junto con la concordancia de las descripciones para *G. ambrosiae*, sustentan la identificación de la muestra de este estudio como *Golovinomyces ambrosiae* (Cuadro 5).

Cuadro 5

Comparación morfológica de la especie en estudio y especies alineadas de *Golovinomyces* en el banco de genes.

Especie de <i>Golovinomyces</i>	Apresorios	Célula basal (µm)	Germinación	Conidios (µm)	Forma de conidios	Relación L:A
Este estudio	En forma de protuberancia (4.5–7.5 µm de diámetro), solitarios, algunos en serie (tres apresorios por célula)	34–68	Tipo <i>Euoidium</i>	En cadena 25–36(–40.5) × (13–)14.5–19.5	Elipsoides, Ovoides, doliformes	1.8–2.0
<i>Golovinomyces ambrosiae</i> ^{a,c}	Solitarios, a veces varios por célula hifal, en forma de protuberancia, ocasionalmente ligeramente crenulados, de 3–8 µm de diámetro	30–80 × 9–15	Tipo <i>Euoidium</i>	En cadena 25–40 × 14–20(–24)	Elipsoidales-ovoides, doliiformes-subcilíndricos	1.3–2.6
<i>Golovinomyces latisporus</i> ^c	Solitarios y en pares opuestos, en forma de protuberancia, de 4–8 µm de diámetro	35–80	Tipo <i>Euoidium</i>	En cadena 25–45 × 15–27	Elipsoidales-ovoides anchos, doliformes a algo limoniformes	1.3–1.9
Especie de <i>Golovinomyces</i>	Apresorios	Célula basal (µm)	Germinación	Conidios (µm)	Forma de conidios	Relación L:A

<i>Golovinomyces eurybiarum</i> ^b	En forma de protuberancia, solitarios, 4–6 µm	32–93 × 7–11	Tipo <i>Euoidium</i>	En cadena 24–33 × 11–18	Elipsoidales-ovoides, doliformes	1.5–2.4
<i>Golovinomyces spadiceus</i> ^a	En forma de protuberancia, ocasionalmente crenulados o irregulares, 3–8 µm	30–80 × 9–15	Tipo <i>Euoidium</i>	En cadena 25–40 × 14–20	Elipsoidales-ovoides doliiformes-subcilíndricos	1.5–2 a
<i>Golovinomyces cichoracearum</i> ^a	Solitarios, algunas veces varios por célula, en forma de protuberancia, superficie crenulada a lobulada, 4–10 µm	40–80 × 10–15	Tipo <i>Euoidium</i>	En cadena 25–42 × 14–23	Elipsoidales-ovoides doliiformes cilíndricos	1.6–2.4 a

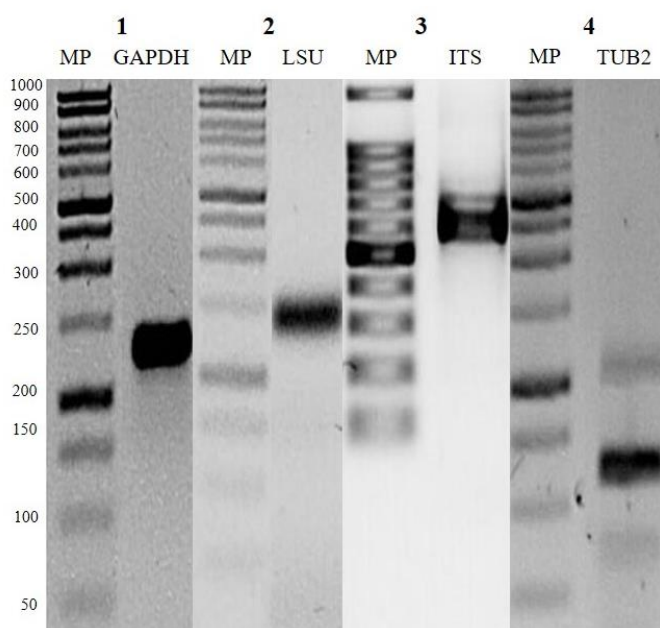
^aBraun & Cook, 2012. ^bBradshaw et al., 2022a ^cQiu et al., 2020

5.3 Análisis molecular

Amplificación por PCR de las regiones ITS, LSU, TUB2 y GAPDH Se amplificó las regiones ITS, LSU y los genes (TUB, GAPDH), mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % en buffer TAE 0.5X se confirmó la amplificación, se observaron amplicones bandas de aproximadamente 600 pb para ITS, 500 pb para LSU, 300 pb para GAPDH y 450 pb para TUB2 (Figura 9).

Figura 9.

Electroforesis en gel de agarosa 1% de los productos amplificados por PCR de las regiones LSU, TUB y del gen GAPDH.



MP: marcador de peso molecular de 1kb, Carril 1: Gen GAPDH, Carril 2: Región LSU, Carril 3: Región ITS y Carril 4: Región de TUB2.

5.4 Secuencias de las regiones ITS, LSU, TUB2 y GAPDH

Las secuencias obtenidas en el presente estudio se muestran a continuación en el cuadro 6.6. A partir de la muestra analizada se obtuvieron secuencias correspondientes a las regiones ITS, LSU, GAPDH y TUB2, las cuales fueron utilizadas en los análisis filogenéticos realizados.

Cuadro 6.

Secuencias obtenidas.

Gen	Tamaño	Número de acceso GenBank	Voucher
ITS	590 pb	PZ492894	CMPH_1817
LSU	580 pb	PZ492896	CMPH_1817
GAPDH	277 pb	PZ500496	CMPH_1817
TUB2	380 pb	PZ500497	CMPH_1817

5.5 Análisis de similitud (BLAST)

El análisis BLASTn de la secuencia de la región GAPDH mostró alineamientos con cuatro secuencias de *Golovinomyces ambrosiae* correspondientes a los números de acceso ON360705, ON360708, ON360704 y ON360706. Todas presentaron un valor máximo de 512 y 100 % de identidad. Al limitar el análisis a secuencias tipo, únicamente se obtuvo alineamiento con *Golovinomyces eurybiarum* (Acc. No. ON360718), presentando un valor máximo de 466 y 100 % de identidad.

El análisis por BLASTn de la secuencia de las regiones ITS (Acc. No. PZ492894), se alinee por igual, con 100% de identidad, máximo valor de 1090, y 100% de cobertura, con 32 secuencias de seis especies de *Golovinomyces* que fueron: *Golovinomyces ambrosiae* (34%), *G. cichoracearum* (25%), *G. latisporus* (15.7%), *Golovinomyces* sp. (12.6%), *G. spadiceus* (9.5%), y *G. artemisiae* (3.2%). En *G. latisporus* se incluyó alineamiento con la secuencia de la especie Tipo, “epitipo” (Acc. No. NR_169956) con identidad de 590/590 (100%), y gaps=0. De la secuencia alineada con mayor porcentaje, *G. ambrosiae*, tuvo también igual identidad (590/590 (100%), y gaps=0). Al hacerse el blast limitado al alineamiento con secuencias de la especie tipo solo dos secuencia se alinearon: el mismo epitipo de *G. latisporus* (mismo Acc. No. NR_169956) y mismo máximo valor (1090), cobertura (100%), e identidad (590/590 (100%); gaps=0); y el holotipo de *G. eurybiarum* (Acc. No. ON367032) con menor máximo valor (981), cobertura (90%), e identidad (531/531 (100%); gaps=0). Las otras secuencias tuvieron identidad de 95% a menos.

Para la secuencia de la región LSU los alineamientos con 100 % de identidad, valor máximo de 1072 y cobertura del 100 % fue con secuencias de cuatro especies de *Golovinomyces*: *Golovinomyces ambrosiae*, *G. latisporus*, *G. eurybiarum* y *G. cichoracearum*. Las secuencias de *G. ambrosiae* correspondieron a los números de acceso AB077689 y PQ680179, mientras que *G. latisporus* se alineó con la secuencia PV581823. Asimismo, se

obtuvo alineamiento con *G. eurybiarum* (Acc. No. ON367032) y *G. cichoracearum* (Acc. No. MF543025), todas con los mismos valores de identidad y cobertura. Al realizar el BLASTn limitado a secuencias tipo, la secuencia se alineó principalmente con el tipo de *G. latisporus* (Acc. No. NG_068877), presentando un valor máximo de 1072, cobertura del 100 % e identidad del 100 %. También se obtuvo alineamiento con el holotipo de *G. eurybiarum* (Acc. No. ON367032), con un valor máximo de 1072 y una identidad de 99.22 %.

El análisis BLASTn de la secuencia de la región TUB2 mostró alineamiento con secuencias de *Golovinomyces ambrosiae* correspondientes a los números de acceso MK389490 y MW265971, ambas con un valor máximo de 702 y 100 % de identidad. Cuando el análisis se restringió a secuencias tipo, la secuencia presentó alineamiento con *Golovinomyces latisporus* (Acc. No. MK452497), obteniéndose un valor máximo de 680, cobertura alta e identidad de 98.95 %.

El análisis de las secuencias disponibles de México mostró que *G. ambrosiae* ha sido reportado en diversos hospedantes, incluyendo *Cosmos atosanguineus*, *Parthenium hysterophorus*, *Solanum azureum*, *Bidens pilosa*, *Bidens* sp., *Zinnia elegans*, *Senna* sp., *Solanum houstonii*, *Sicyos microphyllus* y *Helianthus annuus*. La mayoría de estos pertenecen a la familia Asteraceae, aunque también se registran hospedantes en otras familias como Solanaceae, Fabaceae y Cucurbitaceae.

5.6 Análisis filogenéticos

5.6.1 Análisis filogenético por región génica

En este estudio, se generaron cuatro secuencias correspondientes a las regiones ITS, LSU y a los genes GAPDH y TUB2. Para algunas de las regiones analizadas, el número de secuencias disponibles en GenBank fue limitado, lo que restringió la inclusión de un mayor número de taxones en los análisis filogenéticos.

La muestra analizada en este estudio correspondiente a este estudio, en el árbol filogenético basado en ITS, se agrupa en un clado compartido con las especies *Golovinomyces ambrosiae*, *G. latisporus* y *G. eurybiarum*, con un soporte bootstrap del 100 %. Además, se observa una clara separación de los clados de *G. cichoracearum*, *G. macrocarpus*, *G. sonchicola* y *G. monardae*, con valores de soporte superiores al 93 al 100 % (Figura 10).

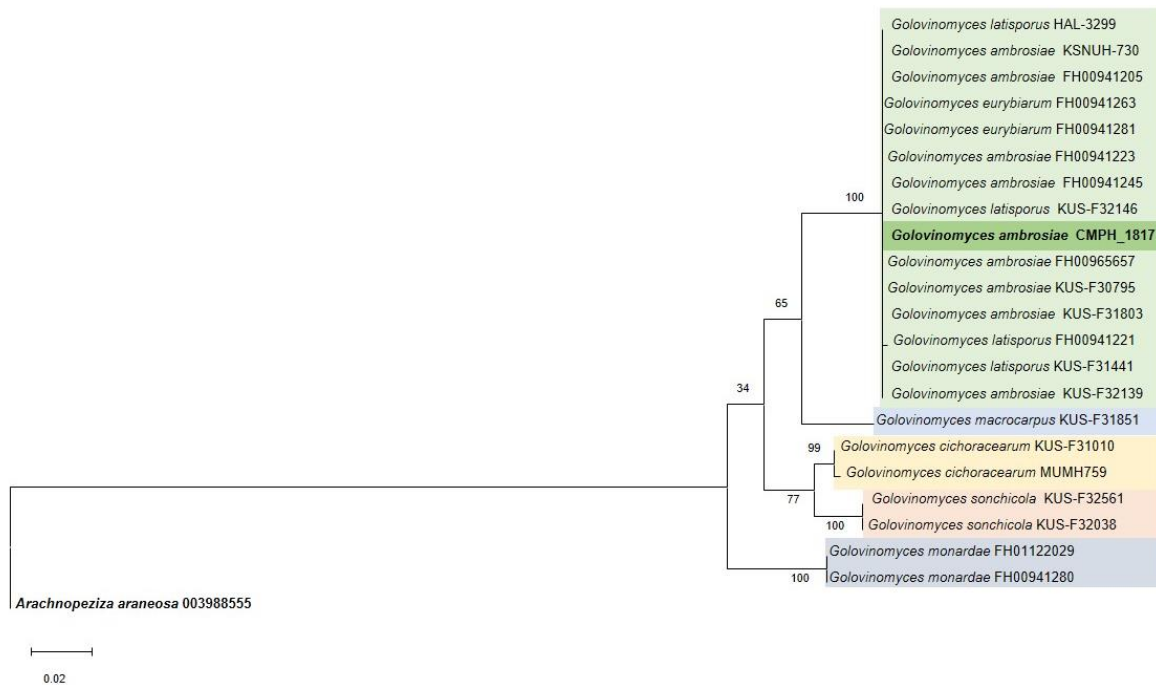


Figura 10. Árbol de máxima verosimilitud de la región ITS. Se muestran los valores de bootstrap superiores al 70 % obtenidos en los análisis de máxima verosimilitud (ML). La secuencia analizada en este estudio se indica en color verde oscuro, mientras que en color verde claro se representan las especies que conforman el clado. Los nombres de los taxones están seguidos por el número de voucher de sus hospedantes. Como grupo externo (outgroup), se utilizó *Rachnopeziza araneosa* (003988555).

En el árbol filogenético basado en la región LSU, la muestra analizada en este estudio muestra un patrón similar al observado en ITS, agrupándose con *Golovinomyces ambrosiae* y *G. latisporus* con un soporte bootstrap del 100 %. Los resultados sugieren que el análisis molecular de esta región no puede separar estas especies. Estos taxones se encuentran claramente separados de los clados correspondientes a *G. cichoracearum*, *G. macrocarpus* y *G. sonchicola* (Figura 11).

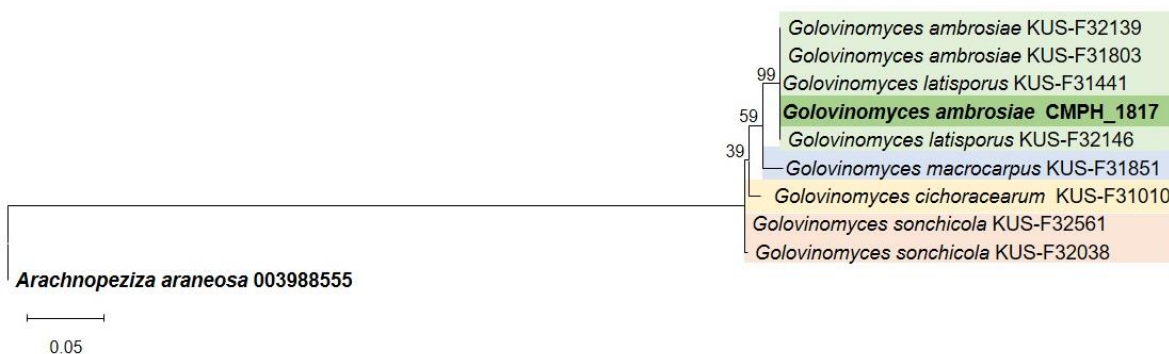


Figura 11. Árbol de máxima verosimilitud de la región LSU. Se muestran los valores de bootstrap superiores al 70 % obtenidos en los análisis de máxima verosimilitud (ML). La secuencia analizada en este estudio se indica en color verde oscuro, mientras que en color verde claro se representan las especies que conforman el clado. Los nombres de los taxones están seguidos por el número de voucher de sus hospedantes. Como grupo externo (outgroup), se utilizó *Rachnopeziza araneosa* (003988555).

En el árbol filogenético basado en el gen TUB2, la muestra analizada en este estudio se agrupa dentro de un clado bien definido junto con secuencias de *Golovinomyces ambrosiae*, con un alto soporte bootstrap (97 %), lo que indica una relación filogenética robusta. Las secuencias de *G. latisporus* forman un clado separado, igualmente bien soportado, los resultados sugieren que este gen permite identificar a *G. ambrosiae* a nivel especie (Figura 8).

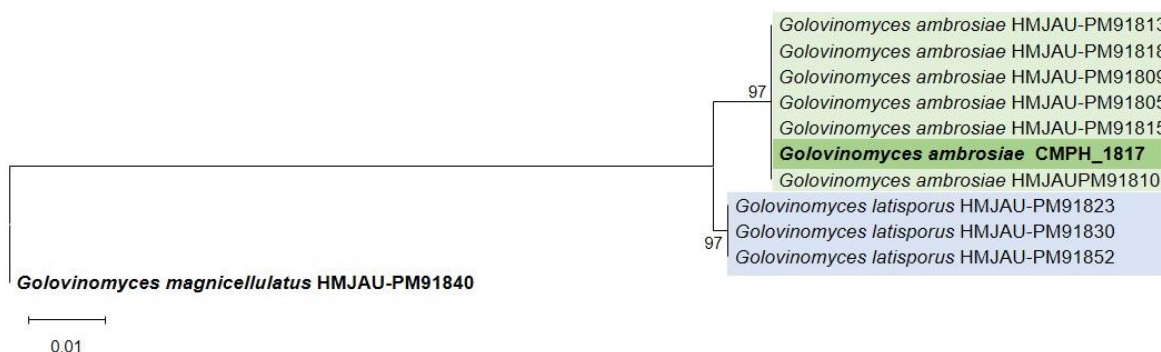


Figura 12. Árbol de máxima verosimilitud de Tub2. Se muestran los valores de *bootstrap* superiores al 90 % obtenido en los análisis de máxima verosimilitud (ML). La secuencia analizada en este estudio se indica en color verde oscuro, mientras que en color verde claro se representan las secuencias de *Golovinomyces ambrosiae* con las que forma el clado. En color azul se muestran las secuencias de *Golovinomyces latisporus*. Los nombres de los taxones están seguidos por el número de *voucher* de sus hospedantes. Como grupo externo (*outgroup*), se utilizó *Golovinomyces magnicellulatus* (HMJAU-PM91840).

Para el árbol generado a partir del gen GAPDH, la muestra analizada en este estudio se agrupa con secuencias de *Golovinomyces ambrosiae* con un soporte bootstrap del 86 %. En otro

clado se encuentra *G. latisporus* y *G. eurybiarum*, formando un grupo más amplio con soporte del 95 %. Otros clados bien definidos corresponden a *G. monardae* (100 %) y *G. sonchicola* (98 %), los cuales se encuentran claramente separados del clado que incluye a la muestra analizada (Figura 9).

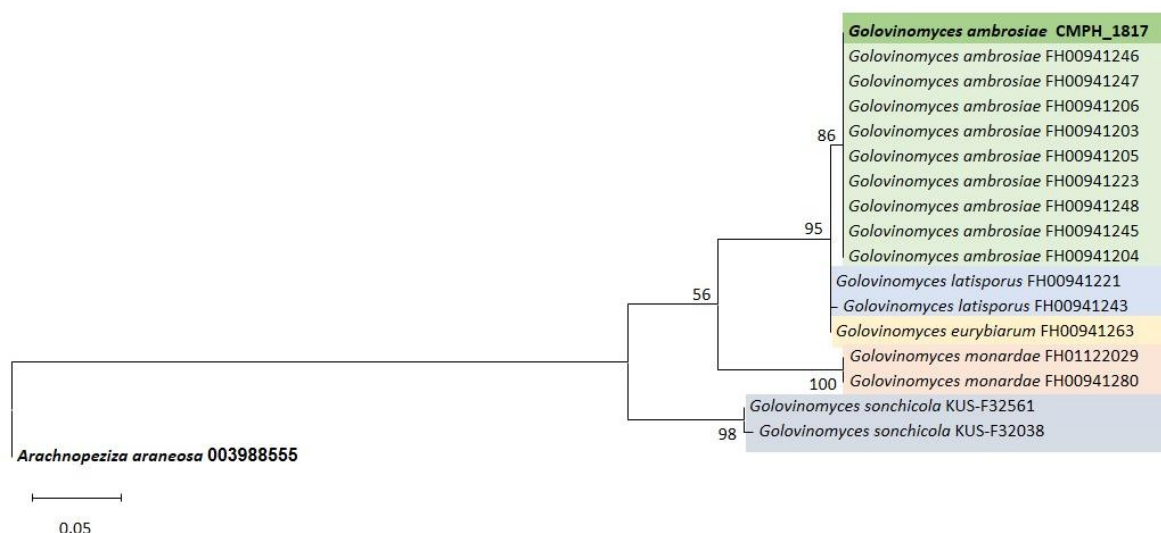


Figura 13. Árbol de máxima verosimilitud de GAPDH. Se muestran los valores de *bootstrap* superiores al 80 % obtenido en los análisis de máxima verosimilitud (ML). La secuencia analizada en este estudio se indica en color verde oscuro, mientras que en color verde claro se representan las secuencias de *Golovinomyces ambrosiae* con las que forma el clado. En color azul se muestran las secuencias de *Golovinomyces latisporus*; en color amarillo, las de *Golovinomyces eurybiarum*; en color naranja, las de *Golovinomyces monardae*; y en color gris, las de *Golovinomyces sonchicola*. Los nombres de los taxones están seguidos por el número de *voucher* de sus hospedantes. Como grupo externo (*outgroup*), se utilizó *Arachnopeziza araneosa* (003988555).

5.6.2 Análisis filogenético concatenado

EL análisis filogenético basado en los conjuntos de datos de secuencias combinadas de ITS, LSU y GAPDH, la muestra analizada en este estudio se agrupó en un clado junto con secuencias solo de *Golovinomyces ambrosiae*, formando un grupo bien definido dentro del árbol filogenético concatenado. Este clado se encuentra estrechamente relacionado con secuencias de *Golovinomyces latisporus* y *Golovinomyces eurybiarum*, las cuales se agrupan en clados cercanos, mostrando una clara estructuración filogenética entre estos taxones.

Asimismo, otros clados bien soportados corresponden a *Golovinomyces monardae* y *Golovinomyces sonchicola*, los cuales se ubican en ramas separadas respecto al clado que contiene a la muestra de este estudio.

La topología del árbol muestra una clara delimitación entre los distintos grupos de especies, con la muestra analizada posicionada dentro del clado correspondiente a *G. ambrosiae*. El árbol se encuentra enraizado mediante un grupo externo (*outgroup*), el cual se ubica en una rama independiente del resto de los taxones analizados.

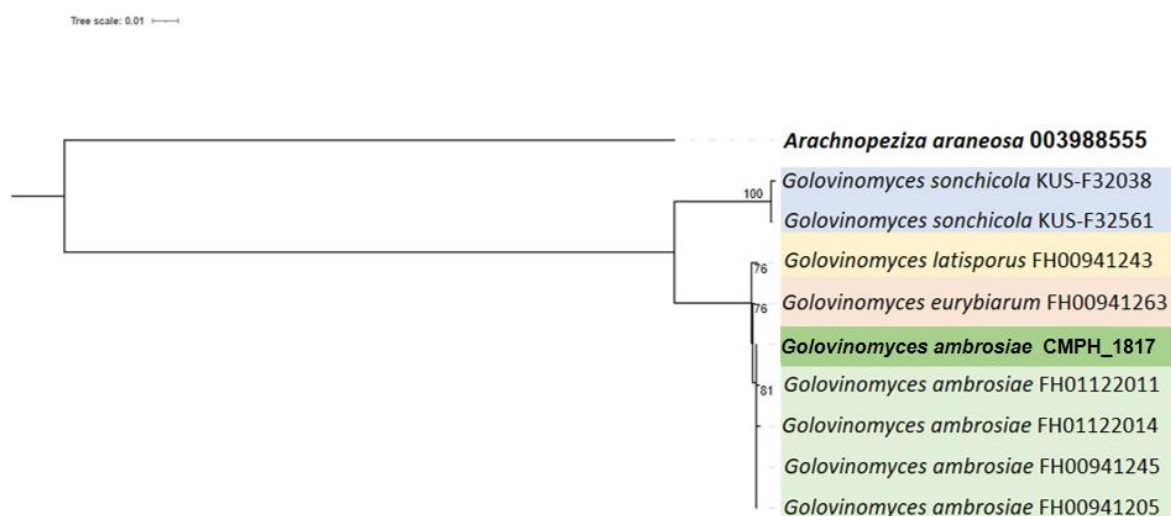


Figura 14. Árbol de máxima verosimilitud de secuencias combinadas de ITS, LSU y GAPDH. Se muestran los valores de *bootstrap* superiores al 70 % obtenidos en los análisis de máxima verosimilitud (ML). La secuencia analizada se indica en color verde oscuro, mientras que en color verde claro se representan las secuencias de *Golovinomyces ambrosiae* con las que forma el clado. En color azul se muestran las secuencias de *Golovinomyces sonchicola*; en color amarillo, las de *Golovinomyces latisporus*; en color naranja de *Golovinomyces eurybiarum*. Los nombres de los taxones están seguidos por el número de *voucher* de sus hospedantes. Como grupo externo (*outgroup*), se utilizó *Arachnopeziza araneosa* (003988555).

Los análisis morfológicos y filogenéticos realizados en la muestra analizada en este estudio mostraron resultados congruentes con las características morfológicas observadas descritas para *Golovinomyces ambrosiae*, particularmente en la morfología de los conidios y apresorios. Asimismo, los análisis filogenéticos basados en las regiones ITS, LSU, TUB2 y GAPDH, así como en el conjunto de datos concatenado, ubicaron la muestra de este estudio

dentro del clado correspondiente a *Golovinomyces ambrosiae*, con altos valores de soporte bootstrap.

DISCUSIÓN

El género *Golovinomyces* comprende complejos de especies caracterizados por una elevada similitud morfológica y baja divergencia genética en marcadores ribosomales, lo que dificulta la delimitación taxonómica basada exclusivamente en caracteres microscópicos (Braun & Cook, 2012; Qiu et al., 2020; Bradshaw et al., 2022). En este estudio, las muestras analizadas presentaban características compatibles con *Golovinomyces ambrosiae*, incluyendo micelio anfigeno, conidióforos erectos, conidios en cadenas y la forma de los apresorios. Sin embargo, los caracteres observados mostraron similitud en el análisis morfométrico con especies cercanas como *G. latisporus*, *G. spadiceus* y *G. cichoracearum*, particularmente en las dimensiones de los conidios y la longitud de la célula basal.

La muestra de este estudio y *G. latisporus*, presentaba características morfométricas similares o con poca diferencia en el rango de las medidas especialmente de los conidios, lo que evidencia que la morfología por sí sola, podría generar una identificación errónea dentro del complejo *G. ambrosiae*. Este patrón coincide con lo reportado por Qiu et al. (2020), quienes señalaron que varias especies del género presentan caracteres morfométricos con poca variación, lo que dificulta su delimitación. La ausencia de chasmotecios (estado sexual) limitó la comparación taxonómica y redujo la disponibilidad de caracteres importantes para la delimitación. Diversos estudios han señalado que el género *Golovinomyces* presenta especies crípticas con características morfológicas altamente similares y difíciles de diferenciar entre sí, lo que incrementa la necesidad de emplear de manera conjunta herramientas moleculares y caracteres morfológicos para lograr una delimitación taxonómica más precisa (Bradshaw et al., 2022).

Los marcadores de las regiones ribosomales ITS y LSU son los más utilizados en estudios filogenéticos de cenicillas debido a su facilidad de amplificación y abundancia de secuencias disponibles en bases de datos públicas (Ellingham et al., 2019; Park & Choi, 2024). No obstante, diversos estudios han demostrado que estos loci poseen limitada capacidad discriminatoria dentro de complejos de especies estrechamente relacionadas, particularmente en *Golovinomyces* (Qiu et al., 2020; Bradshaw et al., 2022). En el presente estudio, tanto ITS como LSU agruparon a la muestra analizada junto con *G. ambrosiae*, *G. latisporus* y *G. eurybium*, formando clados con alto soporte bootstrap pero escasa resolución específica.

Es importante destacar que un alto valor bootstrap no implica necesariamente una delimitación taxonómica adecuada, esto dependerá del marcador molecular que se utilice. En este caso, el soporte elevado indica estabilidad del agrupamiento general, pero no necesariamente separación efectiva entre especies cercanas. Este comportamiento sugiere que ITS y LSU contienen un número reducido de sitios variables e informativos dentro del complejo *G. ambrosiae*, limitando su utilidad para resolver relaciones filogenéticas recientes. Estudios previos han señalado que la baja variabilidad de ITS en Erysiphales puede estar relacionada con procesos de evolución lenta del ADN ribosomal lo que reduce la acumulación de diferencias nucleotídicas entre especies estrechamente relacionadas (Bradshaw et al., 2022; Matsuda & Takamatsu, 2003; Park & Choi, 2024).

En contraste, los genes codificantes GAPDH y TUB2 proporcionaron una resolución filogenética considerablemente mayor. Ambos marcadores permitieron separar la muestra analizada en este estudio de especies cercanas y la ubican dentro del clado correspondiente a *G. ambrosiae*. Este comportamiento concuerda con lo reportado por Bradshaw et al. (2022) y Qiu et al. (2020), quienes demostraron que genes codificantes presentan mayores tasas de sustitución nucleotídica y un número superior de sitios filogenéticamente informativos en comparación con ITS y LSU.

Particularmente, GAPDH mostró una elevada capacidad discriminatoria, probablemente asociada a su mayor variabilidad nucleotídica y mejor resolución de nodos internos. De manera similar, TUB2 permitió diferenciar especies estrechamente relacionadas dentro del complejo *G. ambrosiae*, respaldando su utilidad como marcador secundario para estudios taxonómicos en Erysiphales. Sin embargo, la cantidad de secuencias disponibles para estos marcadores en bases de datos públicas aún es limitada, lo que dificulta la realización de análisis filogenéticos más robustos y comparativos. Estos resultados confirman que los genes codificantes aportan información evolutiva complementaria y poseen un mayor poder de resolución en complejos de especies crípticas.

Por su parte, el análisis concatenado incrementó la resolución filogenética y proporcionó mayor soporte estadístico para la delimitación de los clados obtenidos. La congruencia general observada entre los árboles individuales sugirió ausencia de conflictos topológicos significativos entre loci, permitiendo integrar ITS, LSU y GAPDH en un análisis multilocus conjunto. Sin embargo, la construcción de la matriz concatenada presentó limitaciones

derivadas de la disponibilidad de secuencias en el GenBank, ya que numerosos aislamientos poseen únicamente ITS, mientras que pocos incluyen GAPDH o TUB2. Esta matriz incompleta probablemente redujo parcialmente la capacidad de resolución del análisis concatenado.

Adicionalmente, la ausencia de secuencias tipo asociadas al epitipo de *Golovinomyces ambrosiae* en GenBank representó una limitante importante para la comparación directa. Aunque Qiu et al. (2020) designaron un epitipo para *Erysiphe ambrosiae*, actualmente no existen secuencias multilocus completas asociadas a dicho material, lo que dificulta la validación taxonómica mediante comparación con material tipo auténtico.

Desde una perspectiva fitopatológica y ecológica, la detección de *Golovinomyces ambrosiae* en *Helminthotheca echiioides* representa un hallazgo relevante para el conocimiento de las cenicillas en México. Las especies arvenses y silvestres pueden actuar como reservorios de inóculo y funcionar como puentes epidemiológicos entre ambientes naturales y agroecosistemas (Agrios, 2005; Braun & Cook, 2012). La presencia de *G. ambrosiae* en poblaciones de *H. echiioides* cercanas a zonas agrícolas de Tulancingo, Hidalgo, sugiere un posible papel epidemiológico de este hospedante en la conservación y dispersión del patógeno hacia cultivos susceptibles.

Asimismo, la ausencia de registros previos de *G. ambrosiae* en *Helminthotheca echiioides* indica que este estudio podría constituir un nuevo registro de hospedante para la especie, sustentado mediante evidencia morfológica y análisis multilocus. En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que la delimitación taxonómica robusta dentro del complejo *Golovinomyces ambrosiae* requiere necesariamente la integración de caracteres morfológicos y múltiples marcadores moleculares, particularmente genes codificantes con mayor variabilidad evolutiva.

CONCLUSIÓN

La integración del análisis morfológico y molecular permitió identificar a la cenicilla asociada a *Helminthotheca echioides* en Tulancingo, Hidalgo, como *Golovinomyces ambrosiae*. Las características morfológicas observadas fueron consistentes con las descripciones taxonómicas reportadas para esta especie. Los análisis filogenéticos basados en las regiones ITS y LSU mostraron una resolución limitada para discriminar especies estrechamente relacionadas dentro del complejo de *Golovinomyces ambrosiae*. Los genes codificantes TUB2 y GAPDH, así como el análisis concatenado multilocus, proporcionaron una mejor resolución filogenética y un mayor soporte estadístico, permitiendo diferenciar a *G. ambrosiae* de especies afines como *G. latiporus* y *G. eurybiarum*. Los resultados obtenidos evidencian la importancia del uso de enfoques multilocus en la delimitación taxonómica de especies de Erysiphales, particularmente en grupos con alta similitud morfológica y presencia de complejos de especies crípticas. Asimismo, este estudio contribuye al conocimiento de la diversidad de cenicillas en México y representa un aporte al registro de *Golovinomyces ambrosiae* asociado a *Helminthotheca echioides* en el estado de Hidalgo.

REFERENCIAS

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press.
- Amano, K. (1986). *Host range and geographical distribution of the powdery mildew fungi*. Academia.
- Bélanger, R. R., Bushnell, W. R., Dik, A. J., & Carver, T. L. W. (Eds.). (2002). *The powdery mildews: A comprehensive treatise*. The American Phytopathological Society Press.
- Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P., & Kausrud, H. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: An in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology*, 10(1), 189. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-189>
- Bradshaw, M. J., Braun, U., & Pfister, D. H. (2022a). Phylogeny and taxonomy of the genera of *Erysiphaceae*, part 1: *Golovinomyces*. *Mycologia*, 114(6), 964–993. <https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2115419>
- Bradshaw, M. J., Guan, G.-X., Nokes, L., Braun, U., Liu, S.-Y., & Pfister, D. H. (2022b). Secondary DNA barcodes (CAM, GAPDH, GS, and RPB2) to characterize species complexes and strengthen the powdery mildew phylogeny. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 918908. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.918908>
- Bradshaw, M., & Tobin, P. C. (2020). Sequencing herbarium specimens of a common detrimental plant disease (powdery mildew). *Phytopathology*, 110(7), 1248–1254. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-20-0139-PER>
- Braun, U. (1978). A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). *Feddes Repertorium*, 88(9–10), 551–620. <https://doi.org/10.1002/fedr.19780880906>
- Braun, U. (1999). Some critical notes on the classification and generic concept of the Erysiphaceae. *Schlechtendalia*, 3, 49–55.
- Braun, U., & Cook, R. T. A. (2012). *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Braun, U., & Takamatsu, S. (2000). Phylogeny of *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uncinula* (Erysipheae) and *Cystotheca*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* (Cystothecaceae) inferred from rDNA ITS sequences—Some taxonomic consequences. *Schlechtendalia*, 4, 1–33.
- Brown, T. A. (2002). *Genomes* (2nd ed.). Wiley-Liss.

- Castaño Zapata, J. (2015). *Principios básicos de hongos fitopatógenos*. Universidad de Caldas.
- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD). (2026). *MultiLocus Sequence Analysis (MLSA)*. Google Sites. <https://sites.google.com/a/ciad.mx/bioinformatica/home/taxonomia/mlsa>
- CONABIO. (2026). *Helminthotheca echioides*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. <https://enciclovida.mx/especies/201337>
- Crous, P. W., Verkley, G. J. M., Groenewald, J. Z., & Houbraken, J. (Eds.). (2015). *Fungal biodiversity*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017). Plant pathogenic fungi. *Microbiology Spectrum*, 5(1). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0023-2016>
- Einax, E., & Voigt, K. (2003). Oligonucleotide primers for the universal amplification of β -tubulin genes facilitate phylogenetic analyses in the kingdom Fungi. *Organisms Diversity & Evolution*, 3(3), 185–194. <https://doi.org/10.1078/1439-6092-00069>
- Ellingham, O., David, J., & Culham, A. (2019). Enhancing identification accuracy for powdery mildews using previously underexploited DNA loci. *Mycologia*, 111(5), 798–812. <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1643644>
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17, 368–376.
- Glawe, D. A. (2008). The powdery mildews: A review of the world's most familiar (yet poorly known) plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 46, 27–51.
- Hirata, T., & Takamatsu, S. (1996). Nucleotide sequence diversity of rDNA internal transcribed spacers extracted from conidia and cleistothecia of several powdery mildew fungi. *Mycoscience*, 37(3), 283–288. <https://doi.org/10.1007/BF02461299>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kurtzman, C. P., & Robnett, C. J. (2003). Phylogenetic relationships among yeasts of the *Saccharomyces complex* determined from multigene sequence analyses. *FEMS Yeast Research*, 3(4), 417–432. [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(03\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(03)00012-6)

- Leyva Carrillo, L., et al. (2025). *GAPDH, una proteína multifacética*. Oficina de Prensa, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD). <https://www.ciad.mx/gapdh-una-proteina-multifacetica/>
- Matsuda, S., & Takamatsu, S. (2003). Evolution of host–parasite relationships of *Golovinomyces* (Ascomycete: Erysiphaceae) inferred from nuclear rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 27(2), 314–327. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00401-3](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00401-3)
- McGrath, M. T. (2001). Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges. *Plant Disease*, 85(3), 236–245.
- Meteostat. (2026). *Datos meteorológicos históricos de Tulancingo, Hidalgo, México*. Recuperado el 1 de enero de 2026, de <https://meteostat.net>
- Micali, C., Göllner, K., Humphry, M., Consonni, C., & Panstruga, R. (2008). The powdery mildew disease of *Arabidopsis*: A paradigm for the interaction between plants and biotrophic fungi. *The Arabidopsis Book*, 6, e0115. <https://doi.org/10.1199/tab.0115>
- Nascimento, F. F., Reis, M. D., & Yang, Z. (2017). A biologist’s guide to Bayesian phylogenetic analysis. *Nature Ecology & Evolution*, 1(10), 1446–1454. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0280-x>
- Oliveira, M., & Azevedo, L. (2022). *Molecular markers: An overview of data published for fungi over the last ten years*. *Journal of Fungi*, 8(8), 803. <https://doi.org/10.3390/jof8080803>
- Park, J. H., & Choi, Y. (2024). Designing a novel primer set for GAPDH gene to enhance taxonomic and phylogenetic studies of *Golovinomyces* species. *Mycobiology*, 52(4), 231–235. <https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2379101>
- Qiu, P., Liu, S., Bradshaw, M., Rooney-Latham, S., Takamatsu, S., Bulgakov, T. S., Tang, S., Feng, J., Jin, D., Aroge, T., Li, Y., Wang, L., & Braun, U. (2020). Multi-locus phylogeny and taxonomy of an unresolved, heterogeneous species complex within the genus *Golovinomyces* (Ascomycota, Erysiphales), including *G. ambrosiae*, *G. circumfusus* and *G. spadiceus*. *BMC Microbiology*, 20(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01731-9>

- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal identification using molecular tools: A primer for the natural products research community. *Journal of Natural Products*, 80(3), 756–770. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Rivera Coto, G. (2007). *Conceptos introductorios a la fitopatología*. Editorial Universidad Estatal a Distancia.
- Rodríguez-Alvarado, G., García-López, J., Rodríguez-Fernández, R., Fernández-Pavía, S. P., & Garay-Serrano, E. (2007). First report of powdery mildew on greenhouse tomatoes caused by *Oidium neolycopersici* in Michoacán, Mexico. *Plant Disease*, 91(12), 1684. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-12-1684C>
- Rzedowski, G. C., & Calderón de Rzedowski, J. (2022). Asteraceae de México: Diversidad y distribución. *Acta Botanica Mexicana*, 129, e2122. <https://doi.org/10.21829/abm129.2022.2122>
- Shin, C. P., & Allmon, W. D. (2023). How do we study cryptic species and their biological implications: A case study of shelled marine gastropods. *Ecology and Evolution*, 13(9), e10360. <https://doi.org/10.1002/ece3.10360>
- Takamatsu, S. (2004). Phylogeny and evolution of the powdery mildew fungi (*Erysiphales*, *Ascomycota*) inferred from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycoscience*, 45(2), 147–157. <https://doi.org/10.1007/S10267-004-0160-1>
- Takamatsu, S. (2013). Origin and evolution of the powdery mildews (*Ascomycota*, *Erysiphales*). *Mycoscience*, 54(1), 75–86. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2012.08.004>
- Vela-Corcía, D., Bellón-Gómez, D., López-Ruiz, F., Torés, J. A., & Pérez-García, A. (2014). The *Podosphaera fusca* TUB2 gene, a molecular “Swiss Army knife” with multiple applications in powdery mildew research. *Fungal Biology*, 118(2), 228–241. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.12.001>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press.