

Fundamentos moleculares para el uso de RNAi vía SIGS en el control de *Fusarium*

Molecular foundations for the use of RNAi via SIGS in the control of Fusarium

Lizbeth Jazmín Moreno Alegría¹ 

Jorge Adrián Cirilo Reyes¹ 

Estefania Arellano Ordoñez² 

Fernando Olvera Martínez² 

Ileri Alejandra Carbajal Valenzuela¹ 

Christopher Alexis Cedillo Jiménez^{2*} 

*c.cedilloc@gmail.com

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México

²Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Querétaro, México

DOI: 10.61820/dcuaq.2395-8847.2067

Fecha de recepción: 4 de noviembre del 2025

Fecha de aceptación: 16 de abril del 2026

Resumen

El control de *Fusarium* spp. representa un reto fitosanitario a nivel global debido a su amplia gama de hospederos y su persistencia en el suelo. Este trabajo tiene como objetivo analizar los fundamentos biológicos y tecnológicos que sustentan el uso de RNA interferente como alternativa al uso de fungicidas convencionales, en particular la estrategia de aspersión de RNA. Se examinaron mecanismos moleculares de infección y silenciamiento génico, así como criterios de diseño de RNA con potencial interferente con base en la accesibilidad estructural, el sesgo de nucleótidos y la asimetría termodinámica. La metodología consistió en una revisión de literatura científica, con énfasis en estudios acerca de mecanismos moleculares de infección, silenciamiento génico y criterios de diseño de RNA con potencial interferente, complementada con el análisis de propuestas experimentales reportadas sobre su aplicación por aspersión. Las estrategias basadas en el silenciamiento génico ofrecen ventajas frente a los métodos tradicionales por su especificidad y menor impacto ambiental, aunque presentan limitaciones asociadas a la variabilidad genética, las condiciones ambientales y los marcos regulatorios. Se concluye que la

integración de criterios de diseño molecular con conocimientos ecológicos del patógeno permitirá avanzar hacia estrategias más robustas y sostenibles de control.

Palabras clave: fungicidas, RNAi, SIGS, siRNA

Abstract

Control of Fusarium spp. is recognized as a global phytosanitary challenge due to its broad host range and persistence in soil. This work is aimed at analyzing the biological and technological foundations that support the use of RNA interference as an alternative to conventional fungicides, particularly spray-based RNA delivery. Molecular mechanisms of infection and gene silencing were reviewed, and RNA design criteria with interference potential were considered on the basis of structural accessibility, nucleotide bias, and thermodynamic asymmetry. The methodology consisted of a review of scientific literature, with emphasis on molecular mechanisms of infection, gene silencing, and RNA design criteria with interference potential, complemented by the analysis of reported experimental spray-based application. Gene-silencing strategies are presented as offering advantages over traditional methods because of their specificity and lower environmental impact, although limitations associated with genetic variability, environmental conditions, and regulatory frameworks were acknowledged. It is concluded that integrating molecular design criteria with ecological knowledge of the pathogen will enable progress toward more robust and sustainable control strategies.

Keywords: fungicides, RNAi, SIGS, siRNA

Introducción

Las enfermedades causadas por hongos representan uno de los principales desafíos en la agricultura y en la seguridad alimentaria global, ya que afectan el rendimiento de los cultivos, la calidad de los productos y la salud de los consumidores. Se estima que el 70% de las enfermedades en las plantas son causadas por hongos o agentes patógenos similares. Dentro del grupo de hongos, el género *Fusarium* está compuesto por varias especies fitopatógenas responsables de una gran variedad de enfermedades en cultivos como trigo, maíz, cebada, plátano y aguacate. Estas especies ocasionan patologías como marchitez vascular, podredumbre de raíz y tallo, y contaminación de granos, con consecuencias en la productividad agrícola (Koch et al., 2019). Además, algunas producen micotoxinas como tricotecenos, fumonisinas y zearalenona, que amenazan la salud humana y animal (Ekwomadu et al., 2020).

El impacto del género *Fusarium* no solamente afecta el ámbito fitosanitario, sino también de manera importante la estabilidad económica de los sistemas agrícolas. Las pérdidas relacionadas con la reducción del rendimiento y la calidad de los productos, así como con las restricciones comerciales por la contaminación por micotoxinas, perjudican la economía y la seguridad alimentaria internacional. Por ello, es considerado uno de los hongos más devastadores para los cultivos en la mayor parte del mundo, especialmente en Asia, África, Estados Unidos, Europa y Australia (Ekwomadu y Mwanza, 2023).

El objetivo de este artículo es analizar los fundamentos biológicos y tecnológicos que sustentan el uso de RNA interferente (RNAi), en particular mediante la estrategia SIGS (“silenciamiento génico inducido por pulverización”, por sus siglas en inglés), como alternativa emergente para el control de *Fusarium*. Con este fin, se revisan los métodos de control convencionales y se profundiza en los principios moleculares, criterios de diseño y consideraciones experimentales asociados a esta tecnología.

Metodología

Para llevar a cabo esta revisión se realizó una consulta bibliográfica en los motores de búsqueda científica Google Scholar y PubMed, empleando combinaciones de palabras clave en inglés: *Fusarium*, RNA interference, RNAi, SIGS, HIGS, dsRNA y siRNA. Se priorizaron artículos de investigación y revisión publicados en los últimos diez años, salvo artículos clásicos necesarios para el marco conceptual. Principalmente se consideraron aquellos enfocados en mecanismos moleculares de infección, silenciamiento génico, diseño de RNA interferente y aplicaciones experimentales para el control de *Fusarium* spp.

Biología de *Fusarium* relevante para el control biológico

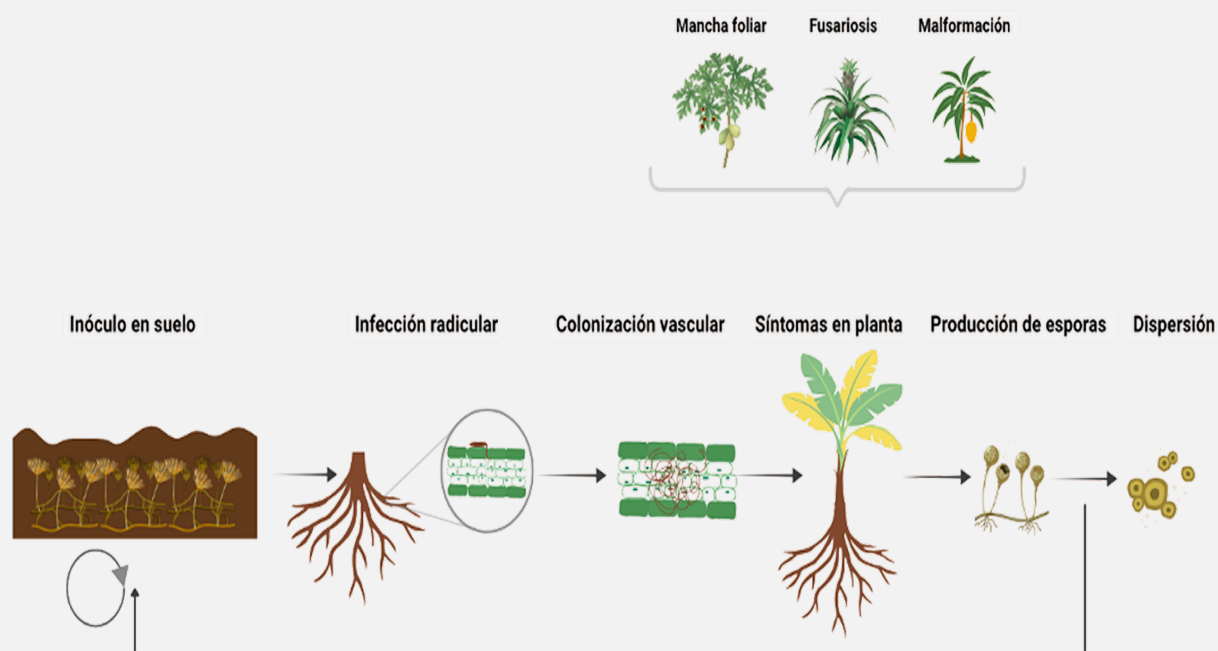
Los hongos del género *Fusarium* presentan un ciclo de vida complejo que incluye fases de supervivencia en el suelo, infección del hospedante y esporulación, el cual les permite persistir durante largos periodos, incluso ante condiciones ambientales adversas y la ausencia de hospederos, y causar infecciones recurrentes en distintos cultivos (Huang *et al.*, 2015). Cuando la planta hospedante muere, las raíces infectadas con el hongo se descomponen y pueden permanecer como micelio latente, asociadas a semillas infectadas o liberar esporas que se dispersan en el suelo, alcanzan nuevos hospedantes y reinician el ciclo; estas estructuras constituyen el principal inóculo primario que inicia infecciones cuando las condiciones del entorno son favorables (Yan *et al.*, 2023).

La infección empieza cuando las clamidosporas o conidios presentes en el suelo germinan en respuesta a la humedad y la presencia de raíces susceptibles. Las hifas emergentes penetran los tejidos vegetales, principalmente a través de la punta de las raíces o de pequeñas heridas. Una vez dentro, el hongo coloniza el xilema, desde donde crece hacia la parte aérea de la planta, bloqueando el transporte de agua y nutrientes (Leslie y Summerell, 2006). A lo largo de este proceso, el patógeno puede producir micotoxinas (como fumonisinas, zearalenona o tricotecenos) que contribuyen a la marchitez, necrosis y muerte del hospedante (Bakker *et al.*, 2018).

Los hongos del género *Fusarium* tienen la facultad de vivir como saprofitos o patógenos. Estas especies infectan tanto la parte aérea como subterránea de la planta y se dispersan mediante conidios por el aire y agua de lluvia o riego, y clamidosporas que pueden permanecer en el suelo y restos vegetales por largo tiempo sin perder su viabilidad. *Fusarium* es un patógeno hemibiótrofo versátil, capaz de iniciar infecciones en raíces, heridas o por vía aérea, y afectar numerosos cultivos agrícolas a gran escala (Zakaria, 2023). En la Figura 1 se presenta un esquema del proceso de infección por diferentes medios.

Figura 1. Ciclo de infección de *Fusarium*

Génesis por la propagación de conidios



Fuente: elaboración propia

Elementos que favorecen el proceso de infección

La supervivencia y patogenicidad del género *Fusarium* dependen de diversos elementos biológicos que aseguran su integridad celular y su capacidad de infección. Entre ellos, destaca la síntesis de ergosterol, componente esencial de la membrana plasmática fúngica que regula la fluidez, permeabilidad y estabilidad estructural de la célula (Fan *et al.*, 2013). Este proceso está mediado por las enzimas del citocromo P450 lanosterol C-14 α -desmetilasa (*CYP51A/B/C*), codificadas por los genes *FgCYP51*, cuya inhibición afecta directamente la viabilidad del hongo y constituye el principal blanco de los fungicidas azólicos (Koch *et al.*, 2013). Además de su función estructural, el ergosterol contribuye a la tolerancia frente al estrés oxidativo y a la integridad del sistema de transporte de membrana, factores claves para la supervivencia del patógeno en condiciones ambientales adversas (Wang *et al.*, 2022).

Para impulsar su virulencia, *Fusarium* produce una amplia gama de enzimas hidrolíticas que facilitan la degradación de la pared celular vegetal, favoreciendo la penetración y colonización de los tejidos del hospedante, mientras que la síntesis de micotoxinas interfiere en la fisiología vegetal y ocasiona necrosis y marchitez (Zuriegat *et al.*, 2021; Koch *et al.*, 2013). Otros factores, como las proteínas efectoras secretadas durante la interacción huésped-patógeno, modulan las respuestas inmunitarias de la planta y facilitan el establecimiento del hongo (Wang *et al.*, 2022). En conjunto, estos mecanismos bioquímicos y moleculares permiten a *Fusarium* mantener su viabilidad en el ambiente, evadir las defensas del hospedante y asegurar la continuidad de su ciclo infeccioso (Fan *et al.*, 2013).

Resistencia a fungicidas y consecuencias agronómicas

La resistencia a los fungicidas se define como la reducción hereditaria de la sensibilidad de una población fúngica a una sustancia química específica, de modo que el patógeno puede desarrollarse en presencia de un agente que antes habría inhibido su crecimiento. Esta resistencia no surge necesariamente como consecuencia directa de la exposición al fungicida, sino que puede estar presente de forma natural dentro de la variabilidad genética de la población. Así, el uso constante o repetitivo de compuestos con el mismo mecanismo de acción actúa como una presión selectiva que favorece la supervivencia y proliferación de genotipos previamente resistentes, incrementando su frecuencia en la población (Yin *et al.*, 2023).

Los mecanismos de resistencia a fungicidas se dividen en dos grupos principales: resistencia en el sitio diana y resistencia fuera del sitio diana; asimismo, la evolución genética y

la epigenética también tienen un papel importante. La resistencia en el sitio diana consiste en mutaciones puntuales o la sobreexpresión de genes que codifican las proteínas que el fungicida afecta, mientras que la resistencia fuera del sitio diana consta de procesos más complejos, como la desintoxicación metabólica, la reducción de la absorción y la sobreexpresión de transportadores de eflujo activo, es decir, la expulsión del fungicida fuera de la célula mediante transportadores de membrana (Alkemade *et al.*, 2025). Estos procesos implican un gran desafío para la producción agrícola, ya que la pérdida de eficacia de los compuestos químicos puede conducir a un control insuficiente del patógeno, con el consecuente incremento en la severidad de la enfermedad y los costos de producción, así como la reducción del rendimiento. El panorama se agrava con el uso indiscriminado de agroquímicos y la falta de alternativas sostenibles y eficaces.

Uno de los mecanismos de resistencia más comunes en *Fusarium* frente a los fungicidas DMI (triazoles) involucra mutaciones y la sobreexpresión del gen *CYP51A*. Las mutaciones pueden modificar la estructura de la enzima diana y reducir la afinidad del fungicida por su sitio de acción, mientras que la sobreexpresión incrementa la cantidad de enzima disponible y disminuye la eficacia inhibitoria del compuesto. Estos mecanismos también pueden coexistir con procesos adicionales que contribuyen al fenotipo de resistencia (Alkemade *et al.*, 2025).

Desarrollo tecnológico para el control de *Fusarium*

Prácticas culturales como manejo fitosanitario

Las prácticas culturales constituyen una base sólida para la reducción del inóculo de *Fusarium* en sistemas hortícolas intensivos. Por ejemplo, la rotación en cultivos que no hospeden el patógeno o con periodos de descanso puede aminorar de manera considerable la población edáfica de *Fusarium* antes del trasplante del cultivo susceptible (Hong *et al.*, 2023). La solarización del suelo (cubrir el suelo con plástico transparente durante los meses cálidos para elevar la temperatura y disminuir el inóculo) ha demostrado ser especialmente efectivo. Así lo evidencia un estudio reciente en hoja de lechuga, donde se reportó como el método más eficiente para reducir *F. oxysporum* y *F. equiseti* (Tziros *et al.*, 2024).

Variedades agrícolas resistentes a *Fusarium*

El uso de variedades resistentes ha sido una de las estrategias más rentables en el manejo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) en tomate. Chitwood-Brown *et al.* (2021) documentan cómo, durante más de un siglo, los mejoradores

han incorporado genes R (por ejemplo, *I*, *I*-2, *I*-3) procedentes de especies silvestres de tomate para conferir resistencias a cepas específicas de Fol.

En plátano, el manejo de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), incluyendo la Tropical Race 4 (TR4), ha impulsado programas de mejoramiento que utilizan cultivares resistentes y genes provenientes de parientes silvestres, aunque su eficacia depende del material genético (Kedir *et al.*, 2025; Fang *et al.*, 2023).

Para el caso de las leguminosas, se han identificado nuevas fuentes de resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* en el frijol común, lo cual favorece el desarrollo de líneas menos susceptibles (Leitão *et al.*, 2020). En cucurbitáceas (melón, sandía) también se han descrito genes y programas de selección para generar resistencias a distintas cepas de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, si bien en la mayoría de los casos la resistencia es poligénica o parcial, lo que restringe su durabilidad (Sandlin y Webb, 2021; Schmidt *et al.*, 2015). Sin embargo, la eficacia de esta estrategia se ve limitada por la aparición de nuevas cepas del patógeno. Al respecto, Swett *et al.* (2023) indican que la resistencia introducida puede durar aproximadamente una década antes de que aparezca una nueva cepa que la supere.

Fungicidas químicos sintéticos y control biológico

El uso de fungicidas sintéticos contra hongos patógenos de importancia agrícola se estableció como práctica común hacia finales de la década de los sesenta, cuando compuestos como los benzimidazoles y derivados de ditiocarbamatos representaron un gran avance para la protección de cultivos gracias a su alta y rápida eficacia. Sin embargo, estas mismas ventajas llevaron a su empleo desmedido y, por ende, a problemas de resistencia. Así, para 1971 se documentaron cepas resistentes en poblaciones de hongos como *Botrytis cinerea*, lo cual evidenció que las estrategias basadas en una sola clase de fungicidas y el exceso de químicos no eran sostenibles. Luego, se descubrió que la resistencia provino de una mutación en el gen de la β -tubulina, que no afectaba la viabilidad del hongo, por lo que las cepas permanecían en campo por años, situación que mostró con claridad los límites del manejo químico (Hahn, 2014).

Ante estos desafíos, surgen alternativas a través del biocontrol con microorganismos antagonistas como *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., que aminoran la población del patógeno en el suelo y la planta mediante la competencia, antibiosis y estimulación de defensas en esta última (Yao *et al.*, 2023). Estas acciones representan una opción sostenible frente al uso intensivo de fungicidas químicos para el control de *Fusarium*;

sin embargo, también poseen restricciones que es importante considerar. La eficacia de estos agentes biológicos puede variar debido a factores edáficos, ambientales y genéticos, lo cual se traduce en resultados inconsistentes entre las condiciones controladas y las de campo (Khan *et al.*, 2018). Además, aunque contribuyen a reducir la severidad de la enfermedad, no siempre logran eliminar completamente el inóculo ni controlar las micotoxinas o los efectos sistémicos asociados al patógeno (Bubici *et al.*, 2019). Si bien dichas limitaciones no le restan relevancia a esta aplicación, exhiben la necesidad de desarrollar un abanico de estrategias para el control de *Fusarium*.

Transición a biotecnologías y control molecular para el control de *Fusarium*

RNAi vía HIGS y SIGS

En los últimos años, en el manejo de *Fusarium* se han incorporado estrategias basadas en el silenciamiento génico mediante RNA de interferencia (RNAi) como alternativa prometedora frente al uso de fungicidas químicos convencionales. Entre estas destacan dos enfoques principales: el silenciamiento génico inducido por el huésped (HIGS, por sus siglas en inglés) y el silenciamiento génico inducido por pulverización (SIGS, por sus siglas en inglés).

El enfoque HIGS consiste en generar plantas transgénicas que expresan dsRNA procesado en moléculas siRNA capaces de silenciar genes esenciales del hongo durante la infección, con el fin de reducir su virulencia y la producción de micotoxinas (Nowara *et al.*, 2010). Por su parte, SIGS ofrece una alternativa no transgénica al aplicar dsRNA en la superficie foliar, de manera análoga a los pesticidas convencionales, lo cual permite que las moléculas sean absorbidas por la planta o directamente por el patógeno, y se induzca así el silenciamiento génico (Koch *et al.*, 2019).

Ambas estrategias se basan en el fenómeno RNAi y destacan por su alta especificidad y su potencial para reducir el impacto negativo de los métodos convencionales sobre el metabolismo vegetal. Sin embargo, la duración y consistencia del efecto de silenciamiento pueden variar según el sistema biológico y las condiciones de aplicación. En particular, en SIGS el efecto suele ser transitorio y depende de la estabilidad del dsRNA en el ambiente, de su captación por el patógeno o la planta y, en algunos casos, de la capacidad del organismo para amplificar la señal interferente (Koch *et al.*, 2019; Akbar *et al.*, 2022).

Asimismo, estos enfoques presentan limitaciones relevantes: en el caso de HIGS, el uso de plantas transgénicas implica regulaciones estrictas, procesos de aprobación prolongados

y altos costos, además de una baja aceptación pública en varias regiones, lo que dificulta su adopción a gran escala (Sang y Kim, 2019). SIGS, en cambio, representa una alternativa no transgénica que puede reducir algunas barreras regulatorias asociadas al uso de organismos genéticamente modificados, pero aún se requiere su evaluación de bioseguridad. La comparación entre estas dos tecnologías se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1
Comparación entre las estrategias HIGS
y SIGS para el control de *Fusarium*

Características	HIGS (Host-Induced Gene Silencing/silenciamiento génico inducido por el huésped)	SIGS (Spray-Induced Gene Silencing/silenciamiento génico inducido por pulverización)
Tipo de estrategia	Molecular transgénica	Molecular no transgénica
Mecanismo	Se integra genéticamente en el genoma vegetal bajo el control de promotores específicos	Se sintetiza <i>in vitro</i> y se aplica mediante pulverización o formulaciones con nanopartículas
Longitud del dsRNA	Puede influir en la eficiencia del silenciamiento, aunque su efecto depende del diseño de la construcción y del sistema vegetal empleado	Influye en la eficacia, pero no existe un tamaño óptimo universal. Suele utilizarse dsRNA de varios cientos de nucleótidos, y su desempeño depende también de la estabilidad, captación y procesamiento
Duración del efecto de silenciamiento	Puede ser más prolongado que en SIGS, pero su eficacia depende del sistema de expresión, del procesamiento intracelular del RNA y del cultivo empleado	Generalmente es transitorio; depende de la estabilidad del dsRNA en el ambiente y de su captación efectiva
Ventajas	Permite un silenciamiento potencialmente duradero. La especificidad depende de la secuencia diseñada	No requiere modificación genética y permite una aplicación flexible. La especificidad depende de la secuencia diseñada

Limitaciones	Requiere plantas genéticamente modificadas, está sujeto a regulaciones estrictas y depende de una construcción genética capaz de producir hpRNA o dsRNA en el tejido adecuado	Tiene un efecto menos estable, es posible que el dsRNA sufra degradación ambiental y requiere de aplicaciones repetidas
--------------	---	---

Fuente: elaboración propia (2026), con base en Das y Sherif (2020), Doggalli *et al.* (2024), Höfle *et al.* (2019), Koch *et al.* (2019) y Qiao *et al.* (2023)

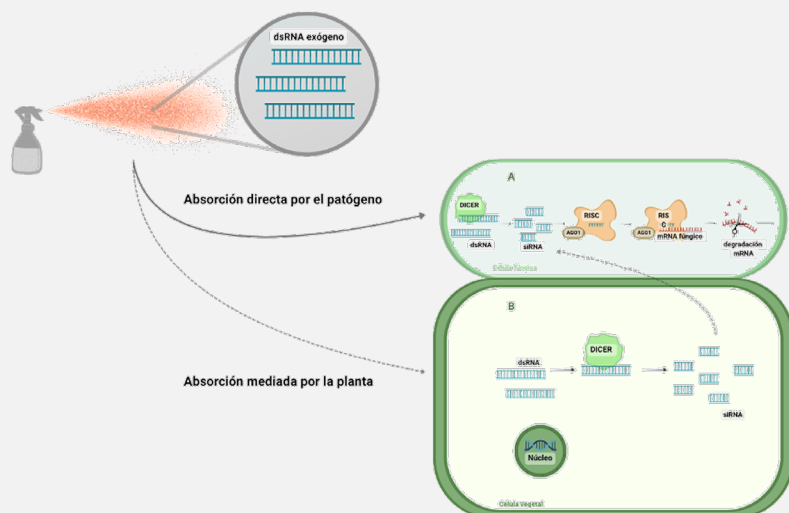
SIGS como alternativa tecnológica basada en RNAi

Como se mencionó anteriormente, SIGS representa una alternativa no transgénica con ventajas regulatorias. Uno de sus principales beneficios es que ofrece una vía más rápida de implementación comparada con el uso de organismos genéticamente modificados (vía HIGS), cuya aprobación está sujeta a marcos regulatorios estrictos y largos procesos de experimentación, además de que la percepción pública de los cultivos transgénicos ha limitado su adopción. Por otra parte, en algunos contextos, el uso exógeno de dsRNA en estrategias como SIGS ha sido considerado como una alternativa con menor complejidad regulatoria que los enfoques transgénicos. Sin embargo, su evaluación debe considerar tanto la especificidad de secuencia como los posibles efectos en organismos no objetivo y su comportamiento en condiciones ambientales reales (Chen *et al.*, 2025; De Schutter *et al.*, 2022).

En la Figura 2 se ilustra el mecanismo de RNAi por SIGS mediante dos posibles rutas: la absorción directa de dsRNA por el hongo, donde es procesado por la enzima DICER, generando siRNAs que silencian genes esenciales; y la absorción por las células de la planta, que procesan el dsRNA y exportan los siRNAs al patógeno, activando la respuesta de silenciamiento génico (Ray *et al.*, 2022).

Figura 2. Mecanismo de RNAi en un hongo patógeno vía SIGS

El dsRNA puede ser absorbido directamente por el patógeno o mediado por la planta



Fuente: elaboración propia

La aplicación foliar de dsRNA ha demostrado ser eficaz para atacar genes de virulencia, el desarrollo o funciones vitales en hongos fitopatógenos (Chen *et al.*, 2025). En ese sentido, el trabajo de Koch *et al.* (2016) es pionero, pues plantea que la aspersión de un dsRNA de 791 nucleótidos dirigido a tres genes (*CYP51A*, *CYP51B* y *CYP51C*) permitió controlar *Fusarium graminearum* en cebada al afectar la biosíntesis de ergosterol en el hongo, el cual es un componente clave de la membrana celular fúngica y blanco de muchos fungicidas químicos. En este trabajo se reporta que la aspersión de dicho dsRNA genera siRNAs que degradan eficazmente los mRNA fúngicos, reduciendo el crecimiento y la infección.

Se han registrado múltiples dsRNA dirigidos contra *Fusarium* spp. en distintos cultivos, incluyendo cebada, trigo y tomate, con potencial de un uso cruzado entre especies vegetales (Chen *et al.*, 2025). En la Tabla 2 se muestran cepas de *Fusarium* que han sido tratadas por SIGS de manera exitosa. Esta evidencia fortalece la SIGS como una estrategia de control de *Fusarium* de aplicación flexible y compatible con marcos regulatorios menos restrictivos que los correspondientes a las opciones transgénicas.

Tabla 2

Cepas de *Fusarium* spp. tratadas por SIGS

Hongo patógeno	Enfermedad que causa	Cultivo hospedero	Gen o genes blanco	Efecto y resultado	Referencia
<i>Fusarium graminearum</i>	Fusariosis de la espiga (FHB)	Trigo y cebada	<i>Fg-CYP51A</i> , <i>Fg-CYP51B</i> , <i>Fg-CYP51C</i>	Reduce el crecimiento del hongo y reduce la severidad de FHB	Koch <i>et al.</i> (2016)
<i>Fusarium graminearum</i>	FHB	Cebada	<i>Fg10360</i> , <i>Fg13150</i> , <i>Fg06123</i>	Reduce el desarrollo de la enfermedad	Kim <i>et al.</i> (2023)
<i>Fusarium asiaticum</i>	----	Múltiples cultivos	$\beta 1, \beta 2$ - <i>tubulin</i>	Ofrece un silenciamiento efectivo y promueve la sensibilidad del hongo	Gu <i>et al.</i> (2019)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Marchitez	Tomate y plátano	<i>Fg-ERG11</i>	Reduce el crecimiento del hongo y los síntomas de marchitez	Singh <i>et al.</i> (2020)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Marchitez	Tomate	<i>Tup1</i>	Reduce los síntomas de marchitez	Fan <i>et al.</i> (2024)

Fuente: elaboración propia (2026)

Aunque el principio general de SIGS puede describirse de forma sencilla como la aplicación externa de RNA para silenciar genes del patógeno, su implementación efectiva depende de varias decisiones de diseño molecular. A continuación, se resumen los aspectos más relevantes de ese proceso con un enfoque conceptual, a fin de mostrar cómo las propiedades de las moléculas interferentes influyen en su desempeño biológico.

Consideraciones para el diseño de RNAi vía SIGS en el control de *Fusarium*

En términos generales, las moléculas de RNAi deben reconocerse de manera específica con transcritos esenciales del hongo y, al mismo tiempo, mantener características estructurales que favorezcan su procesamiento por la maquinaria celular asociada al RNAi. Si bien existen múltiples variantes, en esta revisión se

enfatisa en formatos de dsRNA y siRNA comúnmente utilizados en estudios experimentales por su compatibilidad con los mecanismos canónicos de silenciamiento génico.

Componentes básicos de la maquinaria de RNAi

Para que una estrategia basada en RNAi funcione en *Fusarium*, es importante que el hongo conserve la maquinaria molecular mínima asociada al silenciamiento génico, principalmente las proteínas tipo DICER y AGO. Estas participan en el procesamiento del dsRNA y en el reconocimiento del RNA mensajero diana, por lo que su presencia sugiere que el patógeno puede responder a moléculas diseñadas para interferir con genes esenciales.

En especies de *Fusarium* se ha reportado la presencia de proteínas tipo DICER y AGO, lo que respalda la factibilidad biológica de este enfoque. No obstante, la eficiencia del silenciamiento puede variar entre especies, cepas y formatos de RNA aplicados, por lo que esta compatibilidad debe considerarse al diseñar estrategias de control (Koch *et al.*, 2016; Werner *et al.*, 2021).

Selección del sitio diana en el mRNA e interacción con el siRNA candidato

Un paso primordial en el diseño de moléculas interferentes consiste en seleccionar genes diana cuya inhibición afecte los procesos esenciales del patógeno, como su crecimiento, virulencia, síntesis de membrana o capacidad de infección. En el caso de *Fusarium*, diversos transcritos asociados a estas funciones ya han sido evaluados experimentalmente, como se resume en la Tabla 2.

La eficacia del silenciamiento no depende solo del gen seleccionado, sino también de la región específica del transcrito a la que se dirige la molécula de RNA. En general, se prefieren regiones accesibles y con menor probabilidad de formar estructuras secundarias complejas, ya que ello favorece el reconocimiento entre el RNA interferente y el RNA mensajero blanco. Además, se consideran propiedades de secuencia y estabilidad del dúplex, debido a que estas influyen en la incorporación de la hebra guía a los complejos de silenciamiento (Filhol *et al.*, 2012).

Una forma de respaldar esta selección es utilizar herramientas bioinformáticas que permitan estimar la accesibilidad estructural, afinidad de unión y especificidad potencial. Estos análisis no representan la única estrategia de diseño, pero sí constituyen una aproximación útil para priorizar los candidatos con una alta probabilidad de tener una interacción efectiva con el transcrito diana (Gruber *et al.*, 2008). En la Figura 3 se muestra la energía libre de Gibbs en la interacción entre el mRNA blanco y el siRNA, donde la línea negra es la energía de apertura del mRNA que se espera que sea muy cercana a 0, y en rojo se

observa la energía de interacción del siRNA con el mRNA. En la región de interacción, los valores más negativos de energía libre sugieren una unión potencialmente más estable entre el siRNA y el mRNA blanco.

Figura 3. Ejemplo de gráfico de energía de interacción

Se muestra la energía libre de interacción (rojo) y la energía que se requiere para abrir estructuras existentes en la secuencia más larga (negro) para la región objetivo (arriba) y todo el rango (abajo). De manera resumida, el gráfico permite identificar regiones accesibles y con alta afinidad de unión, lo que aumenta la probabilidad de que el siRNA diseñado funcione de manera correcta



Fuente: creada con The ViennaRNA Web Services
(<http://rna.tbi.univie.ac.at/index.html>)

Otro criterio significativo es la especificidad, de manera que los candidatos seleccionados deben contrastarse frente a transcriptomas de la planta hospedera y de organismos no blanco, con la finalidad de reducir los posibles efectos fuera de objetivo. Este aspecto posee especial relevancia en el contexto agrícola, donde la seguridad biológica es igual de esencial que la eficacia del control (Dai y Zhao, 2011). En conjunto, el diseño de siRNA requiere integrar criterios de la selección del gen diana, la accesibilidad estructural, la afinidad de interacción y la especificidad potencial. Se debe entender que ninguno de estos parámetros por sí solos garantizan el silenciamiento, pero su evaluación combinada mejora la probabilidad de obtener candidatos funcionales.

Síntesis del RNA para la conformación de dsRNA

Es posible producir dsRNA por distintos medios, incluidos métodos de síntesis química, plataformas enzimáticas y sistemas libres de células (Hough *et al.*, 2022). La elección del método depende de factores como la pureza, el rendimiento, el costo y la escala de producción. En etapas iniciales de validación experimental suele priorizarse la obtención de moléculas con suficiente calidad y estabilidad para confirmar el efecto interferente, mientras que en fases posteriores cobran mayor importancia aspectos como la formulación, el escalamiento y la protección frente a la degradación ambiental (Chiu y Rana, 2003; Czauderna *et al.*, 2003; Elmén *et al.*, 2008). En esta revisión no se abordan con detalle las estructuras protectoras orientadas a mejorar la estabilidad durante la aplicación, debido a que el énfasis de esta sección se centra en la validación inicial del efecto interferente.

Evaluación del efecto interferente

La evaluación del efecto interferente requiere preparar y aplicar las moléculas de RNA bajo condiciones compatibles con el sistema experimental, considerando la longitud del dsRNA, su concentración de trabajo y el método de aplicación. En etapas iniciales, puede realizarse tanto en sistemas *in vitro* como en tejidos vegetales o semillas, según el objetivo del ensayo y el nivel de desarrollo de la planta. La eficacia del tratamiento se estima a partir de la disminución de los síntomas de infección o del crecimiento del patógeno, y sus efectos deben cuantificarse mediante variables fenotípicas y moleculares apropiadas (Cedillo-Jiménez *et al.*, 2024).

La validación experimental debe integrar observaciones fenotípicas y mediciones moleculares obtenidas a través de ensayos dosis-respuesta con diferentes concentraciones, controles adecuados, réplicas biológicas suficientes y muestreos racionales según la fenología y la cinética del patógeno. En la Figura 4 se muestran dos cultivos de *Fusarium* spp.: el tratamiento control se inoculó en medio PDA, mientras que en el de la fotografía derecha se empleó siRNA diseñado para inhibir *CYP51A*, con lo cual disminuyó el desarrollo del hongo fitopatógeno.

Figura 4. Observaciones fenotípicas de *Fusarium* al ser tratado con siRNA

En el tratamiento control de *Fusarium* se aprecia un abundante crecimiento de micelio en condiciones óptimas y una textura algodonosa blanca, rasgos típicos de un buen desarrollo. A su vez, en el tratamiento con siRNA se demuestra su efecto interferente mediante el poco crecimiento de micelio observado, con una textura blanda y viscosa



Fuente: elaboración propia

Las observaciones fenotípicas podrían consistir en cuantificar los síntomas de infección y severidad en la planta, y buscar un gradiente dosis-respuesta consistente. Paralelamente, se debe cuantificar la abundancia del transcrito diana, normalizando con genes de referencia estables por qRT-PCR (Koch *et al.*, 2016; Cedillo-Jiménez *et al.*, 2024). En todos los casos, es indispensable acompañar los datos con análisis estadísticos (ANOVA y curvas dosis-respuesta) y la documentación de las condiciones precisas de preparación y aplicación para garantizar la trazabilidad y reproducibilidad.

Retos técnicos, regulatorios y de bioseguridad para la aplicación de SIGS

Los estudios revisados muestran que SIGS es una alternativa prometedora para el control de *Fusarium*; sin embargo, su aplicación práctica en la agricultura todavía enfrenta retos importantes de naturaleza técnica, regulatoria y de bioseguridad. Estos no dependen de un solo factor, sino de la interacción entre la estabilidad del dsRNA en campo, la eficiencia del ingreso al patógeno, la especificidad biológica, los costos de producción, el escalamiento industrial y la definición regulatoria.

En cuanto al ingreso a las células fúngicas, como las de *Fusarium*, es importante considerar el tamaño del dsRNA y los acarreadores de la formulación. Se ha encontrado que la pared fúngica permite el movimiento de moléculas pequeñas, por lo que los dsRNA largos y desnudos (no formulados) pueden

presentar dificultades para alcanzar la membrana (Walker *et al.*, 2018). Por otro lado, la membrana es más restrictiva para los dsRNA de naturaleza hidrofílica (Shin *et al.*, 2018), por lo que se ha postulado que el ingreso celular más probable es vía endocitosis o mediante la incorporación inicial por la planta y posterior exportación en vesículas al hongo (Cai *et al.*, 2018). Por ello, también se han explorado distintas estrategias de formulación para favorecer la estabilidad y disponibilidad del dsRNA al aplicarlo (Degnan *et al.*, 2023; Mosquera *et al.*, 2025). Esta limitación es relevante porque una molécula con buen diseño de secuencia puede no ser efectiva en condiciones reales si no alcanza las concentraciones adecuadas en el sitio de acción o si se degrada antes de internalizarse. En ese sentido, la formulación no es un aspecto accesorio, sino de los principales determinantes de la viabilidad tecnológica de SIGS en campo.

En cuanto a la bioseguridad, distintos organismos internacionales hacen énfasis en adaptar las guías de evaluación de riesgo para incluir análisis bioinformáticos de especificidad, estudios en matrices ambientales reales y ensayos ecotoxicológicos en especies benéficas (Vatanparast *et al.*, 2024; Hernández-Soto y Chacón-Cerdas, 2021). Los enfoques computacionales para diseñar dsRNA que liberen cientos de siRNAs contra plagas en cultivos destacan la bioseguridad a nivel postranscripcional (Chen, 2025). No obstante, la alta especificidad del RNAi no debe interpretarse como la ausencia automática de riesgo, ya que la necesidad de contrastar secuencias contra transcriptomas de organismos no blanco y de evaluar su comportamiento en matrices ambientales muestra que la seguridad depende tanto del diseño molecular como del contexto ecológico de la aplicación. En este sentido, la validación experimental se debe extender más allá del efecto sobre el patógeno e incorporar escenarios de exposición ambiental plausibles.

La efectividad y la bioseguridad convergen en los marcos regulatorios. A la fecha de corte de este manuscrito, el ejemplo más avanzado corresponde al control del escarabajo de la papa de Colorado con *Calantha* (Ledprona), el primer pesticida SIGS con autorización provisional para usarse en cultivos en Estados Unidos (U.S. EPA, 2023). Dicha autorización cubre tres años y será revisada posteriormente, lo que constituye un hito regulatorio que requirió un proceso de evaluación de cuatro años por la EPA y ha motivado iniciativas en Europa para apoyar la clasificación legal de los productos basados en RNA (Kümin *et al.*, 2024). GreenLight Biosciences, la empresa desarrolladora, proyectó escalar la producción de dsRNA de 2 t/año en 2024

a 20 t/año hacia finales de 2025, con un costo de producción aproximado de 1 USD/g de dsRNA (Stokstad, 2024). Si bien el marco regulatorio y el escalamiento productivo sugieren la llegada de nuevos productos de la misma clase, el avance regulatorio de casos puntuales no garantiza una adopción rápida y generalizada. Cada nuevo producto deberá demostrar estabilidad, eficacia, especificidad y seguridad bajo condiciones de uso definidas, de modo que la regulación puede convertirse en un cuello de botella tan relevante como la propia optimización molecular o el escalamiento productivo.

Ante este panorama, SIGS se perfila como una estrategia con alto potencial para complementar o reemplazar parcialmente algunos esquemas convencionales de control de *Fusarium*. Sin embargo, la transición de pruebas experimentales exitosas a aplicaciones agrícolas dependerá de que se resuelvan de manera integrada los problemas de entrega, estabilidad, bioseguridad, escalamiento productivo y evaluación regulatoria. De tal forma, las investigaciones futuras no solo deben optimizar el silenciamiento génico, sino también obtener evidencia sobre riesgos no postranscripcionales, efectos epigenéticos no intencionados y posibles respuestas inmunológicas en organismos no objetivo (Dalakouras et al., 2024), con el fin de sostener el desarrollo responsable de esta tecnología.

Finalmente, se concluye que el uso de RNAi vía SIGS representa una alternativa prometedora para el control de *Fusarium* debido a su especificidad y a su potencial como estrategia no transgénica. No obstante, su aplicación agrícola efectiva está sujeta a que se superen las limitaciones relacionadas con la estabilidad del dsRNA, su ingreso al patógeno, la bioseguridad, la regulación y el escalamiento productivo. En conjunto, la evidencia revisada indica que el avance de esta tecnología requiere integrar fundamentos moleculares sólidos con evaluaciones biológicas, ambientales y regulatorias.

Información sobre el financiamiento

Trabajo realizado con apoyo del Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría de la Universidad Autónoma de Querétaro clave FOPER-2025-FQU04150. Agradecimientos al Centro de Investigaciones Aplicadas en Biosistemas por el uso de sus instalaciones y equipos.

Declaración de conflictos de interés

Las personas autoras no declaran ningún potencial conflicto de interés.

Referencias

- Akbar, S., Wei, Y. y Zhang, M.-Q. (2022). RNA interference: promising approach to combat plant viruses. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), 5312. <https://doi.org/10.3390/ijms23105312>
- Alkemade, J.A., Hawkins, N.J., Baraldi, E., Buddie, A.G., Cockerton, H.M., Corkley, I., Fraaije, B.A., Gaya, E., Gifford, D.R., Hartig, F., Kanyuka, K., Koch, A., Niño Sánchez, J., Preston, G.M., Seidl, M.F., Spanu, P.D., Werner, B.T., Lyu, J. y Barraclough, T.G. (2025). Learning from fungicide resistance: evolutionary insights to guide RNAi-based control of fungal crop pathogens. *Fungal Biology Reviews*, 53, 100443. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2025.100443>
- Bakker, M.G., Brown, D.W., Kelly, A.C., Kim, H.-S., Kurtzman, C.P., McCormick, S.P., O'Donnell, K.L., Proctor, R.H., Vaughan, M.M. y Ward, T.J. (2018). *Fusarium* mycotoxins: a trans-disciplinary overview. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(2), 161-171. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1433720>
- Bubici, G., Kaushal, M., Prigigallo, M.I., Gómez-Lama Cabanás, C. y Mercado-Blanco, J. (2019). Biological control agents against *Fusarium* wilt of banana. *Frontiers in Microbiology*, 10, 616. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00616>
- Cai, Q., Qiao, L., Wang, M., He, B., Lin, F.-M., Palmquist, J., Huang, S.-D. y Jin, H. (2018). Plants send small RNAs in extracellular vesicles to fungal pathogen to silence virulence genes. *Science*, 360(6393), 1126-1129. <https://doi.org/10.1126/science.aar4142>
- Cedillo-Jimenez, C.A., Guevara-Gonzalez, R.G. y Cruz-Hernandez, A. (2024). Exogenous dsRNA sequence based on miR1917 down-regulates its target gene related to ethylene signaling in tomato seedlings and fruit. *Scientia Horticulturae*, 331, 113090. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113090>
- Chen, C., Imran, M., Feng, X., Shen, X. y Sun, Z. (2025). Spray-induced gene silencing for crop protection: recent advances and emerging trends. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1527944. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1527944>
- Chitwood-Brown, J., Vallad, G.E., Lee, T.G. y Hutton, S.F. (2021). Breeding for resistance to *Fusarium* wilt of tomato: a review. *Genes*, 12(11), 1673. <https://doi.org/10.3390/genes12111673>
- Chiu, Y.-L. y Rana, T.M. (2003). siRNA function in RNAi: a chemical modification analysis. *RNA*, 9, 1034-1048. <https://doi.org/10.1261/rna.5103703>
- Czauderna, F., Fechtner, M., Dames, S., Aygün, H., Klippel, A., Pronk, G.J., Giese, K. y Kaufmann, J. (2003). Structural variations and stabilising modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells. *Nucleic Acids Research*, 31(11), 2705-2716. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg393>

- Dai, X. y Zhao, P.X. (2011). psRNATarget: a plant small RNA target analysis server. *Nucleic Acids Research*, 39(2), W155-W159. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr319>
- Dalakouras, A., Koidu, V. y Papadopoulou, K. (2024). DsRNA-based pesticides: considerations for efficiency and risk assessment. *Chemosphere*, 352, 141530. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141530>
- Das, P.R. y Sherif, S.M. (2020). Application of exogenous dsRNAs-induced RNAi in agriculture: challenges and triumphs. *Frontiers in Plant Science*, 11, 946. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00946>
- Degnan, R.M., McTaggart, A.R., Shuey, L.S., Pame, L.J.S., Smith, G.R., Gardiner, D.M., Nock, V., Soffe, R., Sale, S., Garrill, A., Carroll, B.J., Mitter, N. y Sawyer, A. (2023). Exogenous double-stranded RNA inhibits the infection physiology of rust fungi to reduce symptoms in planta. *Molecular Plant Pathology*, 24(3), 191-207. <https://doi.org/10.1111/mpp.13286>
- De Schutter, K., Taning, C.N.T., Van Daele, L., Van Damme, E.J.M., Dubruel, P. y Smagghe, G. (2022). RNAi-based biocontrol products: market status, regulatory aspects, and risk assessment. *Frontiers in Insect Science*, 1, 818037. <https://doi.org/10.3389/finsc.2021.818037>
- Doggalli, G., Manjula, M., Lohithaswa, H.C. y Santhoshinii, E. (2024). RNA interference (RNAi) technology in crop improvement. En R.P. Meena, N.Y. Akshitha, M.M. Dange, V.G. Wuike y U. Devi (Eds.), *Agricultural biotechnology: collaborative insight* (vol. 2, pp. 229-258). Stella International Publication.
- Ekwomadu, T.I., Dada, T.A., Nleya, N., Gopane, R., Sulyok, M. y Mwanza, M. (2020). Variation of *Fusarium* free, masked, and emerging mycotoxin metabolites in maize from agriculture regions of South Africa. *Toxins*, 12(3), 149. <https://doi.org/10.3390/toxins12030149>
- Ekwomadu, T.I. y Mwanza, M. (2023). *Fusarium* fungi pathogens, identification, adverse effects, disease management, and global food security: a review of the latest research. *Agriculture*, 13(9), 1810. <https://doi.org/10.3390/agriculture13091810>
- Elmén, J., Lindow, M., Schütz, S., Lawrence, M., Petri, A., Obad, S., Lindholm, M., Hedtjärn, M., Frydenlund Hansen, H., Berger, U., Gullans, S., Kearney, P., Sarnow, P., Straarup, E.M. y Kauppinen, S. (2008). LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature*, 452, 896-899. <https://doi.org/10.1038/nature06783>
- Fan, J., Urban, M., Parker, J.E., Brewer, H.C., Kelly, S.L., Hammond-Kosack, K.E., Fraaije, B.A., Liu, X. y Cools, H.J. (2013). Characterization of the sterol 14 α -demethylases of *Fusarium graminearum* identifies a novel genus-specific CYP51 function. *New Phytologist*, 198(3), 821-835. <https://doi.org/10.1111/nph.12193>

- Fan, S., Zhou, Y., Zhu, N., Meng, Q., Zhao, Y., Xu, J., Tang, Y., Dai, S. y Yuan, X. (2024). Exogenous application of dsRNA-inducing silencing of the *Fusarium oxysporum* *Tup1* gene and reducing its virulence. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10286. <https://doi.org/10.3390/ijms251910286>
- Fang, H., Zhong, C., Sun, J. y Chen, H. (2023). Revealing the different resistance mechanisms of banana 'Guijiao 9' to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 using comparative proteomic analysis. *Journal of Proteomics*, 283-284, 104937. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2023.104937>
- Filhol, O., Ciais, D., Lajaunie, C., Charbonnier, P., Foveau, N., Vert, J.-P. y Vandenbrouck, Y. (2012). DSIR: assessing the design of highly potent siRNA by testing a set of cancer-relevant target genes. *PLoS ONE*, 7(10), e48057. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048057>
- Gruber, A.R., Lorenz, R., Bernhart, S.H., Neuböck, R. y Hofacker, I.L. (2008). The Vienna RNA websuite. *Nucleic Acids Research*, 36(2), W70-W74. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn188>
- Gu, K.-X., Song, X.-S., Xiao, X.-M., Duan, X.-X., Wang, J.-X., Duan, Y.-B., Hou, Y.-P. y Zhou, M.-G. (2019). A $\beta 2$ -tubulin dsRNA derived from *Fusarium asiaticum* confers plant resistance to multiple phytopathogens and reduces fungicide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 153, 36-46. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.10.005>
- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology*, 7, 133-141. <https://doi.org/10.1007/s12154-014-0113-1>
- Hernández-Soto, A. y Chacón-Cerdas, R. (2021). RNAi crop protection advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12148. <https://doi.org/10.3390/ijms222212148>
- Höfle, L., Biedenkopf, D., Werner, B.T., Shrestha, A., Jelonek, L. y Koch, A. (2019). Study on the efficiency of dsRNAs with increasing length in RNA-based silencing of the *Fusarium* *CYP51* genes. *RNA Biology*, 17(4), 463-473. <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1700033>
- Hong, S., Yuan, X., Yang, J., Yang, Y., Jv, H., Li, R., Jia, Z. y Ruan, Y. (2023). Selection of rhizosphere communities of diverse rotation crops reveals unique core microbiome associated with reduced banana *Fusarium* wilt disease. *New Phytologist*, 238(5), 2194-2209. <https://doi.org/10.1111/nph.18816>
- Hough, J., Howard, J.D., Brown, S., Portwood, D.E., Kilby, P.M. y Dickman, M.J. (2022). Strategies for the production of dsRNA biocontrols as alternatives to chemical pesticides. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 980592. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.980592>

- Huang, X.Q., Wen, T., Zhang, J.B., Meng, L., Zhu, T.B., Liu, L.L. y Cai, Z.C. (2015). Control of soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum* by biological soil disinfestation with incorporation of various organic matters. *European Journal of Plant Pathology*, 143, 223-235. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0676-x>
- Kedir, B., Fininsa, C., Bekeko, Z. y Mohammed, A. (2025). Resistance of banana cultivars against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in southern Ethiopia. *Agrosystems, Geosciences & Environment*, 8(2), e70111. <https://doi.org/10.1002/agg2.70111>
- Khan, N., Martínez-Hidalgo, P., Ice, T.A., Maymon, M., Humm, E.A., Nejat, N., Sanders, E.R., Kaplan, D. y Hirsch, A.M. (2018). Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2363. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>
- Kim, S., Lee, R., Jeon, H., Lee, N., Park, J., Moon, H., Shin, J., Min, K., Kim, J.-E., Yang, J.-W. y Son, H. (2023). Identification of essential genes for the establishment of spray-induced gene silencing-based disease control in *Fusarium graminearum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(49), 19302-19311. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04557>
- Koch, A., Biedenkopf, D., Furch, A., Weber, L., Rossbach, O., Abdellatef, E., Linicus, L., Johannsmeier, J., Jelonek, L., Goesmann, A., Cardoza, V., McMillan, J., Mentzel, T. y Kogel, K.-H. (2016). An RNAi-based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery. *PLoS Pathogens*, 12(10), e1005901. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005901>
- Koch, A., Höfle, L., Werner, B.T., Imani, J., Schmidt, A., Jelonek, L. y Kogel, K.-H. (2019). SIGS vs HIGS: a study on the efficacy of two dsRNA delivery strategies to silence *Fusarium FgCYP51* genes in infected host and non-host plants. *Molecular Plant Pathology*, 20(12), 1636-1644. <https://doi.org/10.1111/mpp.12866>
- Koch, A., Kumar, N., Weber, L., Keller, H., Imani, J. y Kogel, K. (2013). Host-induced gene silencing of cytochrome P450 lanosterol C14 α -demethylase-encoding genes confers strong resistance to *Fusarium* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(48), 19324-19329. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306373110>
- Kümin, M., Eyer, K., Hall, J., Koch, A., Pascolo, S. y Romeis, J. (2024). RNA-Technologien: Wirkmechanismen, Anwendungen und Verabreichungsformen. *Swiss Academies Reports*, 19(1). <https://doi.org/10.5281/zenodo.10926878>
- Leitão, S.T., Malosetti, M., Song, Q., Van Eeuwijk, F., Rubiales, D. y Vaz Patto, M.C. (2020). Natural variation in Portuguese common bean germplasm reveals new sources of resistance against *Fusarium*

- oxysporum* f. sp. *phaseoli* and resistance-associated candidate genes. *Phytopathology*, 110(3), 633-647. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-19-0207-R>
- Leslie, J.F. y Summerell, B.A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>
- Mosquera, S., Ginésy, M., Bocos-Asenjo, I.T., Amin, H., Diez-Hernando, S., Diez, J.J. y Niño-Sánchez, J. (2025). Spray-induced gene silencing to control plant pathogenic fungi: a step-by-step guide. *Journal of Integrative Plant Biology*, 67(3), 801-825. <https://doi.org/10.1111/jipb.13848>
- Nowara, D., Gay, A., Lacomme, C., Shaw, J., Ridout, C., Douchkov, D., Hensel, G., Kumlehn, J. y Schweizer, P. (2010). HIGS: host-induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis*. *The Plant Cell*, 22(9), 3130-3141. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.077040>
- Qiao, L., Niño-Sánchez, J., Hamby, R., Capriotti, L., Chen, A., Mezzetti, B. y Jin, H. (2023). Artificial nanovesicles for dsRNA delivery in spray-induced gene silencing for crop protection. *Plant Biotechnology Journal*, 21(4), 854-865. <https://doi.org/10.1111/pbi.14001>
- Ray, P., Sahu, D., Aminedi, R. y Chandran, D. (2022). Concepts and considerations for enhancing RNAi efficiency in phytopathogenic fungi for RNAi-based crop protection using nanocarrier-mediated dsRNA delivery systems. *Frontiers in Fungal Biology*, 3, 977502. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.977502>
- Sandlin, C. y Webb, K.M. (2021). Guidelines for the identification of races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* using differential melon lines. *Collaboration for Plant Pathogen Strain Identification*. University of California, Davis. <https://cppsi.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk8206/files/inline-files/Melon%20Fusarium%20Wilt%20V4%20June%202021.pdf>
- Sang, H. y Kim, J.-I. (2019). Advanced strategies to control plant pathogenic fungi by host-induced gene silencing (HIGS) and spray-induced gene silencing (SIGS). *Plant Biotechnology Reports*, 14, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s11816-019-00588-3>
- Schmidt, S.M., Lukasiewicz, J., Farrer, R., Van Dam, P., Bertoldo, C. y Rep, M. (2015). Comparative genomics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* reveals the secreted protein recognized by the *Fom-2* resistance gene in melon. *New Phytologist*, 209(1), 307-318. <https://doi.org/10.1111/nph.13584>
- Shin, H., Park, S.-J., Yim, Y., Kim, J., Choi, C., Won, C. y Min, D.-H. (2018). Recent advances in RNA therapeutics and RNA delivery systems based on nanoparticles. *Advanced Therapeutics*, 1(7), 1800065. <https://doi.org/10.1002/adtp.201800065>

- Singh, N., Mukherjee, S.K. y Rajam, M.V. (2020). Silencing of the ornithine decarboxylase gene of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by host-induced RNAi confers resistance to *Fusarium* wilt in tomato. *Plant Molecular Biology Reporter*, 38, 419-429. <https://doi.org/10.1007/s11105-020-01205-2>
- Stokstad, E. (27 de junio del 2024). *The perfect pesticide? Insecticides made of RNA could offer a safer and more targeted weapon against crop pests*. Science. <https://www.science.org/content/article/perfect-pesticide-rna-kills-crop-destroying-beetles-unprecedented-accuracy>
- Swett, C.L., Del Castillo Munera, J., Hellman, E., Helpio, E., Gastelum, M., Lopez Raymundo, E., Johnson, H., Oguchi, R., Hopkins, A., Beau-lieu, J. y Rodriguez, F. (2023). Monitoring for a new *I3* resistance gene-breaking race of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fusarium* wilt) in California processing tomatoes following recent widespread adoption of resistant (F3) cultivars: challenges with race 3 and 4 differentiation methods. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1088044. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1088044>
- Tziros, G.T., Samaras, A. y Karaoglanidis, G.S. (2024). Soil solarization efficiently reduces fungal soilborne pathogen populations, promotes lettuce plant growth, and affects the soil bacterial community. *Biology*, 13(8), 624. <https://doi.org/10.3390/biology13080624>
- U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). (29 de septiembre del 2023). *Proposed registration decision for the new active ingredient Ledprona (Leptinotarsa decemlineata-specific recombinant double-stranded interfering Oligonucleotide GS2) in GS2 formulation and GS2 technical*. Regulations.gov. <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2021-0271-0008>
- Vatanparast, M., Merkel, L. y Amari, K. (2024). Exogenous application of dsRNA in plant protection: Efficiency, safety concerns and risk assessment. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), 6530. <https://doi.org/10.3390/ijms25126530>
- Walker, L., Sood, P., Lenardon, M.D., Milne, G., Olson, J., Jensen, G., Wolf, J., Casadevall, A., Adler-Moore, J. y Gow, N.A.R. (2018). The viscoelastic properties of the fungal cell wall allow traffic of Am-Bisome as intact liposome vesicles. *mBio*, 9, e02383-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.02383-17>
- Wang, H., Chen, Y., Hou, T., Jian, Y. y Ma, Z. (2022). The very long-chain fatty acid elongase FgElo2 governs tebuconazole sensitivity and virulence in *Fusarium graminearum*. *Environmental Microbiology*, 24(11), 5362-5377. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16212>
- Werner, B.T., Koch, A., Šečić, E., Engelhardt, J., Jelonek, L., Steinbrenner, J. y Kogel, K.-H. (2021). *Fusarium graminearum* DICER-like-dependent sRNAs are required for the suppression of host immune

- genes and full virulence. *PLoS ONE*, 16(8), e0252365. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252365>
- Yan, X., Guo, S., Gao, K., Sun, S., Yin, C. y Tian, Y. (2023). The impact of the soil survival of the pathogen of *Fusarium* wilt on soil nutrient cycling mediated by microorganisms. *Microorganisms*, 11(9), 2207. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092207>
- Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J. y Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1160551. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
- Yin, Y., Miao, J., Shao, W., Liu, X., Zhao, Y. y Ma, Z. (2023). Fungicide resistance: progress in understanding mechanism, monitoring, and management. *Phytopathology*, 113(4), 707-718. <https://doi.org/10.1094/phyto-10-22-0370-kd>
- Zakaria, L. (2023). *Fusarium* species associated with diseases of major tropical fruit crops. *Horticulturae*, 9(3), 322. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>
- Zuriegat, Q., Zheng, Y., Liu, H., Wang, Z. y Yun, Y. (2021). Current progress on pathogenicity-related transcription factors in *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 22(7), 882-895. <https://doi.org/10.1111/mpp.13068>