

Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenidos de zonas productoras de “ají paprika” *Capsicum annumm* L. (Solanaceae) en el distrito de Barranca, Perú

Isolation and identification of *Fusarium oxysporum* obtained from producing areas of “chili pepper” *Capsicum annumm* L. (Solanaceae) in the district of Barranca, Peru

Angel David Hernández Amasifuen, Alexandra Jherina Pineda Lázaro & Huberto Williams Noriega-Córdova

Laboratorio de Estudios Genéticos y Biotecnológicos, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Av. Mercedes Indacochea n° 609, Huacho, PERÚ
adhernandz@hotmail.com / sherina.97.19@gmail.com / hnoriega@unjfsc.edu.pe

Resumen

El ají paprika (*Capsicum annum* L.) es un cultivo de gran importancia en el Perú, debido a que el país es el segundo mayor exportador a nivel mundial. Se reporta en la actualidad una disminución en su rendimiento, relacionado a enfermedades ocasionadas por hongos como *Fusarium* spp., *Phytophthora capsici* y *Rhizoctonia solani*; siendo el género *Fusarium* el que se presenta con mayor frecuencia. Teniendo en cuenta la importancia que tiene el cultivo de ají paprika en el país, el presente trabajo tiene como objetivo aislar e identificar morfológicamente a *Fusarium oxysporum* a partir de raíces de ají paprika de las zonas productoras del distrito de Barranca. Se colectaron muestras de paprika con síntomas de marchitez y pudrición radicular de las zonas de Santa Elena y Vinto pertenecientes al distrito de Barranca. A las muestras se le realizaron cortes transversales de 1 cm de longitud y fueron desinfectadas superficialmente, siendo sembradas en medio PDA. Los micelos presentes fueron aislados para su purificación en frascos con medio PDA para luego ser transferidos a placas Petri con medio PDA para observar la pigmentación de la colonia y la velocidad de crecimiento; mientras que en medio SNA y CLA para observar microconidias, macroconidias, y clamidosporas. Se logró el aislamiento e identificar morfológicamente a 22 aislamientos de *F. oxysporum* a partir de raíces de ají paprika de las zonas productoras del distrito de Barranca, representando el 61.11 % de los aislamientos que presentaron características del género *Fusarium*, los cuales están relacionados con el marchitamiento y muerte de estos cultivos, lo que conlleva a grandes pérdidas económicas.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum*, *Capsicum*, ají paprika, marchitez, Barranca, Perú.

Abstract

Chili pepper (*Capsicum annum* L.) is a crop of great importance in Peru, because the country is the second largest exporter worldwide. Currently it is reported a decrease in its yield, related to diseases caused by fungi such as *Fusarium* spp., *Phytophthora capsici* and *Rhizoctonia solani*; the genus *Fusarium* is the one that occurs most frequently. Taking into account the importance of the cultivation of chili pepper in the country, this work aims to isolate and morphologically identify *Fusarium oxysporum* from the roots of chili pepper from the producing areas of the district of Barranca. Samples of chili with symptoms of wilting and root rot were collected from the areas of Santa Elena and Vinto in the district of Barranca. The samples were cut transversally 1 cm long and were disinfected superficially, then they were planted in PDA medium. The mycelia presented were isolated for their purification in flasks with PDA medium and then transferred to Petri dishes with PDA medium to observe the pigmentation of the colony and the growth rate; while in SNA and CLA media to observe microconidia, macroconidia and chlamydospores. We achieved the isolation and morphological identification of 22 isolates of *F. oxysporum* from the roots of chili from the producing areas of the district of Barranca, representing 61.11 % of the isolates that presented characteristics of the genus *Fusarium*, which are related to the wilting and death of these crops, which leads to great economic losses.

Keywords: *Fusarium oxysporum*, *Capsicum*, chili pepper, wilting, Barranca, Peru.

Citación: Hernández, A.; A. Pineda & H. Noriega. 2019. Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenidos de zonas productoras de "ají paprika" *Capsicum annum* L. (Solanaceae) en el distrito de Barranca, Perú. *Arnaldoa* 26 (2): 689-698 <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26211>

Introducción

El ají paprika (*Capsicum annum* L.) es una planta anual que pertenece a la familia Solanaceae, con un fruto de tipo baya

semicarilaginosa y deprimida con una coloración rojiza al estar maduro además de presentarse en formas y tamaños variados (Maroto, 1986). Es un cultivo de

gran importancia en el Perú, debido a que el país es el segundo mayor exportador a nivel mundial. Siendo la costa peruana la mayor productora a nivel nacional, teniendo así a las irrigaciones del distrito de Barranca como la zona principal de cultivo de ají paprika en la costa central (ADEX, 2016).

Se reporta en la actualidad una disminución en el rendimiento de ají paprika, relacionado a enfermedades ocasionadas por fitopatógenos del suelo; dentro de ellos los hongos más importantes en Perú y a nivel mundial son: *Fusarium spp.*, *Phytophthora capsici* y *Rhizoctonia solani*; siendo el género *Fusarium* el que se presenta con mayor frecuencia (Arias, 2015).

Las mayores pérdidas en muchos cultivos de importancia económica son causadas por hongos del género *Fusarium*, ya que no solo está relacionado con el ají paprika, se tiene registros de que también afectan a cultivos de algodón, palta, plátanos y los mayores reportes son en solanáceas, donde tenemos a la papa, tomate y ajíes. El efecto negativo en los cultivos mencionados puede llegar a ocasionar grandes pérdidas económicas al ocasionar la muerte de las plantas en más del 50% del cultivo y si las condiciones son favorables para el desarrollo del hongo puede terminar con el cultivo completo (Miller *et al.*, 1996; Lugo & Sanabria, 2001; Gonzáles *et al.*, 2002).

Los síntomas que produce este fitopatógeno son marchitamiento debido al debilitamiento de los peciolos, retardo en el crecimiento, pudrición radicular, observándose en la parte basal del tallo se puede apreciar a través de un corte transversal un anillo con coloración café y rojiza. Mayormente el hongo se disemina

por agua de riego, siendo el de mayor consideración el riego por gravedad lo que puede permitir que este fitopatógeno termine afectando todo el terreno de cultivo (Lugo & Sanabria, 2001).

Dentro del género *Fusarium*, el que ha llegado a tener mayor incidencia y daño es el *Fusarium oxysporum*. Este hongo infecta mayormente a las plantas de ají paprika a través de heridas en las raíces, ingresando a la planta hasta expandirse por el xilema y el tejido vascular, no permitiendo la difusión del agua y los nutrientes por la planta; ocasionando epinastia, marchitamiento y muerte de la planta (Gonzáles *et al.*, 2002). Además de estos daños, la mayoría de las especies de este género producen diversos efectores de naturaleza proteica que puede ayudarle al patógeno a suprimir las defensas de las plantas logrando su penetración. Por otro lado tienen la capacidad de producir metabolitos secundarios como las micotoxinas que contaminan los productos de consumo humano y animal, la producción de estas moléculas hace que el microorganismo sea más competitivo (Moretti, 2009).

Es de gran importancia señalar que el género *Fusarium* presenta gran diversidad genética lo que le permite tener mayor capacidad de adaptación en respuesta a nuevos ambientes, la interacción con diversos organismos y los entornos cambiantes (Fourie *et al.*, 2011).

Teniendo en cuenta la importancia que tiene el cultivo de ají paprika a nivel local hasta nacional, el presente trabajo tiene como objetivo aislar e identificar morfológicamente a *Fusarium oxysporum* a partir de raíces de ají paprika de las zonas productoras del distrito de Barranca, Perú.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Laboratorio de Estudios Genéticos y Biotecnológicos (LEGENBIO) perteneciente a la Escuela de Biología con mención en biotecnología, Facultad de Ciencia, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, en el distrito de Huacho, provincia de Huaura, Perú.

Material vegetal

Las muestras fueron colectadas aleatoriamente en los predios de Santa Elena y Vinto, Distrito de Barranca. Los aislamientos fueron obtenidos del material vegetal de paprika afectados, que presentaban síntomas característicos por *Fusarium* como marchitez, amarrillamiento y pudrición radicular, estas muestras fueron guardadas individualmente en bolsas estériles y etiquetadas para ser trasladadas al laboratorio para el estudio.

Aislamiento de hongos

Las raíces de ají paprika fueron lavadas hasta eliminar restos de tierra, luego se realizaron cortes longitudinales de aproximadamente 1 cm de longitud de la base del tallo y de la raíz. Posteriormente, se desinfectaron superficialmente con etanol al 70% durante 1 minuto, luego con Hipoclorito de Sodio al 2% por 3 minutos, después se hicieron 3 lavados en agua destilada estéril y finalmente colocados en papel filtro estéril para absorber los restos de agua presentes en las muestras. Se sembraron en placas Petri con medio Agar Papa Dextrosa (PDA) y se incubaron a 25° C por 7 días.

Aislamiento de cultivos puros

Los micelios de los hongos aislados con aspecto algodonoso blanquecino y de pigmentación difusible roja, rosa o violeta

son característicos del género *Fusarium* fueron aislados para su purificación en frascos con medio PDA para obtener cultivos puros de cada uno, incubándose a 25° C por 7 días. Posteriormente, se observaron al microscopio óptico los micelios aislados para confirmar la presencia de *Fusarium*.

Identificación morfológica

Los aislamientos puros obtenidos de *Fusarium* fueron transferidos a placas Petri con medio PDA para observar la pigmentación de la colonia y la velocidad de crecimiento; mientras que en medio Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) y Carnation Leafpiece Agar (CLA) para observar microconidias, macroconidias, y clamidosporas. Colocándose un disco del cultivo puro en el centro de cada placa Petri conteniendo el medio e incubándose a 27° C por 7 días.

Los resultados obtenidos se compararon de acuerdo con la clave de Nelson *et al.*, (1983) y el manual de laboratorio de Leslie & Summerell (2006).

Los cultivos realizados para identificación morfológica en medio PDA, SNA y CLA se realizaron por triplicado. Las velocidades medias de crecimiento de cada aislado se sometieron a un Análisis de Varianza (ANOVA) con el programa IBM SPSS Statistic 25 para Windows y la comparación entre las medias se realizó de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Los aislamientos puros de fueron mantenidos a frascos con medio PDA y conservados 4° C.

Resultados

Se obtuvieron 36 aislamientos de *Fusarium* spp. a partir de raíces de paprika, y se les colocó los códigos desde FS-1 hasta

FS-36. De los cuales solo 22 aislamientos *oxysporum*, representando el 61.11%. (Fig. 1) fueron identificados como *Fusarium* 1)

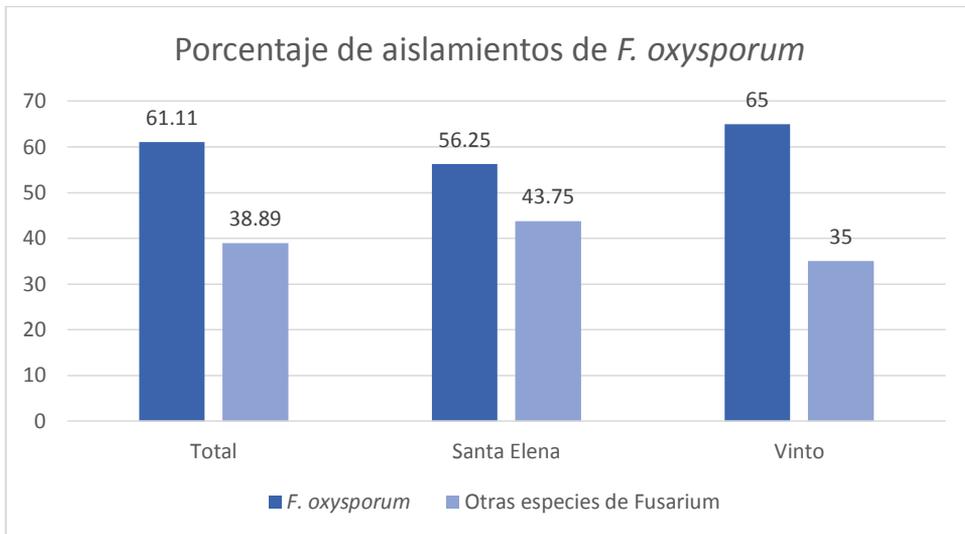


Fig. 1. Porcentaje de aislamientos de *F. oxysporum*, de Santa Elena y Vinto que forman parte de las zonas productoras de paprika del distrito de Barranca.

Los aislamientos que fueron cultivados en medio PDA presentaron micelio algodonoso y diferencias en la pigmentación tanto en la superficie como en el reverso. Siendo las pigmentaciones que se llegaron a apreciar blanquecino, amarillento, violeta y lila, pero en el transcurso de los días algunos variaron su pigmentación a rojo vino (Fig. 2). Mientras que en los medios SNL y CLA se logró apreciar clamidosporas, macroconidios y microconidios (Fig. 3)

En la Tabla 1 se observa que el aislamiento FO-21 presentó la mayor velocidad media de crecimiento con 12.78 mm/día, seguido por FO-3, FO-21, FO-28 y FO-35 con valores de 12.05, 12.78, 12.14 y 12.38 respectivamente, los cuales no presentaron diferencias significativas. También se observa la presencia y ausencia de clamidosporas (Fig. 4), además de la longitud y número de septos de los macroconidios (Fig. 5); de esta manera

se tiene que 64.86% de los aislamientos presentaron clamidosporas, mientras que el aislamiento FO-35 presentó mayor longitud de macroconidios de 23.48 - 36.96 μm con número de septos de 2 a 4 (Fig. 6).

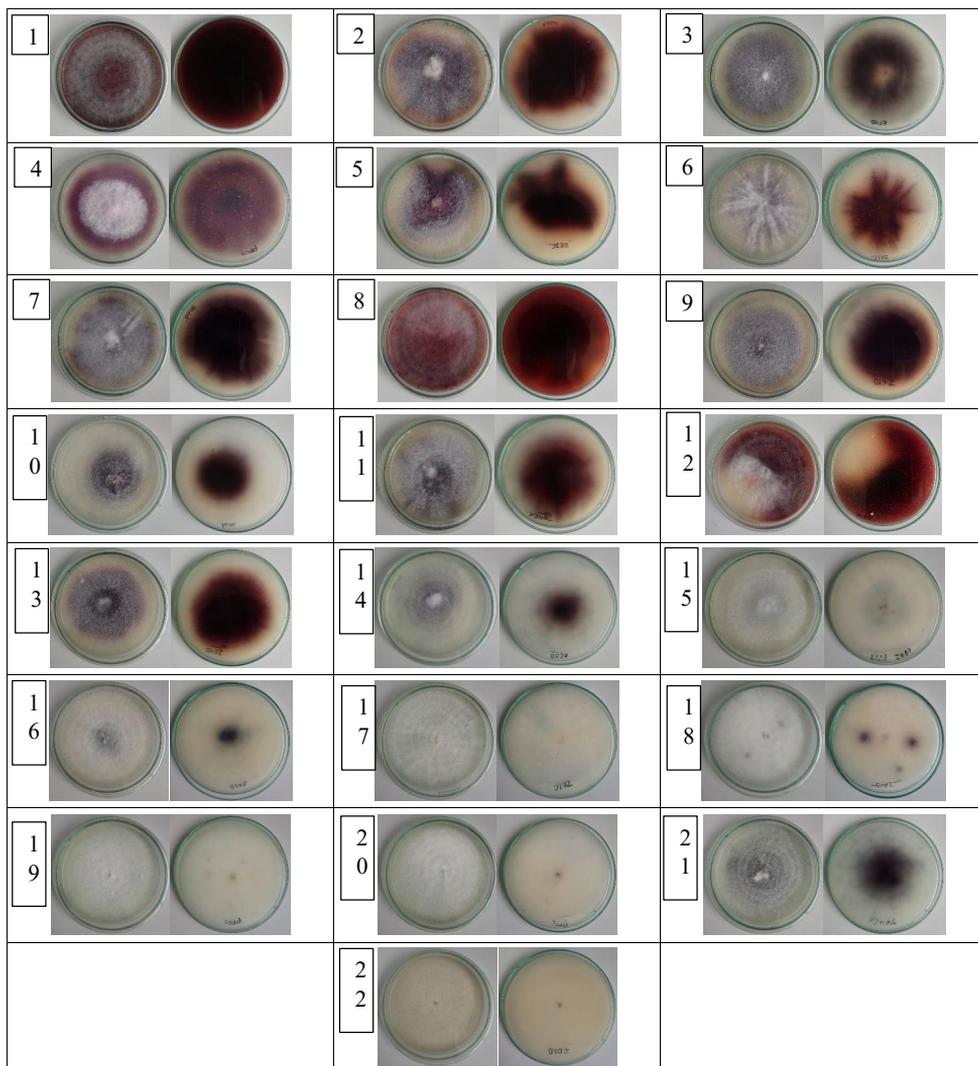


Fig. 2. Aislamientos de *F. oxysporum*, color de superficie (izquierda) y reverso (derecha) en medio de cultivo PDA.

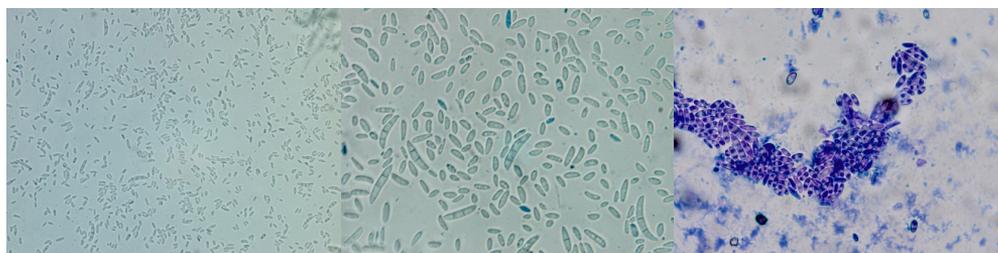


Fig. 3. Identificación morfológica de las macroconidios y microconidios de *F. oxysporum*.

Tabla 1. Características morfológicas de los aislamientos de *Fusarium oxysporum*.

N°	Código de aislamiento	Procede.	Velocidad media de crecimiento (mm/día)	Clamidosporas	Macroconidios	
					Longitud (µm)	Septos
1	FS-1	SE	6.54 a	Presencia	18.44 – 26.28	2 – 3
2	FS-2	SE	7.83 bc	Presencia	14.32 – 19.56	1 – 3
3	FS-3	SE	12.05 a	Ausencia	22.45 – 34.82	2 – 3
4	FS-5	SE	11.56 ab	Presencia	21.18 – 32.14	2
5	FS-16	SE	10.63 b	Presencia	12.81 – 21.93	1 – 3
6	FS-18	SE	10.32 a	Ausencia	13.21 – 20.34	2 – 3
7	FS-19	SE	11.24 a	Ausencia	15.29 – 26.16	2 – 3
8	FS-21	SE	12.78 bc	Presencia	21.14 – 32.65	3
9	FS-22	SE	10.43 ac	Presencia	14.28 – 26.76	1 – 3
10	FS-23	V	11.23 a	Ausencia	20.53 – 31.12	2
11	FS-24	V	10.28 ac	Ausencia	15.65 – 27.69	1 – 2
12	FS-25	V	10.47 a	Ausencia	14.23 – 26.18	1 – 3
13	FS-26	V	9.82 c	Presencia	12.87 – 19.22	1 – 2
14	FS-27	V	11.78 c	Presencia	16.27 – 27.85	2 – 3
15	FS-28	V	12.14 b	Presencia	23.44 – 35.18	2 – 4
16	FS-30	V	7.48 a	Presencia	10.52 – 17.94	2 – 3
17	FS-31	V	8.62 ab	Presencia	13.68 – 20.53	1 – 3
18	FS-32	V	10.21 a	Ausencia	16.93 – 25.47	2 – 4
19	FS-33	V	9.56 a	Presencia	13.84 – 22.44	1 – 3
20	FS-35	V	12.38 bc	Presencia	23.48 – 36.96	2 – 4
21	FS-36	V	11.65 a	Ausencia	16.28 – 26.22	3
22	FS-37	V	11.24 c	Ausencia	15.29 – 27.73	2 – 3

Procede. = Procedencia; ST = Santa Elena; V = Vinto. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

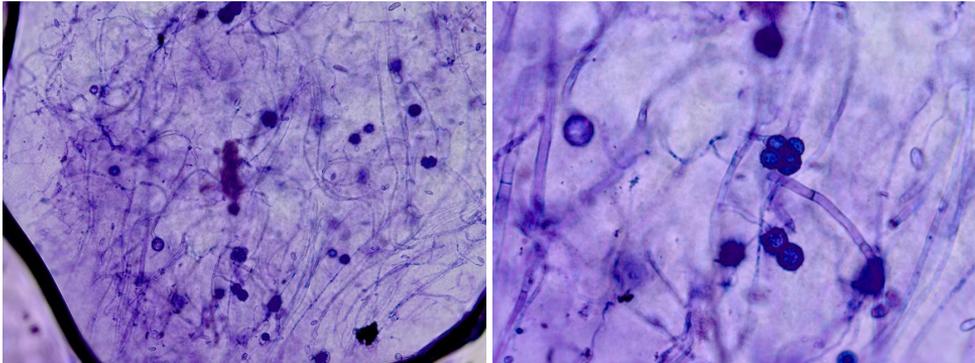


Fig. 4. Clamidosporas de los aislamientos de *F. oxysporum* en medio SNL.

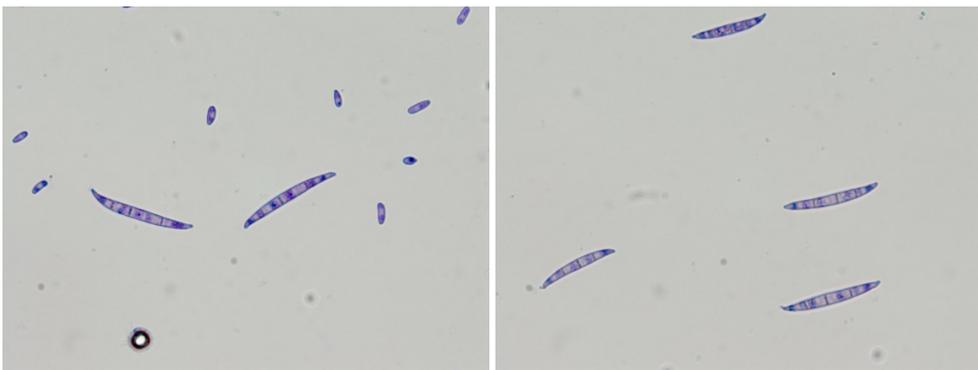


Fig.5. Identificación morfológica de macroconidios de *F. oxysporum*.



Fig. 6. Macroconidios de *F. oxysporum* del aislamiento FO-35 con 4 septos.

Discusión

La identificación morfológica a partir de las observaciones microscópicas permitió determinar la presencia a ausencia de los microconidios y clamidosporas, además de las mediciones y descripciones de los macroconidios, y de esta manera poder clasificar los aislamientos. Lográndose identificar a *F. oxysporum* por la presencia microconidios de forma ovaladas o elípticas con cabezas falsas de monofialides, mientras que los macroconidios presentaron longitudes dentro de los rangos reportados por Nelson *et al.* (1983), así como también se observó la célula basal en forma de pie y la presencia de tres septos en promedio. Las clamidosporas estuvieron presentes en la mayoría de los aislamientos que presentaron las características de *F. oxysporum*.

Los resultados obtenidos se comprobó que la enfermedad de la marchitez se encuentra asociada a *Fusarium spp*, de los cuales se identificó a *F. oxysporum*. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Clavijo (2014), quien concluyo que el género *Fusarium* está asociado con la marchitez y pudrición de la raíz y base del tallo en plantas de *Capsicum*.

El fitopatógeno *F. oxysporum* en el medio de cultivo PDA presento diversidad de pigmentación tal y como afirman las claves Nelson *et al.* (1983) y el manual de laboratorio de Leslie & Summerell (2006), quienes describen que *F. oxysporum* y *F. solani* producen pigmentación violeta en el medio de cultivo PDA. Además estos resultados también coinciden con Villanueva-Arce *et al.* (2013) que en medios de cultivos sintéticos como el PDA, especies como *F. oxysporum* y *F. solani* pueden presentar pigmentación

blanquecina, amarillenta, violeta, rojo carmín, rojo vino e incluso azul, y esta pigmentación se relaciona con la difusión en el medio de cultivo a partir del micelio y puede variar en el desarrollo del hongo.

Las velocidades medias de crecimiento guardar relación con los resultados obtenidos por Clavijo (2014), que aislamientos de *F. oxysporum* procedentes de plantas del genero *Capsicum* presentan rápido crecimiento, los cuales en medio PDA puede presentar velocidades de crecimiento de entre 12.83 - 12.33 mm/día. Esto se podría relacionar que los aislados del fitopatógeno al presentar una alta velocidad de crecimiento permiten una mayor y eficaz colonización de los suelos llegando a producirse pérdidas de hasta de todas las plantaciones cultivadas como se evidencio en la zonas de muestreo.

En conclusión se logró el aislamiento e identificar morfológicamente de 22 aislamientos de *F. oxysporum* a partir de raíces de ají paprika de las zonas productoras del distrito de Barranca, representando el 61.11% de los aislamientos que presentaron características del genero *Fusarium*, los cuales están relacionados con la marchitamiento y muerte de estos cultivos, lo que conlleva a grandes pérdidas económicas.

Agradecimientos:

Deseamos expresar nuestro sincero agradecimiento a la Sra. Lay Amacifuen Vda. De Iwahana y a la Lic. Kikuko Lay Iwahana Amacifuen por permitir el acceso a los terrenos de cultivo de ají paprika en las zonas de Santa Elena y Vinto, y también agradecer al Ing. Abdón Andrés Macedo Amasifuen en la colaboración de la colecta del material vegetal.

Contribución de los autores

A.D.H.A.: Concepción, recolección de información, análisis, interpretación de los resultados obtenidos y redacción del artículo. A.J.P.L.: Recolección de datos, análisis e interpretación de los resultados obtenidos. H.W.N.C.: Concepción, revisión crítica del texto y aprobación de la revisión final. Todos los autores han leído el manuscrito final y aprobado la revisión.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Literatura citada

- ADEX (Asociación de Exportadores del Perú).** 2016. *Exportación de ajíes y pimientos de Barranca alcanzo US\$ 7.5 millones*. Obtenido de Asociación de Exportadores del Perú del 16 de Marzo del 2019. Recuperado de: <http://agraria.pe/noticias/exportacion-de-ajies-de-barranca-alcanzo-los-11115>
- Arias, R.** 2015. Identificación, incidencia y ocurrencia poblacional de enfermedades encontradas en dos variedades de pimiento (*Capsicum annum* L.) para agroexportación en la irrigación de Santa Rita de Sigüas durante los meses de octubre 2008 a mayo 2009. Tesis de pregrado. *Universidad Nacional de San Agustín*. Perú
- Clavijo, S.** 2014. Búsqueda de resistencia a la pudrición causada por *Fusarium* spp. en *Capsicum*. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/47659/>
- Fourie, G.; E.T. Steenkamp; R.C. Ploetz; T. R. Gordon & A. Viljoen.** 2011. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis cubense within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection Genetics and Evolution* 11: 533-542
- González, M. M.; I. Torres & H. Guzmán.** 2002. Patógenos involucrados en la marchitez del chile. Proceedings of the 16th International Pepper Conference, Tampico, Tamaulipas, México, 10-12 November, 2002. pp. 1-3 (Abstract)
- Leslie, J.F. & B.A. Summerell.** 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. 388p.
- Lugo, Z. & N. Sanabria.** 2001. Características culturales y patogénicas en aislamientos de *Fusarium oxysporum* F. sp. lycopersici procedentes de plantaciones comerciales de tomate. *Agronomía Tropical*, 51(4), 519 - 530.
- Maroto J.** 1986. *Horticultura herbácea Especial* (Segunda ed.). Madrid, España: Ediciones Mundiprensa.
- Miller, S.A.; R.C. Rowe & R.M. Riedel.** 1996. "*Fusarium and Verticillium Wilts of Tomato, Potato, Pepper, and Eggplant*". Extension Fact Sheet. The Ohio State University. HYG-3122-96. 3p.
- Moretti, A.** 2009. Taxonomy of *Fusarium* Genus, A Continuous Fight Between Lumpers And Splitters. Institute of Sciences of Food Production, ISPA-CNR. Proc. Nat. Sci. Matica Srpska Novi Sad, N° 117, 7-13, 2009.
- Nelson, P.E.; T.A. Toussoun & W.F.O. Marasas.** 1983. *Fusarium Species. An Illustrated Manual for Identification*. The Pennsylvania State University. 266p.
- Villanueva-Arce, R., C.A. Aguilar-Pompa; Y.M. Gómez; G. Valencia-Del Toro; A.B. Piña-Guzmán & S. Bautista-Baños.** 2013. Control de bacterias patógenas y hongos de postcosecha con extractos del pigmento de *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*). *Agrociencia*: 47(7):691-705.