



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

“Búsqueda de resistencia a la pudrición causada por *Fusarium spp.* en *Capsicum*”

SHARON DAVEY CLAVIJO CASTRO

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad De Ciencias Agropecuarias, Coordinación General De Postgrados
Sede Palmira
2014**

“Búsqueda de resistencia a la pudrición causada por *Fusarium* spp. en *Capsicum*”

SHARON DAVEY CLAVIJO CASTRO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:
Magíster en Ciencias Agrarias

Director:

Ph. D. CARLOS GERMÁN MUÑOZ PEREA

Codirector:

Ph. D. EYDER DANIEL GÓMEZ LÓPEZ

Línea de Investigación:

Protección de Cultivos

Universidad Nacional De Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias, Coordinación General de Postgrados
Palmira, Colombia

2014

(Dedicatoria o lema)

A Dios, por todas las bendiciones al iluminar y guiar mi camino, por darme la sabiduría, fortaleza y paciencia para luchar, seguir adelante y vencer los obstáculos que se presentaron y así poder alcanzar mis metas y sobre todo por darme el regalo más maravilloso...mi hija.

A mi hija Elaine Mariette, por ser mi mayor motivo, mi razón, mi inspiración y fortaleza, la cual llena de alegría mi vida con su alegría y travesuras y me da las fuerzas necesarias para seguir luchando y lograr mis metas.

A mis padres por su esfuerzo, apoyo, enseñanzas e interminable paciencia.

A mis familiares y amigos por el amor, cariño y compañía que me han brindado siempre.

Agradecimientos

Por medio de estas líneas expreso un gran agradecimiento a la Universidad Nacional de Colombia por darme la oportunidad de estudiar y ser una profesional.

Especial agradecimiento al profesor Carlos Alberto Huertas Davey por el interés mostrado, apoyo dado y sugerencias recibidas durante mis estudios y principalmente por sus consejos y enseñarme que lo que me proponga lo puedo lograr.

Le agradezco la confianza y apoyo de mis directores de Tesis, los Profesores Eyder Daniel Gómez y Carlos German Muñoz.

Gracias también a mis compañeros, que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida brindándome su amistad, por todo este tiempo. Francisco Vélez, Andrés Felipe Vergara, Alexandra García, gracias por aguantarme y por escucharme.

Resumen

En el Valle del Cauca la producción de ají y pimentón está siendo afectada por patógenos del suelo principalmente *Phytophthora capsici* Leonian y *Fusarium* spp. Hasta el momento no se conocen estudios en el Valle del Cauca sobre la caracterización de las especies de *Fusarium* afectando estos cultivos y no se tienen variedades de ají y pimentón con resistencia a este patógeno. Este trabajo tuvo como objetivos fundamentales identificar fuentes de resistencia de pimentón y ají al ataque de *Fusarium* spp. y caracterizar aislamientos de *Fusarium* spp. afectando plantas de pimentón y ají. Se visitaron las regiones productoras de ají y pimentón en el Valle del Cauca tales como Daríen, Dagua, Yotoco, La Unión, Toro, Roldadillo, Bolívar, Yumbo, El Cerrito y Palmira. Se colectaron plantas con síntomas característicos a los causados por el patógeno y se obtuvieron 70 aislamientos de *Fusarium* spp. La purificación e identificación de los aislamientos de *Fusarium* spp. se hizo en medios de cultivo PDA, SNA y CLA en los Laboratorios de Microbiología Vegetal y Fitopatología de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Las pruebas de patogenicidad se realizaron en invernadero. Se realizó un primer ensayo para seleccionar el mejor método de inoculación. Plantas de la variedad de ají "Cayenne", susceptibles a *Fusarium* spp., fueron sembradas en turba contenidas en vasos plásticos. Trece (13) tratamientos fueron aplicados a la planta. Los tratamientos consistieron de la combinación factorial de tres métodos de inoculación (Los aislamientos de *Fusarium* inoculados a la raíz; inoculados al suelo del pote; e inoculación insertando en la planta un palillo de dientes impregnado con micelio del aislamiento) y cuatro aislamientos de *Fusarium* spp. más un control sin inoculación. Los tratamientos fueron arreglados en un diseño de bloques completos al azar. Cada tratamiento tenía una unidad experimental de 8 plantas y tres repeticiones. El método de raíz fue el más efectivo y se usó para evaluar la patogenicidad de los 70 aislamientos. Se encontraron 21 aislamientos patogénicos los cuales se utilizaron para evaluar las líneas de ají y pimentón que han sido mejoradas para la resistencia a *Phytophthora capsici* Leonian y el germoplasma de *Capsicum* spp. de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira,

donde las líneas 12-13, 7-17 y CAY45 presentaron resistencia a la pudrición causada por *Fusarium*.

Abstract

In the Cauca Valley, chili and peppers yields, are affected mainly by soil pathogens such as *Phytophthora capsici* Leonian and *Fusarium* spp. There are not studies in the Cauca Valley on characterization of *Fusarium* species affecting these crops. This study aimed to find identify sources of pepper and chili resistance to *Fusarium* spp., especially *F. oxysporum* and *F. solani* species reported to cause stem rot of *Capsicum* spp. We visited the regions where pepper and chili are grown in the Cauca Valley such as Darien, Dagua, Yotoco, The Union, Toro, Roldadillo, Bolivar, Yumbo, Cerrito and Palmira. We collected plants with characteristic symptoms to those caused by the pathogen and it were obtained 70 isolates of *Fusarium* spp. Purification and identification of isolates of *Fusarium* spp. were made in PDA, SNA and CLA culture media in the Laboratories of Microbiology and Phytopathology at National University of Colombia, Palmira Campus. Pathogenicity tests were conducted under greenhouse conditions in different experiments. A firts trial to select the best inoculation method was made. Thirteen treatments and three replicates per treatment were arranged in a randomized complete block design. The treatments consisted in the combination of three methods of inoculation (*Fusarium* isolate inoculated directly to plant roots; pathogen infested in the pot soil; and inserting in the plant a wood stick with pathogen´s mycelia) and 4 isolates plus a control without inoculation, then it was proceeded to evaluate the other isolates by the method of inoculation to the root, as well as being a simple method expressed the disease quickly, using a design of a randomized complete block. Of the isolates that were selected for pathogenicity are used to search for sources of resistance that can be used in plant breeding programs, this is done by evaluating lines have been improved *Phytophthora capsici* Leonian and germplasm from Bank of Germplasm of the National University of Colombia at Palmira, where lines 12-13, 7-17 and CAY45 were resistant to rot caused by *Fusarium*.

Contenido

	Pág.
Resumen.....	VII
Lista de figuras.....	XI
Lista de tablas.....	XIII
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XIV
Introducción.....	1
1. Capítulo 1: Revisión de Literatura.....	3
1.1 El Genero <i>Fusarium</i>	3
1.1.1 Taxonomía de <i>Fusarium</i>	4
1.1.2 <i>Fusarium</i> en ají y pimentón.	5
1.1.3 Importancia.	6
1.1.4 Limitantes del cultivo de ají y pimentón en Colombia.....	7
1.1.5 Distribución geográfica de <i>Fusarium</i> spp.....	7
1.1.6 Sintomatología.....	7
1.1.7 Resistencia de <i>Capsicum</i> a <i>Fusarium</i>	8
1.2 Identificación.....	11
1.2.1 Identificación morfológica.....	11
1.2.2 Identificación molecular.....	13
2. Capítulo 2: Objetivos.....	15
2.1 Objetivo general:.....	15
2.2 Objetivos específicos:.....	15
3. Capítulo 3: Metodología.....	17
3.1 Colectas.....	17
3.2 Aislamientos.....	18
3.3 Cultivos Monospóricos.	18
3.4 Conservación.....	18
3.5 Pruebas de Patogenicidad.	19
3.5.1 Preparación del inculo.	19
3.5.2 Preparación del suelo.....	20
3.5.3 Ensayos Preliminares.....	20
3.5.4 Confirmación de los aislamientos patogénicos.....	22
3.6 Evaluación de la enfermedad.....	23
3.6.1 Análisis estadísticos de los ensayos de patogenicidad.....	23
3.7 Búsqueda de germoplasma resistente.....	23

3.7.1	Selección de germoplasma resistente.....	24
3.7.2	Análisis estadístico de los datos.	24
3.8	Identificación.....	24
3.8.1	Identificación morfológica.....	25
4.	Resultados y Discusión.....	27
4.1	Aislamientos.....	27
4.2	Ensayos Preliminares.....	27
4.2.1	Primer ensayo.....	27
4.2.2	Segundo ensayo.....	29
4.3	Pruebas de Patogenicidad.....	31
4.4	Evaluación de la Enfermedad.....	33
4.5	Evaluación del Germoplasma Resistente a la Pudrición Causada por <i>Fusarium</i> spp.....	35
4.5.1	Selección del Germoplasma Resistente.....	35
4.6	Identificación.....	39
4.6.1	Identificación morfológica.....	39
5.	Conclusiones y recomendaciones.....	55
5.1	Conclusiones.....	55
5.2	Recomendaciones.....	56
A.	Anexo: Lista de aislamientos.....	57
B.	Anexo: Porcentaje de Incidencia y Severidad de Cayenne y California Wonder.....	61
	Bibliografía.....	65

Lista de figuras

Figura 1. Síntomas Observados en los Diferentes Cultivos en el Valle del Cauca..	17
Figura 2. Preparación de la Solución de Esporas.....	19
Figura 3. Inoculación con Puntas de Palillo de Madera.....	20
Figura 4. Inmersión de las Raíces en la Concentración del Inoculo.	21
Figura 5. Pequeño corte a los ápices de las raíces.	22
Figura 6. Pruebas de Patogenicidad.	22
Figura 7. Crecimiento de los aislamientos en medios de Cultivo	26
Figura 8. Síntomas de Necrosamiento en Hojas en Inoculación Directa a la Raíz en el Tratamiento FSM-25.	28
Figura 9. Síntomas de Marchitez causados por el aislamiento FSM-51.	32
Figura 10. Síntomas y Signos observados durante los ensayos.....	33
Figura 11. Re-aislamiento del Patógeno	33
Figura 12. Acciones Resistentes al Aislamiento FSM-58..	36
Figura 13. Acciones inoculadas con el aislamiento	38
Figura 14. Aspecto de las Colonias.....	40
Figura 15. Índice de Crecimiento Micelial en colonias de <i>Fusarium</i> spp.	40
Figura 16. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-1.l.	42
Figura 17. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-2. A - D. Microconidos, Mesoconidias y Marcoconidias. E – F. Célula agrandada.	43
Figura 18. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-6.....	43
Figura 19. . Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-9.....	43
Figura 20. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-11.....	44
Figura 21. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-12.....	44
Figura 22. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-18.....	44
Figura 23. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-25.....	45
Figura 24. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-26.....	45
Figura 25. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-27.....	46
Figura 26. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-41.....	46
Figura 27. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-52.....	47
Figura 28. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-53.....	47
Figura 29. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-54.....	48
Figura 30. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-55.....	48
Figura 31. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-58.....	48
Figura 32. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-64.....	48
Figura 33. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-65.....	48
Figura 34. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-66.....	49

Figura 35. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-70.....	49
--	----

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Especies registradas de <i>Capsicum</i>	6
Tabla 2. Escala para evaluación de severidad. (Modificado de Elmer <i>et al.</i> , 2004).	23
Tabla 3. Porcentaje de Incidencia y Severidad con Inoculación a la Raíz Con Corte (CC) y Sin Corte (SC) en Plantas de Cayenne.....	30
Tabla 4. Aislamientos que causaron un porcentaje de Incidencia y Severidad por encima del 50%.	34
Tabla 5. Porcentaje de Incidencia y Severidad en 38 Acciones de <i>Capsicum</i>	37
Tabla 6. . Índice de Crecimiento Micelial Promedio de los Aislamientos seleccionados como patogénicos de <i>Fusarium</i> spp.	40
Tabla 7. Presencia o Ausencia de Clamidosporas de los Aislamientos.	41
Tabla 8. Características Morfológicas de los aislamientos Patogénicos de <i>Fusarium</i> spp.	51

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
ADN	Ácido desoxirribonucleico
C.	<i>Capsicum</i>
CLA	Carnation Leaf Agar
F.	<i>Fusarium</i>
f.sp	<i>Formae specialis</i>
ITS	<i>Region espaciadora intergenerica</i>
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer Region</i>
Kg	Kilogramos
Mg	Miligramo
mL	Mililitro
NaCl	Hipoclorito de sodio
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCR	<i>Reacción en Cadena Polimerasa</i>
PDA	<i>Papa Dextrosa Agar</i>
SNA	<i>Spezieller Nährstoffarmer Agar</i>
sp.	<i>Especie</i>
spp.	<i>Especies</i>
μL	Microlitro
μm	Micrometro

Introducción

El género *Fusarium* fue descrito por Link en 1809 (Leslie and Summerell, 2006), el cual tiene una gama amplia de especies, y además se han identificado más de 120 *formae specialis*, basados en la especificidad del huésped, y cultivar que colonizan (Michielse y Rep, 2009). Se caracteriza por la producción de conidias en forma de canoa, hialinos y septados conocidos como macroconidias y algunas especies las producen en cuerpos fructíferos conocidos como esporodoquios. Otras especies pueden producir diferentes tipos de esporas conocidas como microconidias, mesoconidias e igualmente producen estructuras de resistencia conocidas como clamidiosporas, las cuales pueden sobrevivir en condiciones adversas por varios años (Agrios, 2005).

Fusarium es un hongo cosmopolita, habitante del suelo, adquiere su alimento como saprofito facultativo. Cuando se presentan las condiciones climáticas ideales se puede comportar como patógeno de plantas, causando diferentes enfermedades en la raíz, tallo, hojas o frutos, afectando un amplio rango de especies vegetales. Muchas de estas plantas son de importancia económica entre los que se encuentran los géneros de la familia Solanáceae, entre las cuales se incluye el tomate, papa, berenjena, pimentón y ají (Miller *et al.*, 1996).

En ají y pimentón, *Fusarium* es considerado un patógeno de importancia económica. Además varias especies pueden infectar estos cultivos causándoles marchitamiento de hojas, pudrición de raíz y/o marchitamiento del fruto (Oelke y Bosland, 2001); además, la enfermedad puede ser confundida con otros patógenos, como es el caso de la pudrición de la raíz causada por *Phytophthora capsici*. (Oelke y Bosland, 2001).

El control de la enfermedad causada por *Fusarium* en *Capsicum* se concentra en la utilización excesiva de agroquímicos, método que es agresivo para el medio ambiente, que trae como consecuencia la alteración del equilibrio biológico al afectar negativamente los organismos benéficos del suelo con un incremento en los costos de producción

(SIPSA, 2011). Por otro lado, el uso excesivo de agroquímicos tales como el tebuconazol (D'Mello *et al.*, 1998, Citados por: Ramírez *et al.*, 2004), incrementa la producción de micotoxinas como el 3-Acetyl deoxynivalenol, finalmente se induce la resistencia genética del patógeno (Ma y Michailides, 2005; Suga *et al.*, 2011). La búsqueda de fuentes de resistencia es una alternativa favorable para el control de enfermedades, la cual es más amigable con el ambiente, disminuyendo la posibilidad de desarrollar resistencia en los patógenos y baja los costos de producción al reducir el uso de agroquímicos.

Una de las enfermedades limitantes de la producción de ají y pimentón en el Valle del Cauca es la pudrición de raíz y tallo causada por especies del género *Fusarium*. Esta enfermedad se caracteriza por un severo marchitamiento de las plantas, colapso de la planta, disminución o desintegración del sistema vascular y finalmente muerte de la planta. En Colombia no hay reportes confiables sobre cual especie está afectando principalmente la pudrición de ají y pimentón, sumando a la dificultad que hemos observado entre los agricultores para diferenciar daños causados por *Fusarium spp.* a los daños causados por *Phytophthora capsici*. Sin embargo en el 2008, dentro del proyecto de la Universidad Nacional de "Búsqueda de Resistencia a *Phytophthora capsici* en *Capsicum*" se colectaron 70 aislamientos de *Fusarium* afectando plantas de ají o pimentón en zonas productoras de Yumbo, Dagua, Darién, Vijes y La Unión.

1. Capítulo 1: Revisión de Literatura

1.1 El Género *Fusarium*

El género *Fusarium* comprende un amplio grupo de especies, con una distribución geográfica amplia, afectando un amplio rango de hospederos incluyendo humanos, animales y plantas, o puede encontrarse como saprofito en el suelo. Este grupo de microorganismos presentan diferentes estrategias de infección en distintas partes y estados fenológicos de la planta (Moretti, 2009; Summerell, *et al.*, 2003), como son las raíces, tallo, hojas, flores y fruto. Su fácil diseminación dificulta el control de este hongo, pues puede dispersarse por el viento, agua, en residuos de cosecha, frutos y semillas contaminadas (Summerell, *et al.*, 2003).

Algunas especies de *Fusarium* causan daños en muchas plantas como son la pudrición del cuello y raíz, marchitamiento, amarillamiento, muerte descendente, debido a que el hongo cuando penetra a la planta obstruye los vasos del xilema e impide la entrada de nutrientes a la planta, además, produce un grupo de enzimas que degradan la pared celular de la planta facilitándole el proceso de infección (Summerell, *et al.*, 2003). 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 microorganismos sea más competitivo (Moretti, 2009).

Una de las razones por la cual el género *Fusarium* presenta una capacidad de adaptación en respuesta a nuevos ambientes, la interacción con diversos organismos y los entornos cambiantes, es su gran diversidad genética (Fourie *et al.*, 2011).

1.1.1 Taxonomía de *Fusarium*.

La taxonomía de *Fusarium* es compleja debido a las variaciones morfológicas y fisiológicas que difieren grandemente de una especie a otra, además de su huésped (Oelke *et al.*, 2001; Summerell *et al.*, 2003). Se han propuesto muchos sistemas de clasificación durante muchos años, la primera descripción la hizo Link con la forma de conidia como caracteres primarios. Wollenweber y Reinking (1935), desarrollan un sistema de clasificación basado en 16 secciones, 65 especies y 77 variedades y formas subespecíficas, en la cual cada sección con sus especies fueron agrupadas por criterios morfológicos. Posteriormente Snyder y Hansen entre 1940 y 1950, reducen este número de especies a 9 géneros basándose en la morfología y crearon las *forma specialis* basados en la patogenicidad de los aislamientos o cepas. Booth (1971) en su publicación "The Genus *Fusarium*", incluyó claves a las secciones y especies de la clasificación propuesta por Wollenweber y Reinking (1935), introduciendo el uso de la morfología de las células conidiogénicas, especialmente las que producen microconidias. Para 1975 Booth publica una especie de monografía donde menciona la clasificación y los problemas de la correcta aplicación del nombre y la asignación de aislamientos a especies, variedad o *forma specialis*, llamado "The Present Status of *Fusarium* Taxonomy" (Oelke *et al.*, 2001; Leslie *et al.*, 2006; Booth, 1975).

Nelson *et al.*, (1983), en su publicación "*Fusarium* Species. An Illustrated Manual for Identification", indicó que la producción de micotoxinas por algunas hongos, contribuye a la identificación de especies de *Fusarium*. Para el año 2003, Summerell, Salleh y Leslie en su publicación "A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification", hacen una revisión de las especies de *Fusarium* enfocándose a su efecto en la planta. Posteriormente, Leslie y Summerell publican "The *Fusarium* Laboratory Manual" en el cual describe 70 especies, donde incluye taxonomía, identificación y técnicas y métodos utilizados para su descripción.

Actualmente el género *Fusarium* pertenece al Phylum *Ascomycota*, Clase *Sordariomycetes*, orden *Hypocerales*, Familia *Nectriaceae*. (Michielse y Martijn; 2009). Los telomorfos de las especies de *Fusarium* son principalmente clasificados en el género *Gibberella* y unas pocas especies en los géneros *Hemanectria* y *Albonectria*. (Moretti y Susca, 2010).

El género *Fusarium* se caracteriza por la producción de tres tipos de esporas, llamados conidias los cuales pueden ser macroconidas, microconidias y mesoconidias, llegándose a encontrar en una especie la formación de los tres tipos de conidias o solo uno y además también por la producción de otro tipo de espora o estructura de resistencia llamadas clamidosporas, las cuales pueden sobrevivir en condiciones completamente adversas por muchos años. Las macroconidas pueden producirse en monofialides o polifialides en el micelio aéreo o también pueden producirse en masas de monofialides en unas estructuras especializadas llamados esporodoquios (Leslie y Summerell, 2006). El crecimiento micelial es abundante y su coloración es muy variable, entre los que podemos encontrar blanco, rosado, púrpura o violeta intenso como es el caso de especies de *Fusarium oxysporum*.

Los macroconidias es uno de las principales estructuras para la identificación morfológica de *Fusarium*, en la cual se toma la medida en longitud (ancho y largo), el número de septos y diferencias en las terminaciones basales y apicales. (Leslie y Summerell, 2006; Nelson *et al.*, 1994).

1.1.2 *Fusarium* en ají y pimentón.

En el cultivo de ají y pimentón *Fusarium* penetra a la planta por el cuello y/o raíz invadiendo y obstruyendo el xilema, evitando así la absorción de nutrientes por la planta, lo cual causa deficiencia en la misma hasta llevarla posteriormente a su muerte (Michielse y Rep; 2009).

Afectando cultivos de ají y pimentón, *Fusarium* ha sido registrado en diversos países productores de ají y pimentón. El primero en reportar la enfermedad fue en Nuevo México en el año 1908 (Sherf y Mac Nab, 1986; García *et al.*, 1971 Citado por: Rivera, 2009; Velásquez-Valle *et al.*, 2001; González *et al.*, 2002); encontrándose también otros importantes países productores como son China (Yang *et al.*, 2009), India (Sharfun-Nahar *et al.*, 2004; Singh and Singh, 2004. Citado por: Sundaramoorthy *et al.*, 2011), Egipto, Estados Unidos, Australia, Pakistán, Turquía, Perú, Canadá (Yang *et al.* 2011; Jarvis, 1994. Citado por: Smudja, 1999; Utkhede and Mathur, 2003), Corea (Cha *et al.*, 2007; Choi *et al.*, 2011), Tailandia (Chaiyawat *et al.*, 2008), Trinidad (Ramdrial y Rampersad, 2010; Rampersad y Teelucksingh, 2011), Venezuela (Escalona *etal.*, 2006),

Argentina (González *et al.*, 2002), Serbia, Hungría, Netherlands, Iglaterra (Lukacs y Szarka, 1988; Anonymous, 1989; Fletcher, 1994. Citado por: Smudja, 1999) entre otros.

En varios de estos países la pudrición del cuello de la raíz en ají y pimentón causada por *Fusarium* es uno de las principales limitantes del cultivo, llegando a ocasionar pérdidas por encima del 50% u ocasionando la pérdida completa del cultivo cuando las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad (Singh and Singh, 2004; Madhavi *et al.*, 2006 Citado por: Sundaramoorthy *et al.*, 2011; Santos, 2010; Velásquez *et al.*, 2004).

Entre las especies registradas de *Capsicum* encontramos:

Tabla 1. Especies de *Fusarium* registradas en *Capsicum*.

ESPECIE	PAISES	BIBLIOGRAFIA
<i>F. oxysporum f. sp. Vasinfectum</i>	México, Suroeste de Estados Unidos, Sur América y Europa	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996, Sherfy Mac Nab, 1986
<i>F. oxysporum f. sp. capsici</i> Bl. and Riv	Estados Unidos, México	Rivelli, 1989 Citado por: Oelke y Bosland, 2001; Velásquez, 2001
<i>F. oxysporumf. sp. radicylycopersici</i>	México	Apocada <i>et al.</i> , 2004
<i>Fusarium oxysporum</i>	Israel, Pakistán, México, Provincia de Almería (España)	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996; Mushtaq y Hashmi, 1997; Vásquez <i>et al.</i> , 2009; Pérez <i>et al.</i> , 2014
<i>Fusarium solani</i>	Israel, Canadá, Pakistán, Italia, México, EEUU, Nigeria, Taiwán Provincia de China.	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996; Yang <i>et al.</i> ; 2009; Mushtaq y Hashmi, 1997; Tosi <i>et al.</i> , 2000; Rivera, 2009; Santos, 2010; Agarwal <i>et al.</i> , 2007
<i>F. equiseti</i> Corda	Israel	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996
<i>F. semitectum</i> Berk	Israel	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996
<i>F. javanicum</i> Koord	Israel	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996
<i>F. culmorum</i> (W. G. Smith)	Israel	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996
<i>F. avenaceum</i> (Fr) Sacc	Israel	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996
<i>F. moniliforme</i> (Sheldon) Snyd	Israel, Pakistán	Oelke y Bosland, 2001; Miller, <i>et al.</i> , 1996
<i>Fusarium lactis</i>	Bélgica y Alberta, (Canadá)	Van Pouckeet <i>et al.</i> , 2011; Yang <i>et al.</i> ; 2009; Mushtaq y Hashmi, 1997
<i>Fusarium subglutinans</i>	Canadá	Utkhede y Mathur (2003)
<i>F. pallidoroseum</i> (Cooke) Sacco	India	Nayeema <i>et al.</i> , 1996
<i>Fusarium anthophilum</i>	Pakistán	Mushtaq y Hashmi, 1997
<i>F. proliferatum</i>	Pakistán	Mushtaq y Hashmi, 1997
<i>F. lateritium</i>	México	Vásquez <i>et al.</i> , 2004; Vásquez <i>et al.</i> , 2009
<i>F. concentricum</i>	China	Wang <i>et al.</i> , 2013

1.1.3 Importancia.

Se ha encontrado que el género *Fusarium*, causa serias pérdidas en muchos cultivos de importancia económica entre los cuales se encuentran los cereales, vegetales y

ornamentales. Algunos de estos cultivos de gran importancia tenemos el algodón, banano, café, caña de azúcar y en muchas solanáceas como tomate, tabaco, papa, berenjena, ají y pimentón. (Agris, 2005; Miller *et al.*, 2008; Oelke *et al.*, 2001).

1.1.4 Limitantes del cultivo de ají y pimentón en Colombia.

El pimentón como toda hortaliza presenta una serie de problemas relacionados con el ataque de plagas, susceptibilidad a enfermedades y condiciones climáticas adversas al cultivo (Casanova, 1995). En Colombia se han registrado 15 organismos patógenos que causan enfermedades en cultivos de pimentón, esta situación se ha dificultado debido a que al ser Solanáceas comparte enfermedades con tomate, al se han registrado 48 organismos patógenos en Colombia (Tamayo, 2001), razón por la cual son susceptibles en menor o mayor grado a estos patógenos, representados en bacterias, hongos, virus y nematodos que reducen la productividad y la calidad del producto en la cosecha y almacenamiento (Jaramillo, 2001).

1.1.5 Distribución geográfica de *Fusarium* spp.

Fusarium es un hongo cosmopolita, el cual lo encontramos en climas muy diversos, además, debido a que cuenta con un gran pool genético, puede adaptarse rápidamente a cambios en el ambiente. Cuando hablamos de *Fusarium* como patógeno de plantas, podemos decir que es un microorganismo bastante complejo, ya que puede variar entre especies o dentro de la misma especie, una especie específica la podemos encontrar afectando diversas especies de plantas o también puede especializarse en un cultivo o especie específica. Debido a la gran variabilidad y plasticidad de este género, lo podemos encontrar en todo el mundo, en condiciones tan adversas para algunos microorganismos y que este puede sobrevivir.

1.1.6 Sintomatología.

En *Capsicum*, el patógeno penetra a la planta por la raíz o la base del tallo, coloniza a la planta con sus hifas y conidias a través de los vasos del xilema, causando la obstrucción de estos, afectando la toma de nutrientes y el agua lo que causa deficiencias lo cual se puede ver reflejado en un marchitamiento progresivo del follaje y pérdida de turgencia de las mismas, pudrición del cuello y de raíces, en la base del tallo se puede ver una

coloración rosa al inicio del daño, posteriormente esta se torna marrón y presentarse una depresión hasta ocasionar la muerte, en casos menos severos la planta puede presentar enanismo. (Oelke y Bosland, 2001; Miller *et al*; oct. 2008; Michielse y Rep; 2009). Los síntomas de *Fusarium* pueden confundirse fácilmente con otros patógenos de raíz debido a que afectan un mismo órgano que es fundamental para el buen desarrollo de la planta. (Oelke y Bosland; 2001)

1.1.7 Resistencia de *Capsicum* a *Fusarium*

Son pocos los registros sobre búsqueda de fuentes de resistencia en *Capsicum* a *Fusarium* a nivel mundial. En Colombia no hay registros de resistencia a *Fusarium*.

Los estudios de búsqueda de fuentes de resistencia se han desarrollado desde ya varios años; en Cuba en 1987 Camino *et al.*, con el fin de estudiar el origen de algunos síntomas de la enfermedad causada por *Fusarium* y la búsqueda de variedades de *Capsicum annum* L. susceptibles a este patógeno, evaluó 19 variedades y dos aislados de *Fusarium* (*F. solani* y *F. oxysporum* pv *lycopersici*) en condiciones semi-controladas, identificando las variedades “Keystone Resistant Giant”, “Mild Calofornia Wonder” y “Export” como susceptibles a *F. solani* mientras que “Bell Boy”, “Citrina”, “Chay”, “New Ace”, “Regalo de Moldavia”, “True Hear” y “Vesna” como susceptibles a *F. oxysporum* pv *lycopersici* y una variedad “Hungaria Sweet Wax” fue susceptible a ambos patógenos.

Las evaluaciones de resistencia a la pudrición causada por *Fusarium* en *Capsicum* han sido principalmente estudiadas en México; Velásquez *et al.*, 2003 evaluaron 6 líneas avanzadas de *Capsicum annum* L. (LEMZ-7, LEMZ-8, LEMZ-10, LEAZ-6, LEAZ-8 Y LEAZ-10) a *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., así como a enfermedades de tipo viral, donde todas las líneas mostraron ser susceptibles a *Fusarium* spp. Apocada *et al.*, (2004a), evaluaron dos cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (For1-1 y For1-2) las cuales habían sido aisladas de plantas de tomate, en 20 cultivos diferentes entre el que se encontraban 5 cultivares diferentes de *C. annum* L. (Combat-3, H-999, Lantern, Jumbo y Navolato) siendo este una de las especies más afectadas a excepción de cv. Combar-3 que presento una severidad del 40% a los 7 días después de inoculada en comparación del 80% con el resto de los cultivares. González *et al.*, 2007, evaluaron la resistencia genética en 300 materiales criollos y

silvestres de *Capsicum annum* L. a *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* sp., donde encontraron resistencia a *Fusarium* sp. solo en dos materiales criollos (BG 102 y BG107) originarios del estado de Morales (Mexico). En este mismo año Devika *et al.*, evaluaron 88 genotipos de chile (*C. annum* L.) contra *F. solani* encontrando resistencia en los genotipos F-112-5-83, SKAU-C-101 y PC-6 (Citado por: Santos, 2010)

Gocmen y Aback (2000), en el oriente y occidente de las regiones Mediterraneas, reportaron 6 accesiones (PBC-178, PBC-1364, PBC 413, PM-702, CM-334 and PM-217) de *Capsicum annum* resistentes a dos aislados de *F. solani* de 25 accesiones las cuales ya habían sido evaluadas con resistencia a *Phytophthora capsici*; de los genotipos evaluados Habanero y Bagci, fueron los más susceptibles.

En india, Ahmed *et al.*, (1994) evaluaron 142 líneas avanzadas de *Capsicum* en condiciones de infección naturales a *F. pallidoroseum*, 16 fueron resistentes y 48 moderadamente resistentes. En 1998, Singh y Singh evaluaron 30 germoplasmas de *Capsicum*, encontrando 9 (Punjab Lal, Solan Red, Pachhad Yellow, Solan Yellow, Pant C-1, Sweet Banana, IC-4, IC-8 and IC-21) moderadamente resistentes, los 21 restantes indicaron que eran susceptibles a la enfermedad. En Gujarat (India) Kelaiya y Parakhia (2000), evaluaron 20 variedades de *Capsicum* a aislamientos virulentos de *F. solani*, de los cuales ninguno de los cultivares estuvieron libres de la enfermedad, sin embargo, dos de ellos (GC-1 y GC-2) fueron clasificados como resistentes y cinco (Viz, HC-9, HC-1, PBS 86-1, PBS-86-2) fueron moderadamente resistentes, las demás variedades mostraron ser susceptibles o altamente susceptibles.

Aunque son pocos los reportes de inmunidad o germoplasma altamente resistente; en el año 1994 en la investigación realizada por Ahmed *et al.*, reportaron alta resistencia en 12 accesiones de ají y moderada resistencia en 6 accesiones de pimentón. En 1995 Nayeema *et al.*, evaluaron 66 líneas y cultivares bajo condiciones naturales y de invernadero, encontrando inmunidad del cultivar Masalwadi de *Capsicum annum* a *F. pallidoroseum* en las condiciones evaluadas, además que las líneas SC-120, PhuleC-5, SC-335, SC-415, SC-1 07, SC-348, SC-108, LCA-304, Arka Lohit, Pusa Jwala, Pant C-2, SC-1 01, SC-371, SC-137, SC-419, SC-451, SC-31, LCA-248, Jwaha-218 y SC- 502 en las diferentes condiciones evaluadas muestran resistencia que varía desde altamente resistente a moderadamente resistente, lo que confirma el trabajo realizado por Ahmed *et*

al., en el año 1991 (Nayeema *et al.*, 1995) bajo condiciones naturales, en el cual también reporto a Phule C-5, Masalwadi, SC-1 08, Arka Lohit, Pant C-2, SC- 101, SC-137, LCA-248 y Jwahaar-218 como resistentes; por otro lado también se observó que las líneas SC-1 07, SC-108, SC-348, SC-502, SC- 451 y Pant C-2 además de ser resistentes son superiores en rendimiento y calidad.

Resistencia a *F. oxysporum* f.sp. capsici en diferentes especies de *Capsicum* fueron reportadas por Jones and Black (1992). Estos investigadores reportaron 16 accesiones de *C. baccatum*, una de *C. annum* y una de *C. chacoense* resistentes a *F. oxysporum* f. sp capsici.

Entre las 12 líneas probadas por Saha *et al.*, (2007) en Bangladesh, se encontró que ocho fueron altamente resistentes y cuatro fueron clasificados como resistentes.

Uno de los últimos estudios de resistencia realizado en México en el año 2011 llamado “Selección de Genotipos de Chile Resistentes al Complejo Patogénico de la Marchitez” por Anaya *et al.* (2011), se evaluaron 44 accesiones y 141 genotipos de *Capsicum annum* L. y 97 aislamientos de *Fusarium* spp., identificando 26 genotipos y 2 accesiones (BG 102 y BG107) como resistentes al patógeno en los cuales las dos accesiones habían sido ya evaluados por González *et al.*, 2007

La resistencia a tres accesiones de *Capsicum annum* fue correlacionada con el contenido de capsaicina y con el contenido de proteína soluble en los cotiledones. Igualmente se encontró que el tamaño y la disposición de las células vesiculares y con el espesor de las células del parénquima alrededor de las vesículas están estrechamente relacionados con la resistencia al marchitamiento por *Fusarium* (Wang y Wang, 1989).Jabeen *et al.*, 2009 evaluaron el papel de los fenoles a la resistencia de *Capsicum* a *Fusarium*, donde evaluaron dos genotipos resistentes, seis susceptibles y sus 12 genotipos híbridos F1, encontrando una correlación positiva entre la resistencia del huésped, la cantidad de fenoles y el aumento de la actividad enzimática, mientras que fue lo contrario para los genotipos susceptibles.

Por otro lado, en México se han hecho estudios sobre el uso de injertos para el manejo de la enfermedad. En el estudio usaron un Serrano criollo (SCM 334) como porta injerto

resistente en 4 variedades comerciales susceptibles *Phytophthora capsici* y *Fusarium solani*, resultando compatible solo para una (Chile tipo poblano) de las variedades comerciales y dando como resultado el control para *Phytophthora capsici* y susceptible para *Fusarium solani*.

Wei *et al.*, 2007, en China obtuvieron un germoplasma de *Capsicum annum* L. *in vitro*, en el cual los callos fueron inducidos por explantes de cotiledones bajo una toxina en crudo obtenida de *F. oxysporum*; los análisis mostraron que la toxina en crudo tiene efecto negativo en la inducción del callo y el crecimiento; el estudio mostró que algunas líneas de variación somaclonal que fueron seleccionadas podrían resistir a la toxina y regenerar plantas resistentes al marchitamiento por *Fusarium*.

1.2 Identificación

La gran diversidad y variabilidad entre y dentro de las especies de *Fusarium* dificulta su identificación solo por sus caracteres taxonómicos; además, muchas especies no forman las estructuras suficientes para su completa y correcta identificación. En algunos casos es necesario utilizar el concepto de “*especie biológica*” para delimitar algunas especies (Leslie y Summerell, 2006), pero esta clasificación solo permite delimitar aquellas que tienen un estado telemorfo siendo así restringido para un grupo y no para las especies que solo se les conoce un estado asexual. Por otro lado la identificación molecular posee diversas técnicas para superar las limitaciones que hay en la identificación solo por herramientas morfológicas, además nos permite hacer una rápida y correcta identificación lo que es importante para el manejo adecuado de una enfermedad. Una técnica sensible y muy utilizada en la identificación de organismos patógenos y que discrimina entre especies es la Reacción en Cadena Polimerasa (PCR). Este método junto con el análisis de secuencias de ADN de la región ITS son los más usados para el monitoreo de enfermedades de plantas, para la detección de los organismos causales en las plantas, semillas y frutos (Shcherbakova, 2007), clasificación y análisis filogenético a nivel de especie.

1.2.1 Identificación morfológica.

La identificación del género *Fusarium* es principalmente morfológico; este se caracteriza por presentar diversas estructuras, entre las cuales la principal característica de este

género es la producción de macroconidias en forma de media luna. Diversos autores se han enfocado en la identificación morfológica de este género, (Leslie y Summerell, 2006; Nelson *et al.*, 1983) enfocándose principalmente en la ausencia o presencia de sus macroconidias, microconidias y clamidosporas, en el tamaño, forma, tipos y cantidad de septos por esporas. Además algunas clasificaciones también tienen en cuenta la morfología de la colonia en diferentes medios, la velocidad de crecimiento, presencia de peritecios, entre otros.

Una correcta identificación por caracteres morfológicos se basa en una estandarización de las condiciones de desarrollo de los aislados, debido a que las condiciones ambientales como el medio, temperatura, luz, edad del cultivo y hasta el método de inoculación influyen en el crecimiento, desarrollo y virulencia de las especies causando variaciones entre ellas. Sin embargo, en muchos casos la forma y tamaño de los macroconidias puede ser confuso debido al entorno en el cual son desarrollados o por alteraciones producidas por cambios en el entorno o siembras progresivas en medios de cultivo (Leslie y Summerell, 2006; Nelson *et al.*, 1983).

Leslie y Summerell, (2006) manifiestan que diversas especies son difíciles de separar solo por caracteres morfológicos, debido a la variabilidad en sus caracteres fenotípicos, pueden ser muy similares o pertenecen a una misma especie con huésped diferentes, además la taxonomía del género *Fusarium* se encuentra en constantes cambios lo que genera más confusiones. Además algunas de las especies que son económicamente importantes no presentan un estado perfecto o sexual, lo cual dificulta aún más su identificación. Debido a este inconveniente se utilizó el concepto de especie biológica, debido a que se piensa que estas son un complejo de especies que comprenden muchas especies de *Fusarium* (Summerell *et al.*, 2003, Dhoro, 2010). El concepto de especie biológica requiere que los miembros de las mismas especies sean cruzamientos sexualmente fértiles y que su progenie sean a la vez viables y fértiles (Summerell *et al.*, 2003)

La identificación por caracteres morfológicos es esencial, pero debido a la gran variabilidad morfológica, la flexibilidad genética y capacidad de variar a los cambios del medio ambiente es fundamental estandarizar las condiciones para su crecimiento y desarrollo, además debemos apoyarnos con las técnicas de biología molecular.

1.2.2 Identificación molecular.

Las técnicas moleculares han ayudado considerablemente en la detección, identificación y diagnósticos más rápidos de hongos, además han proporcionado información sobre las variaciones genéticas, taxonómicas, relación genética, discriminación de aislados (El-Kazzaz, 2008; Sunil, 1999; Gosen y Debets, 1996).

En los últimos años el progreso de la tecnología y herramientas en biología molecular ha sido enorme. Diferentes métodos son usadas para la identificación y caracterización de hongos fitopatógenos en las cuales encontramos la tecnología de isoenzimas, Pruebas de ADN, RFLPs (Restriction fragment length polymorphisms), RAPD (Randomly amplified polymorphic DNA), PCR (Polymerase chain reaction), etc. Entre las técnicas moleculares más comúnmente usada se encuentra el análisis de ADN por la PCR en combinación con la secuenciación. La PCR es un método con amplias aplicaciones en biología molecular el cual permite la búsqueda repetida y amplificación in vitro de fragmentos específicos de ADN, esta amplificación depende de un molde de cadena sencilla y dos primers complementarios a las secuencias sobre cualquiera de las cadenas para iniciar la síntesis. Estas secuencias se encuentran en trazas entre una gran cantidad de otros polinucleótidos, lo que hace que esta técnica sea sensible en la identificación y diagnóstico de patógenos (Gosen y Debets, 1996).

2. Capítulo 2: Objetivos

2.1 Objetivo general:

- Buscar fuentes de resistencia a *Fusarium spp* en germoplasma de *Capsicum*

2.2 Objetivos específicos:

- Determinar la patogenicidad de aislamientos del género *Fusarium* colectados en plantas del genero *Capsicum* en el Valle del Cauca.
- Seleccionar germoplasma y líneas mejoradas resistentes a *Fusarium spp*.
- Identificar Morfológicamente los aislamientos patogénicos del genero *Fusarium* de plantas de *Capsicum* en el Valle del Cauca

3. Capítulo 3: Metodología.

3.1 Colectas.

Las colectas se hicieron en el Departamento del Valle del Cauca en los Municipios de Roldanillo, Vijes, Darién, Dagua, Toro, Yotoco, Yumbo, El Bolo, La Unión, Palmira y El Cerrito. Los aislamientos fueron obtenidos de material vegetal de ají y pimentón afectado, las cuales mostraban síntomas característicos como amarillamiento y/o marchitamiento, observándose también una coloración marrón en la base del tallo. Las plantas que mostraban estos síntomas fueron guardadas en bolsas de papel individualmente, debidamente etiquetadas y llevadas al laboratorio para su procesamiento.



Figura 1. Síntomas Observados en los Diferentes Cultivos en el Valle del Cauca. A y D. Plantas muertas en el municipio de Dagua y Yotoco respectivamente. **B.** Lesión necrótica en el tallo en el municipio de La Unión. **C.** Marchitamiento Fuerte en el municipio de Toro. **E.** Marchitamiento y necrosis en el municipio de Darién.

3.2 Aislamientos.

Después de obtener el material vegetal con síntomas característicos de la pudrición del tallo y raíz, se procedió a aislar, identificar y purificar los aislamientos en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Se cortaron trozos de tejido de la raíz y base del tallo enfermo de 5 mm de longitud y se desinfectaron pasándolos por Hipoclorito de sodio (NaCl) al 2% (2 min), Alcohol (OH) 70% (1 min) y se lavaron dos veces con Agua destilada estéril y secados en papel toalla estéril. Se sembraron en medio PDA e incubados por espacio de 5 a 7 días a 28 °C. Cuando se evidenció crecimiento micelial se procedió a identificar las estructuras del hongo tales como macroconidias por medio de un microscopio y se seleccionaron los cultivos donde se determinó la presencia de *Fusarium*. Posteriormente se purificaron y preservaron por el método Castellani (1963). Se obtuvo un total de 70 aislamientos del genero *Fusarium*.

3.3 Cultivos Monospóricos.

Los cultivos monospóricos se obtuvieron a partir de aislados puros de 7 días, para lo cual se tomó micelio y se introdujo en un tubo de ensayo conteniendo 20 mL de agua destilada estéril, se homogeneizó la muestra y se ajustó a una concentración de 10^3 conidia/mL, posteriormente con una micropipeta se adicionó 1 mL de esta solución a medio Agar Agua. Después de 24 horas, se observó en el estereoscopio la germinación de las conidias, seleccionando el más distante para re-aislarlos a una nueva caja petri conteniendo PDA. Se incubaron a 28 °C por 7 días, esto con el fin de tener una mayor estabilidad genética de los aislamientos.

3.4 Conservación.

La conservación de los aislamientos obtenidos se hizo por el método Castellani (1963) modificado, el cual consistió en adicionar 5 discos de 5 mm de diámetro del cultivo puro de 7 a 10 días a frascos tipo penicilina los cuales contenían agua destilada estéril y glicerina (1:1) y almacenados a una temperatura de 4 °C.

3.5 Pruebas de Patogenicidad.

Las pruebas de patogenicidad se llevaron a cabo en el invernadero de Fitopatología de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira a una temperatura entre 28-30°C y una humedad Relativa de 70%.

3.5.1 Preparación del inoculo.

La suspensión de esporas se obtuvo a partir de aislados puros monospóricos cultivados en PDA a 28°C de 7 a 10 días. A estos cultivos se adicionó 20 mL de agua destilada estéril y se hizo un raspado superficial con una espátula estéril para desprender las conidias, se pasó por un filtro para separar las conidias del micelio y se ajustó a una concentración de 1×10^6 conidias/mL con ayuda de una cámara de Neubauer.

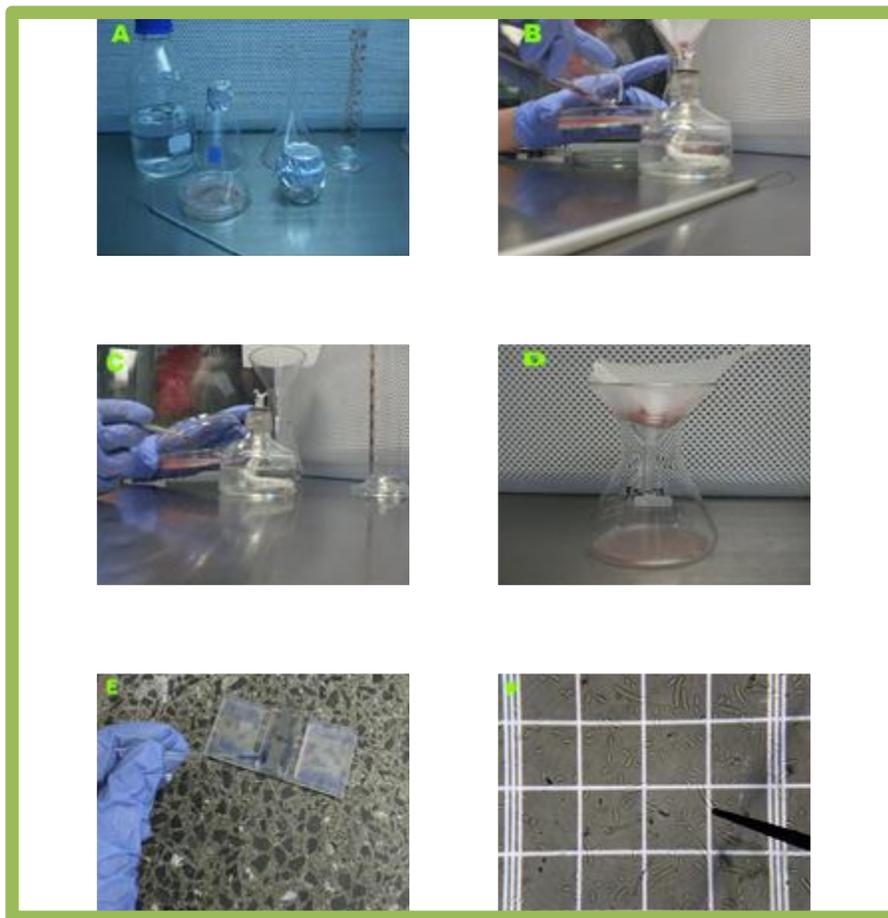


Figura 2. Preparación de la Solución de Esporas. **A.** Material para la preparación. **B.** Adición de 20 ml de ADE a la caja petri con el aislado. **C.** Raspado del micelio **D.** Filtrado del micelio. **E.** Muestra en la cámara de Neubauer. **F.** Conteo de conidias.

3.5.2 Preparación del suelo.

Se usó una mezcla de suelo y cascarilla de arroz (1:1), el cual fue debidamente esterilizado dos veces en autoclave a 121°C y una presión de 15 psi. Se dejó reposar por 8 días antes de su uso para evitar gases tóxicos que pudieran afectar el desarrollo de las plantas.

3.5.3 Ensayos Preliminares.

Se realizó dos ensayos preliminares para la selección del método de inoculación, usando plantas de ají variedad Cayenne.

3.5.3.1.1 Primer ensayo.

Consistió en 3 métodos de inoculación y 4 aislados diferentes. Se hizo en un diseño de Bloques completos al azar con tres repeticiones, donde los tratamientos estaban compuestos por la combinación del método de inoculación con cada aislamiento, más un control por cada método de inoculación.

- **Inoculación al suelo.** Se preparó una suspensión de esporas como se describió anteriormente, se mezcló con el suelo y se sembraron las plantas de ají. El control consistió en adicionar agua destilada estéril al suelo.
- **Inoculación con puntas de palillos de madera.** Se sembraron los aislados en medio PDA y se coloraron las puntas de palillos las cuales fueron previamente esterilizadas, dejando que el micelio cubriera completamente los palillos. Posteriormente se colocaron en el sistema radical de la planta. El control consistió en colocar puntas de palillos estériles sin inóculo.

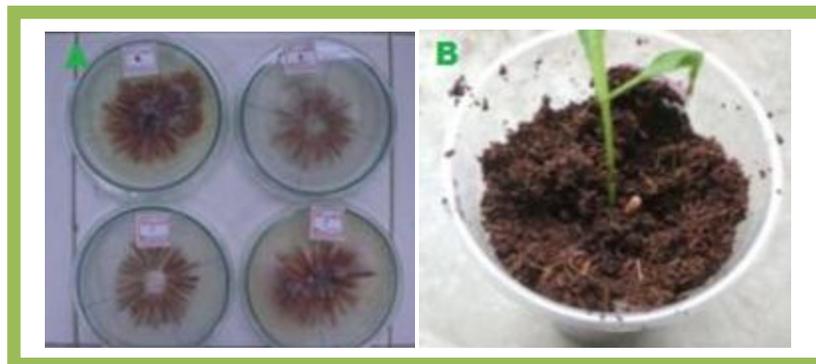


Figura 3. Inoculación con Puntas de Palillo de Madera. A. Palillos creciendo con micelio. B. Inserción del palillo en la raíz.

- **Inoculación a la raíz desnuda.** Se lavaron las raíces de las plantas con agua corriente y se sumergieron en el inoculo por 3 horas. Transcurrido este tiempo las plantas se sembraron. El control se sumergió en agua destilada estéril por el mismo espacio de tiempo.



Figura 4. Inmersión de las Raíces en la Concentración del Inoculo.

3.5.3.1.2 Segundo ensayo.

Además del método de inoculación a la raíz desnuda sin corte se adicionó un método que consistió en ocasionarle heridas, el cual se denominara inoculación a la raíz desnuda con corte, se utilizaron para este experimento los aislamientos FSM-51, FSM-52 y FSM-53. Consistió en dos métodos de inoculación (inoculación a la raíz desnuda sin corte e inoculación a la raíz desnuda con corte) y 4 aislamientos diferentes en un diseño de Bloques completos al azar con tres repeticiones. El método de inoculación a la raíz desnuda sin corte se hizo como se describió anteriormente.

- **Inoculación a la raíz desnuda.** Ver primer ensayo preliminar.
- **Inoculación a la raíz con corte.** Se lavaron las raíces con agua corriente, se hizo pequeños cortes a los ápices de las raíces y se sumergieron en el inoculo por 3 horas. Transcurrido este tiempo las plantas se sembraron. A las plantas control se les hizo el mismo procedimiento pero sumergiéndolas en Agua destilada estéril.



Figura 5. Pequeño corte a los ápices de las raíces.

3.5.4 Confirmación de los aislamientos patogénicos.

Después de la elección del método de inoculación se procedió a la selección de los aislados patogénicos, para el cual se utilizaron dos cultivares de *Capsicum*: Cayenne y California Wonder. Las semillas de estos cultivares se sembraron en bandejas germinadoras, las plantas fueron seleccionadas por su uniformidad a los 30 días después de su germinación para su inoculación. El tratamiento testigo se hizo con agua destilada estéril. Las plantas que mostraron los síntomas de pudrición causadas por *Fusarium* se llevaron al laboratorio para seguir los postulados de Koch.

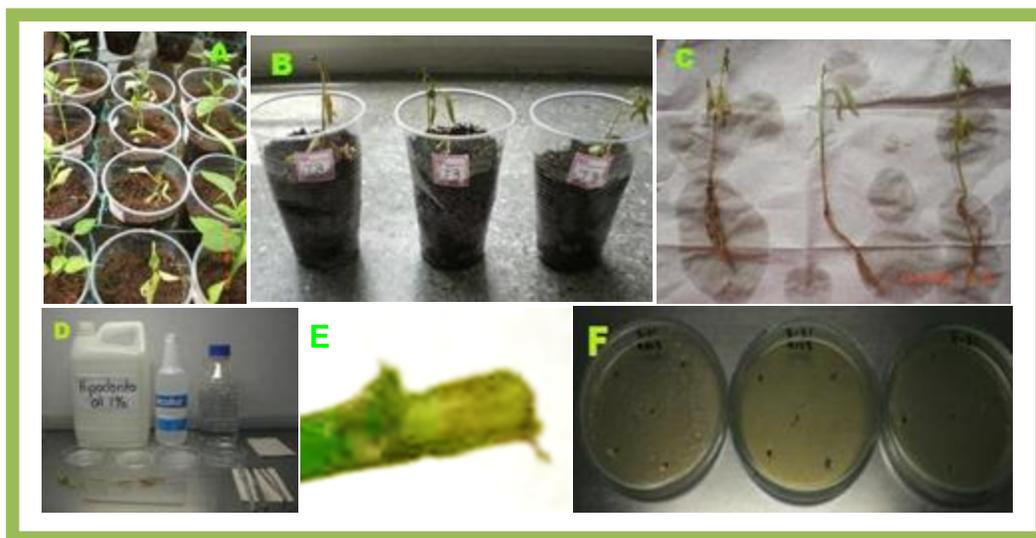


Figura 6. Pruebas de Patogenicidad. **A.** Plantas en invernadero con síntomas de Amarillamiento y marchitez. **B.** Selección de plantas con síntomas de características a la pudrición producida por *Fusarium* sp. **C.**

Lavado del material vegetal. **D.** Corte y desinfección del material vegetal. **E.** Observación de coloración marrón al hacer un corte trasversal. **F.** Siembra en PDA del Material Vegetal Enfermo.

3.6 Evaluación de la enfermedad.

Se evaluó la Incidencia y Severidad durante 60 días. La severidad de síntomas de cada planta se evaluó con una escala de 0 a 5 donde:

ESCALA	SINTOMAS
0	Sin síntomas visibles de la enfermedad (Planta sana)
1	Clorosis leve de hojas
2	<10% de las plantas con Clorosis leve y/o leve retraso en el crecimiento
3	11-25% de las plantas con Clorosis leve y/o leve retraso en el crecimiento y marchitamiento
4	26-50% con Clorosis Fuerte y/o enanismo y marchitamiento
5	51-100% de las plantas marchitos o Muerte de las plantas

Tabla 2. Escala para evaluación de severidad. (Modificado de Elmer *et al.*, 2004).

El porcentaje de severidad fue evaluado mediante la fórmula de Song *et al.*, (2004):

$$SEVERIDAD(\%) = \left[\frac{\sum(N^{\circ}PlantasafectadasxCadagrado)}{N^{\circ}PlantasevaluadasxGradoMayor} \right] x 100$$

3.6.1 Análisis estadísticos de los ensayos de patogenicidad.

Los datos obtenidos de Incidencia y Severidad fueron sometidos a un análisis de varianza mediante el programa S.A.S. 9.3 (Statistical Analysis System, Institute Inc.). Las medias de los tratamientos se analizaron mediante la prueba de Tukey ($p=0.05$).

3.7 Búsqueda de germoplasma resistente.

Se evaluaron 38 accesiones de *Capsicum* pertenecientes al programa de Mejoramiento de Ají y Pimentón de la Universidad Nacional de Colombia de Palmira, las cuales fueron seleccionadas por su resistencia a *P. capsici* Leonian.

3.7.1 Selección de germoplasma resistente.

Los ensayos de resistencia se realizaron en el invernadero del Centro Experimental de la Universidad Nacional sede Palmira (CEUNP), ubicada en el corregimiento de Villa Gorgona en el departamento del Valle del Cauca, con una temperatura de 28°C y humedad relativa de 70%.

Las semillas fueron suministradas por la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, el cual cuenta con un Banco de Germoplasma de *Capsicum spp.* Las semillas fueron germinadas en bandejas de 128 alveolos bajo condiciones de invernadero con turba y se mantuvieron en estas hasta que las plantas presentaran 4 hojas verdaderas. Fueron seleccionadas por su uniformidad. Se preparó el inóculo como se describió anteriormente, se lavaron las raíces de las plantas y sumergieron en la solución conteniendo el inóculo por espacio de tres horas, posteriormente se sembraron en vasos desechables de 7 onzas conteniendo una mezcla de suelo y cascarilla de arroz 1:1, el cual fue previamente esterilizado en autoclave dos veces a 121°C y una presión de 15 psi. Se consideraron resistentes a los individuos que no presentaron síntomas de la enfermedad y sobrevivieron, durante el tiempo de evaluación.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, la unidad experimental estuvo constituida de 5 plantas.

3.7.2 Análisis estadístico de los datos.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, la unidad experimental estuvo constituida de 5 plantas.

3.8 Identificación.

La identificación morfológica se hizo a partir de cultivos monospóricos desarrollados en PDA.

3.8.1 Identificación morfológica.

Siguiendo las guías de Leslie and Sumerell (2006) y Nelson *et al.* (1983), se seleccionaron diferentes medios de cultivos como PDA (Papa, dextrosa, agar), CLA (Carnation Leaf Agar) y SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar) para la caracterización morfológica de los aislamientos obtenidos.

Para la caracterización morfológica se usan diversos caracteres ya sean primarios o secundarios. Entre los caracteres secundarios mas usados se encuentra la pigmentación de la colonia en medio PDA y la velocidad de crecimiento. Los caracteres primarios de células reproductivas: microconidias, macroconidias, presencia o ausencia de clamidosporas y ancho y longitud de los macroconidias, teniendo en cuenta el número de septos

Estas características se hicieron mediante observaciones macroscópicas tales como:

- **Color de la superficie y reverso de la colonia en PDA.** Se usan guías de colores o simplemente términos generales tales como “rojo”, “amarillo”, “naranja”, “café”, “violeta”, “gris” y “blanco” aunque la pigmentación no es una característica confiable para la caracterización de una especie, debido a que replicas continuas, cambios de temperatura, cambios en el pH, favorecen el cambio en el color (Leslie and Summerell, 2006).
- **Velocidad de crecimiento en medio PDA.** La velocidad de Crecimiento es otro carácter secundario que es usado con frecuencia para la caracterización de especies del genero *Fusarium*.

Para la realización de estos caracteres se usó cajas petri con 20 ml de medio de cultivo PDA, al cual se le coloco un disco de un cultivo puro de *Fusarium* spp., en el centro de la caja petri que contenía el medio, incubándose a una temperatura que oscilo entre los 28°C y 30°C; por cada aislamiento se utilizaron tres repeticiones, realizándose mediciones cada 24 horas durante 8 días o hasta que el aislamiento ocupara toda la caja. El índice de crecimiento micelial (ICM) fue determinado por la fórmula propuesta por Oliveira (1991):

$$ICM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \frac{C_3}{N_3} + \dots + \frac{C_n}{N_n}$$

Donde:

ICM= Índice de Crecimiento Micelial

C_1, C_2, C_n = Crecimiento micelial de los aislamientos en la primera, segunda y n evaluación.

N_1, N_2, N_n = Número de días.

Además se hicieron observaciones microscópicas donde se observó:

- **Tipo de células reproductivas (micro y macroconidias, Medios SNA y CLA)**
(Ver anexo).
- **Presencia o ausencia de clamidosporas (Medio SNA)**
- **Presencia o ausencia de microconidos (Medio CLA)**
- **Dimensiones (ancho y longitud) de conidias (Medios SNA y CLA)**
- **Número de septos de macroconidias (Medios SNA y CLA).**

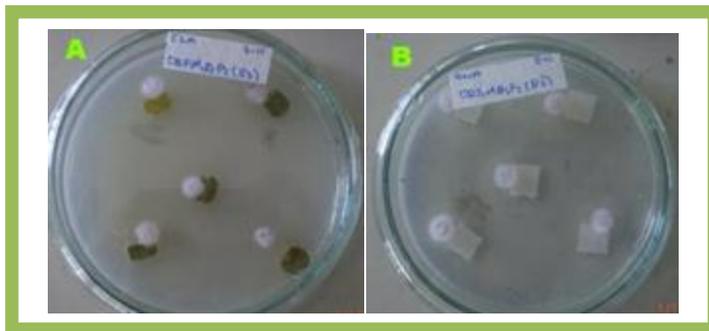


Figura 7. Crecimiento de los aislamientos en medios de Cultivo A. CLA y B. SNA

4. Resultados y Discusión.

4.1 Aislamientos.

Se obtuvieron 70 aislamientos a partir de las plantas de *Capsicum* spp., los cuales fueron almacenados en frascos de vidrio con Agua-Glicerol en una proporción 1:1 a 4°C e identificados con los códigos FS-1 hasta FS-70 y los cultivos monosporicos de cada aislamiento se codificaron con la nomenclatura FSM-1 hasta FSM-70 (Ver anexo 2).

4.2 Ensayos Preliminares.

4.2.1 Primer ensayo.

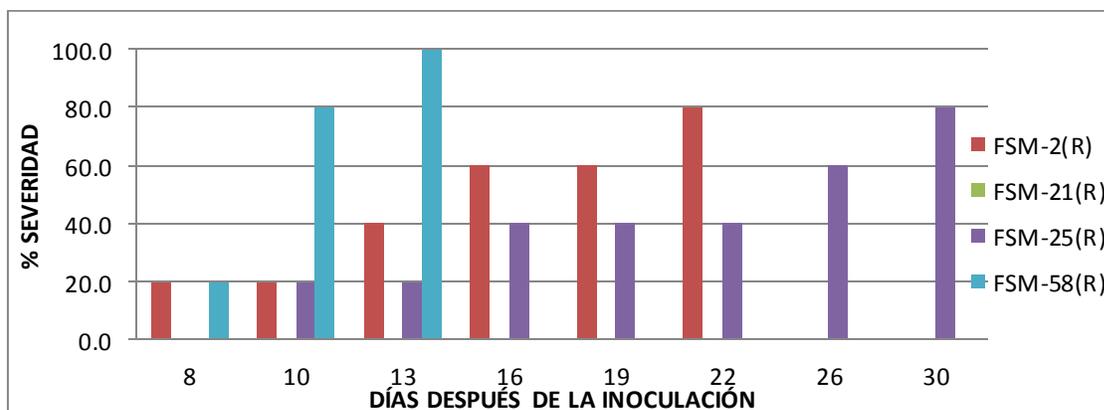
El método de inoculación a la raíz fue el que primero mostro los síntomas con el aislamiento FSM-58, en el cual se observó clorosis a los 8 días después de la inoculación, y marchitez a los 11 días y finalmente la muerte de las plantas. Los síntomas con los métodos de inoculación con palillos y al suelo, presentaron los síntomas a los 30 días después de la inoculación, los cuales se manifestaron de forma no homogénea, debido a que no existe una interacción directa entre el patógeno con la raíz de la planta, como en el método de inoculación directa a la raíz.

Para reconfirmar la presencia de los microorganismos patógenos se siguieron los postulados de Koch. Esto se llevó a cabo en el momento que las plantas presentaron los primeros síntomas de la enfermedad, de esta manera se confirmó la presencia del patógeno en las plantas inoculadas.



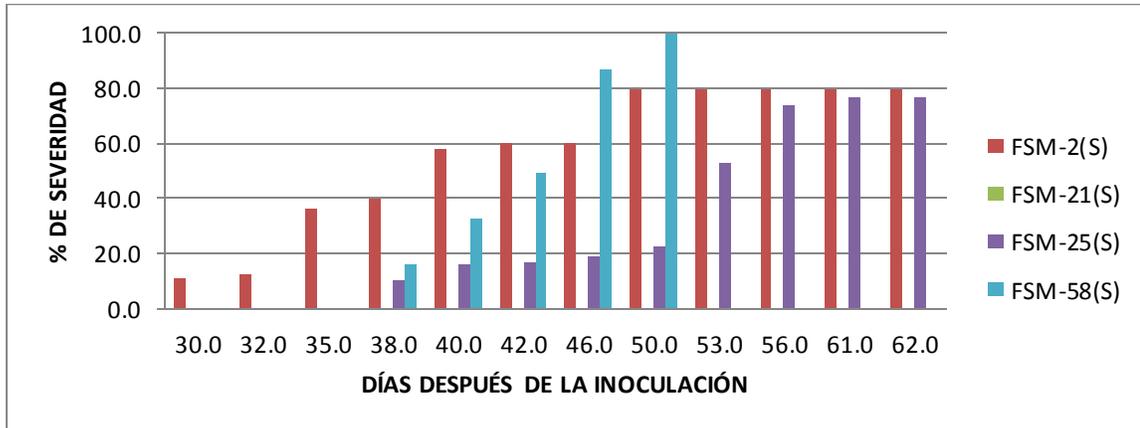
Figura 8. Síntomas de Necrosamiento en Hojas en Inoculación Directa a la Raíz en el Tratamiento FSM-25.

En la gráfica 1 se muestra el porcentaje de severidad de las plantas con el método de inoculación a la raíz, donde se observa la aparición de los primeros síntomas a los 8 días después de su inoculación. Las plantas que fueron inoculadas con el aislamiento FSM-2 y FSM-58 fueron las primeras en manifestar los síntomas en comparación con los otros aislamientos, alcanzando un 80% y 100% de severidad respectivamente. La sintomatología del aislamiento FSM-25 se caracterizó por presentar una clorosis leve, seguida de un marchitamiento no pronunciado, al final de la evaluación estas se observaron de menos altura y con necrosamiento de las hojas comparado con el testigo.



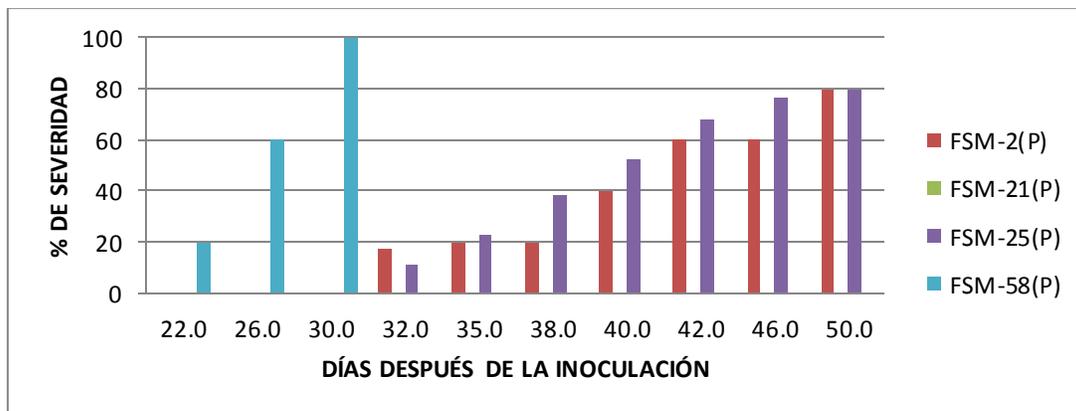
Gráfica 1. : Evaluación del Método Inoculación con *Fusarium* spp., a la Raíz de Plantas de Cayenne.

Los resultados para las plantas que fueron evaluadas con el método de inoculación al suelo (Graf. 2) presentaron los síntomas a los 30 días después de inoculadas, siendo el aislamiento FSM-2 el primero en manifestar síntomas.



Gráfica 2. Evaluación del Método de Inoculación con *Fusarium* spp., al Suelo en Plantas de Cayenne.

En la gráfica 3 se presenta el porcentaje de severidad de las plantas inoculadas con el método de puntas de palillos de maderas, siendo el aislamiento FSM-58 en el que se observaron los primeros síntomas, causando la muerte al total de las plantas evaluadas a los 8 días después de la aparición de los primeros síntomas.



Gráfica 3. Evaluación del Método de Inoculación con *Fusarium* spp., Mediante Palillos en Plantas de Cayenne.

4.2.2 Segundo ensayo.

El método de inoculación a la raíz con corte, presento los síntomas a los 4 días después de la inoculación, mientras que la inoculación a la raíz sin corte mostraron los síntomas

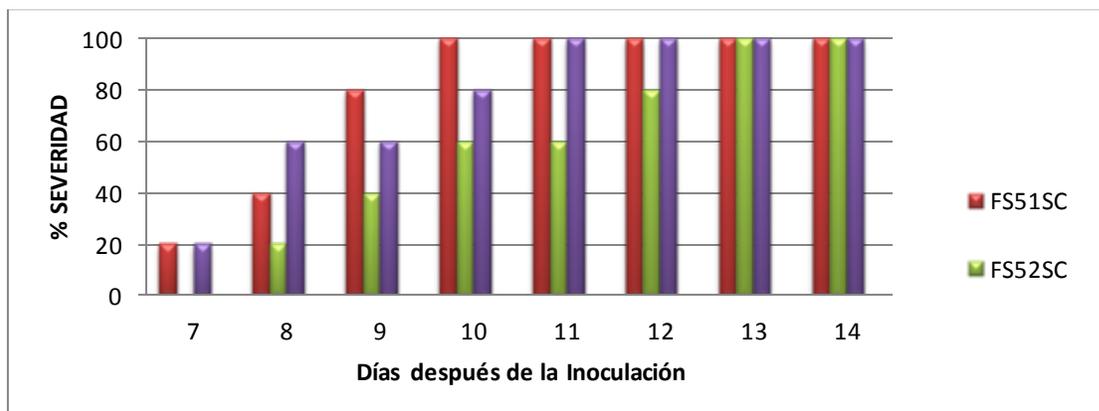
después de los 8 días de inoculadas, lo cual se demuestra que la inoculación a la raíz con corte es más eficaz para determinar los aislamientos más patogénicos.

La tabla 3 muestra los resultados de incidencia y severidad de los aislamientos evaluados (FSM-51, FSM-52 y FSM-53), estos resultaron ser altamente patogénicos, presentando una incidencia del 100%, y una severidad del 100%.

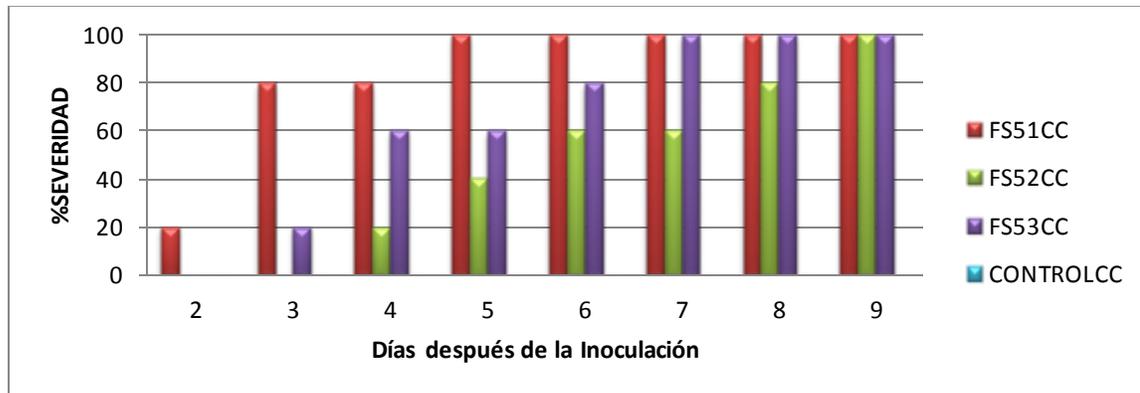
Tabla 3. Porcentaje de Incidencia y Severidad con Inoculación a la Raíz Con Corte (CC) y Sin Corte (SC) en Plantas de Cayenne.

TRATAMIENTO	% INCIDENCIA	% SEVERIDAD
FS51-SC	100	100
FS51-CC	100	100
FS52-SC	100	100
FS52-CC	100	100
FS53-SC	100	100
FS53-CC	100	100
CONTROL-SC	0	0
CONTROL-CC	0	0

En las gráficas 4 y 5 se observa que los aislamientos FSM-51 y FSM-53 fueron los más patogénicos siendo el aislamiento FSM-51 el que causó la muerte de las plantas en menos tiempo; además en el método de inoculación a la raíz con corte los síntomas se presentaron primero que en los otros aislamientos.



Gráfica 4. Evaluación del Método de Inoculación a la Raíz Sin Corte con *Fusarium* spp., en Plantas de Cayenne.



Gráfica 5. Evaluación del Método de Inoculación a la Raíz Con Corte con *Fusarium* spp., en Plantas de Cayenne.

4.3 Pruebas de Patogenicidad.

En evaluaciones realizadas en cultivares de Cayenne y California Wonder, con el método de inoculación seleccionado (inoculación a la raíz con corte), presentaron sus primeros síntomas a los cuatro días después de su inoculación, donde se observó amarillamiento, marchitamiento, necrosamiento, defoliación de hojas y enanismo; además en algunos casos se observó crecimiento micelial y/o una coloración marrón en la base del tallo (Figura 9 y 10), la cual al hacer un corte transversal se podía ver el avance de la enfermedad en los tejidos corticales. Las plantas testigos no desarrollaron ningún síntoma visible.

Esto corrobora en estudios hechos por Apocada *et al.*, (2004) en condiciones de invernadero al inocular *Fusarium oxysporum*, f.sp. *radicis-lycopersicium* 20 cultivos diferentes entre los que se encontraba Cayenne, donde se presentó con mayor severidad y virulencia (Seis días después de la inoculación) en estos materiales, siendo esta una de las especies más afectadas en este ensayo. Igualmente, Chaiyawat *et al.*, 2008, haciendo una inoculación en el tallo con una pequeña herida dos centímetros por encima del suelo, indicó que la enfermedad se presentó a los tres días después de la inoculación, incrementándose la enfermedad con el tiempo.



Figura 9. Síntomas de Marchitez causados por el aislamiento FSM-51.

Algunos resultados de nuestro estudio mostraron tolerancia a ciertos aislamientos, debido a que superaba los primeros 15 y 20 días después de la inoculación, pero a medida que paso el tiempo fueron presentando síntomas, en los cuales algunas continuaron creciendo y otras no. Se compararon los resultados de los



Figura 10. Síntomas y Signos observados durante los ensayos. A. Marchitamiento. **B.** Amarillamiento y defoliación. **C.** Coloración marrón y micelio en la base del tallo. **D.** Presencia de Micelio en la Base del Tallo. **E.** Necrosamiento en Hojas. **F.** Muerte de las Plantas

Para cada evaluación se realizaron re-aislamientos conformando así la presencia del patógeno en estudio (Figura 11).

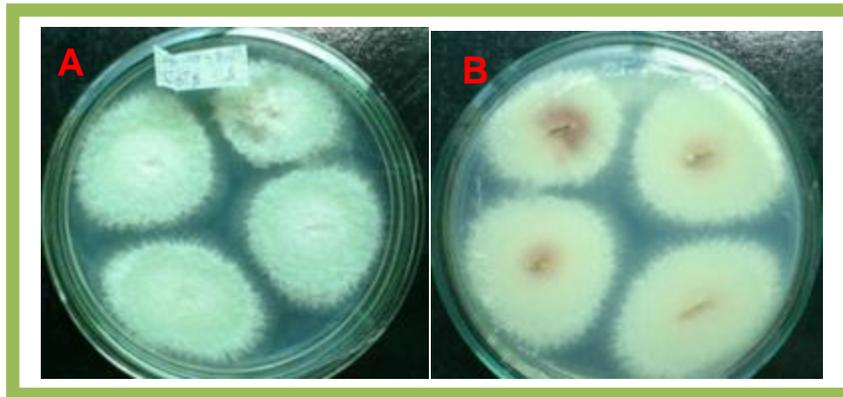


Figura 11. Re-aislamiento del Patógeno A. Vista por la Superficie y B. Vista por la Base.

4.4 Evaluación de la Enfermedad.

De los 70 aislamientos obtenidos, 11 aislamientos causaron el 100% de severidad en plantas de Cayenne (FSM-9, FSM-51, FSM-52, FSM-53, FSM-54, FSM55 FSM-58, FSM-64, FSM-65, FSM-66 y FSM-70) y en California Wonder los aislamientos FSM-2, FSM-18, FSM-55 FSM-58 y FSM-70 causaron el 100% de severidad, donde encontramos que tres de estos aislamientos afectaron a los dos materiales evaluados (Ver Tabla 4).

Las especies de *Fusarium lateritium*, *F. oxysporum*, han sido reportas por Vásquez *et. al.*, (2004) afectando especies de *Capsicum* spp., en México; *F. lactis* fue reportado en Canadá por Yang *et. al.*, (2009) y Van Poucke *et. al.*, (2012), afectando *Capsicum annum*.

Tabla 4. Aislamientos que causaron un porcentaje de Incidencia y Severidad por encima del 50%

TRATAMIENTO	% INCIDENCIA CAYENNE	% SEVERIDAD CAYENNE	% INCIDENCIA CALIF WON	% SEVERIDAD CALIF WON
FS-1	75,00	90,00	66,67	66,67
FS-2	100,00	80,00	100,00	100,00
FS.-6	100,00	60,00	41,67	8,33
FS-9	100,00	100,00	100,00	80,00
FS-11	100,00	58,33	75,00	35,00
FS-12	100,00	55,00	75,00	60,00
FS-18	100,00	80,00	100,00	100,00
FS-25	100,00	60,00	0,00	0,00
FS-26	100,00	60,00	100,00	60,00
FS-27	100,00	60,00	100,00	60,00
FS-41	100,00	73,33	50,00	10,00
FS-51	100,00	100,00	100,00	21,67
FS-52	100,00	100,00	100,00	20,00
FS-53	100,00	100,00	100,00	20,00
FS-54	100,00	100,00	100,00	20,00
FS-55	100,00	100,00	100,00	100,00
FS-58	100,00	100,00	100,00	100,00
FS-64	100,00	100,00	100,00	60,00
FS-65	100,00	100,00	100,00	60,00
FS-66	100,00	100,00	100,00	40,00
FS-70	100,00	100,00	100,00	100,00

La evaluación de los 70 aislamientos de hongos del género *Fusarium* con los cultivares mostraron que Cayenne es susceptible a 42 aislamientos y California Wonder a 36 (Ver Anexo 3). Las pruebas de Patogenicidad demostraron la capacidad de diversos aislados en causar enfermedades en plantas de ají y pimentón, ocasionando la muerte de las

plantas y otros diversos daños en los cultivos. La susceptibilidad en California wonder y Cayenne ya había sido revelado en diversos trabajos (Attia, 2003; Camino et al., 1987). Attia 2003, encontró que en estos dos materiales se presentaron síntomas de Damping-off.

De los 70 aislamientos se seleccionaron 20, debido a su alta incidencia ($\leq 75\%$) y severidad ($\leq 50\%$) en cualquiera de los dos materiales evaluados inicialmente.

Vera *et. al.*, (2002) describe los síntomas en plantas de *Capsicum annum*, donde el síntoma comienza por la pérdida de brillo y flacidez de las hojas, posteriormente las plantas se tornan amarillentas y mueren. Abo-Elanga y Ahmed (2007), evaluaron dos especies de *Fusarium moniliforme* en California, California Wonder, Cayenne y una variedad local, encontrando que las variedades fueron susceptibles a la infección de los dos aislamientos de *Fusarium*, con una sintomatología de las variedades, donde California presentó pudrición de raíz, amarillamiento y necrosamiento; California Wonder mostró la muerte completa de las plántulas, Cayenne mostró lesiones oscuras necróticas, caída de hojas y muerte; la variedad local presentó amarillamiento de los tejidos de las hojas entre las venas secundarias y decoloración externa.

4.5 Evaluación del Germoplasma Resistente a la Pudrición Causada por *Fusarium* spp.

4.5.1 Selección del Germoplasma Resistente.

Para la selección de germoplasma resistente se seleccionó el aislamiento FSM-58 por ser uno de los más virulentos en los dos cultivares evaluados inicialmente. Este se evaluó sobre un total de 38 accesiones de *Capsicum* (Ver Tabla 5). Las accesiones 12-13, 7-17 y CAY45 (Fig. 12) muestran resistencia al aislamiento FSM-58, en comparación con las accesiones 12-17, 70*959 y 957*632 que presentan una incidencia del 100% y una severidad de la enfermedad del 20% para 12-17 y 40% para 70*959 y 957*632. Las accesiones 12-17 y 957*632 manifestaron sus primeros síntomas a los 20 días después de ser inoculadas, por el contrario de la accesión 70*959, la cual manifestó sus síntomas a los cuatro días después de su inoculación y 15 días después presentó una recuperación del total de las plantas (Fig. 12). Las demás accesiones presentaron una severidad que oscila entre 72 y 100% (Fig. 13) (Ver Tabla 5).



Figura 12. Accesiones Resistentes al Aislamiento FSM-58. A y B. Accesiones 70*959, Inoculadas Con El Aislamiento FSM-58. C. Accesoión CAY45 Inoculadas con el Aislamiento FSM-58.

Tabla 5. Porcentaje de Incidencia y Severidad en 38 Accesiones de *Capsicum*.

ACCESIÓN	% SEVERIDAD	% INCIDENCIA	ACCESIÓN	% SEVERIDAD	% INCIDENCIA
1 - 7 - 11	80	100	91y x 958	80	100
12 - 13	0	0	957 x 24	80	100
12 - 17	20	100	957 x 293by	80	100
13 x 958	100	100	957 x 631	80	100
139 - 958	72	100	957 x 632	40	100
15 - 18 - 1	80	100	958 x 11	80	100
2 - 21	80	100	958 x 23	80	100
24 x 959	80	100	958 x 66	80	100
293by x 958	80	100	958 x serr	80	100
332AY x 957L2	80	100	959 x 24	100	100
513 - c8 - 6 - 1	84	100	959 x 24L2	100	100
631 x 957	92	100	959 x 26	80	100
631 x 958L2	80	100	959 x 631	80	100
631 x 959	96	100	959 x 631THA	80	100
692 x 957	80	100	959 x 70	80	100
692 x 959	80	100	959 x serr	80	100
7 - 17	0	0	CAY45	0	0
70 x 957	80	100	R1	100	100
70 x 959	40	100	serr x 958	80	100

Líneas avanzadas de chile ancho y Mirasol (*C. annuum* L.), fueron evaluadas por Velásquez *et. al.*, (2003) en México, resultando susceptibles a la enfermedad causada por *Fusarium* spp. En Cuba, Camino *et. al.*, (1987), evaluaron 19 variedades de *C. annuum*, entre las que se encontraba “Keystone Resistant Giant”, “Mild Calofornia Wonder”, “Export”, “Bell Boy”, “Citrina”, “Chay”, “New Ace”, “Regalo de Moldavia”, “True

Hear”, “Vesn” y “Hungarian Sweet Wax”, las especies de *F. solani* y *F. oxysporum lycopersici*, donde las tres primeras resultaron ser susceptibles a *F. solani*; “Bell Boy”, “Citrina”, “Chay”, “New Ace”, “Regalo de Moldavia”, “True Hear”, “Vesn” a *F. oxysporum lycopersici* y “Hungarian Sweet Wax” fue susceptible a ambos patógenos.

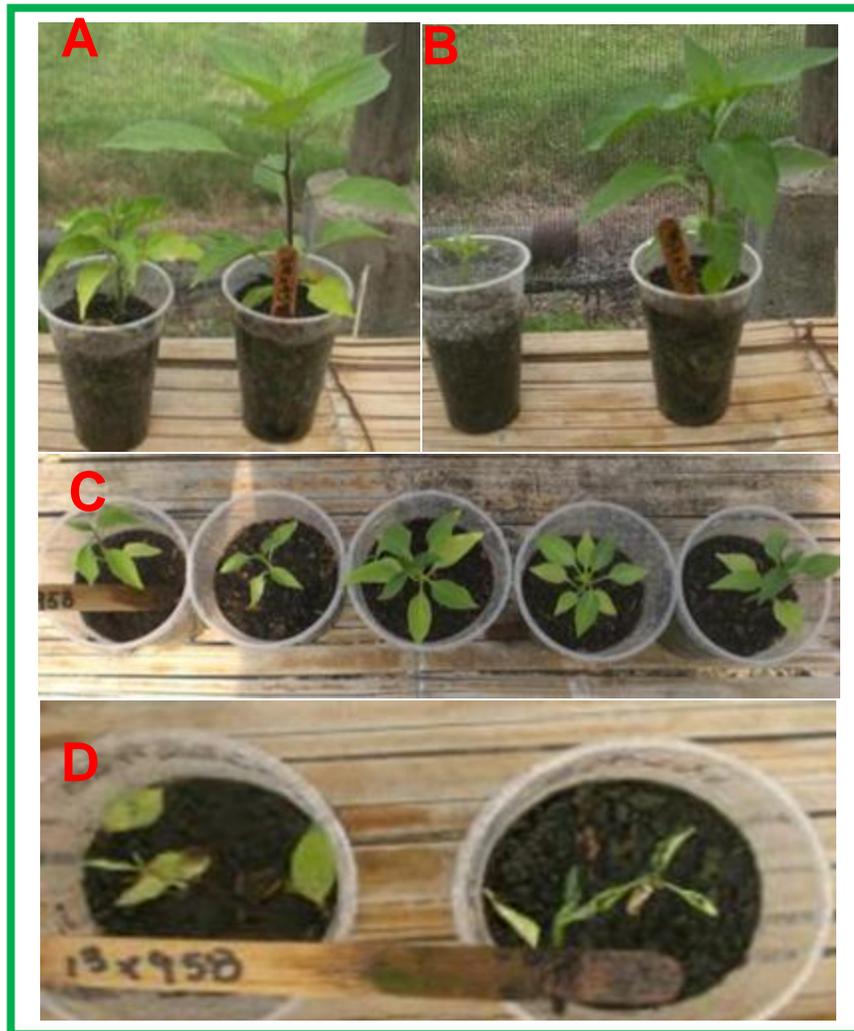


Figura 13. Accesiones inoculadas con el aislamiento FSM-58. A. Comparación Accesoión 24*959 Inoculada con el aislamiento FSM-58 de *Fusarium* spp. (Izquierda). Con el control sin Inoculo (Derecha). B. Comparación Accesoión 957*631 Inoculada con el aislamiento FSM-58 de *Fusarium* spp. (Izquierda) con el control sin Inoculo (Derecha). C. Accesiones 13*958 a los 4 días después de la inoculación. D. Accesiones 13*958 a los 15 días después de la inoculación.

Algunos estudios han sugerido que uno de los factores de resistencia se encuentra la quitinasa. Chaiyawat *et al.*, 2008, sugirió que la quitinasa en el líquido intracelular podría ser el responsable de la resistencia a *F. oxysporum* en plantas de pimentón cuando en su

investigación comparo los cambios de los patrones de isoenzimas con la severidad de la enfermedad en cuatro cultivares de *C. annuum* L, donde en los cultivares resistentes encontraron la presencia de esta encima. Cruz *et al.*, 2010, aislaron y caracterizaron los péptidos que se encuentran en las semillas de *C. annuum* y evaluaron sus actividades antifúngicas encontrando que hay un efecto inhibitorio en diversos hongos incluyendo *F. oxysporum* y *F. solani*.

4.6 Identificación.

4.6.1 Identificación morfológica.

- **Color de la superficie y reverso de la colonia en PDA.** Esta evaluación se realizó 8 días después de siembra en medio PDA, se observó la pigmentación de la superficie y el reverso de la colonia: Las colonias presentaron una pigmentación blanca, violetas y otras purpura oscuro, presentando una apariencia del micelio algodonosa.

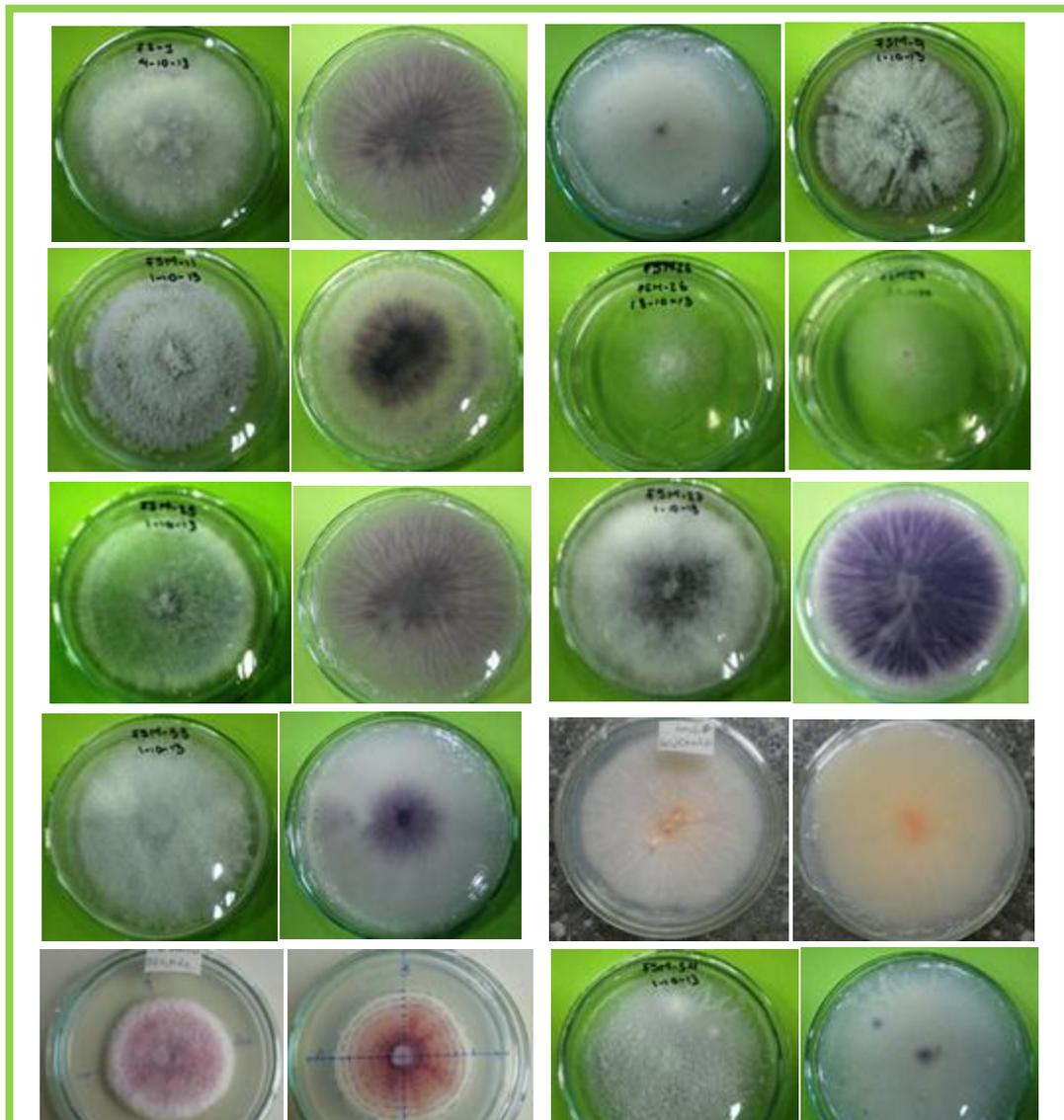


Figura 14. Aspecto de las Colonias. Color de la superficie (Izquierda) y reverso (derecha) de la colonia de aislamientos encontrados como patogénicos.

Leslie y Summerell (2006), describen varias especies que producen coloración violeta en medio PDA entre las que se encuentran *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani* y *F. subglutinans*, los cuales se han reportado afectando plantas de ají y pimentón alrededor del mundo.

- **Velocidad de crecimiento en medio PDA.**

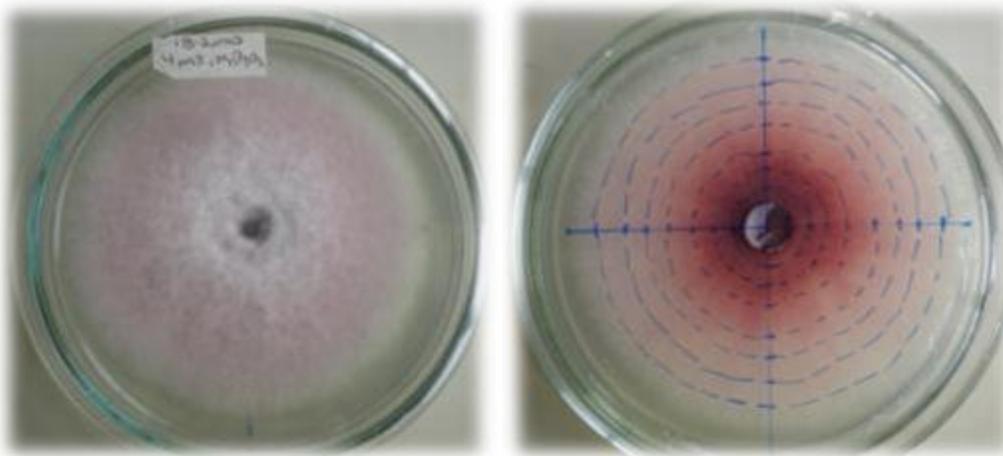


Figura 15. Índice de Crecimiento Micelial en colonias de *Fusarium* spp.

En la Tabla 6, se observan los valores obtenidos en las mediciones de diámetro de la colonia, lo cual nos indica que los aislamientos FSM-54, FSM-55, FSM-58 y FSM-66 con valores de 12.83 mm/día, 12.63 mm/día, 12.85 mm/día y 12.33 mm/día respectivamente, tuvieron los promedios en su crecimiento más altos, seguidos de los aislamientos de FSM-25 y FSM-18 con valores promedios de 10.33 mm/día y 10.09 mm/día. Los promedios de Índice de Crecimiento Micelial más bajos los tuvieron los aislamientos FSM-2 y FSM-11 con valores de 5.55 mm/día y 5.85 mm/día respectivamente.

Tabla 6. . Índice de Crecimiento Micelial Promedio de los Aislamientos seleccionados como patogénicos de *Fusarium* spp.

AISLADO	ICM PROMEDIO (mm/día)	AISLADO	ICM PROMEDIO (mm/día)
FSM-1	7,91	FSM-51	7,05
FSM-2	5,55	FSM-52	8,91
FSM-9	7,53	FSM-53	6,29
FSM-11	5,85	FSM-54	12,83
FSM-12	9,72	FSM-55	12,63
FSM-18	10,09	FSM-58	12,85
FSM-25	10,33	FSM-64	8,16
FSM-26	7,77	FSM-65	7,6
FSM-27	8,81	FSM-66	12,33
FSM-41	9,39	FSM-70	8,24

Se identificó además, la presencia o ausencia de clamidosporas en los cultivos de CLA y SNA, encontrándose que los aislamientos FSM-25 y FSM-55 (ver Tabla 7)

Tabla 7. Presencia o Ausencia de Clamidosporas de los Aislamientos.

AISLAMIENTO	CLAMIDOSPORAS - SNA		CLAMIDOSPORAS - CLA	
	PRESENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	AUSENCIA
FS-1	X			X
FS-2	X		X	
FS-6	X		X	
FS-9	X			X
FS-11	X		X	
FS-12	X		X	
FS-18				
FS-25		X		X
FS-26	X		X	
FS-27	X		X	
FS-41	X			X
FS-51	X			X
FS-52		X		X
FS-53	X		X	
FS-54	X		X	

FS-55		X		X
FS-58	X		X	
FS-64	X		X	
FS-65	X		X	
FS-66	X		X	
FS-70	X		X	

- **Dimensiones (ancho y longitud) de macroconidias y número de septos (Medios SNA y CLA).** Se realizó las medidas de macroconidias de los aislamientos seleccionados como patogénicos del genero *Fusarium* al germoplasma evaluado de *Capsicum* (Anexo 3), donde se midió en largo y ancho de 50 conidias y se contó el número de septos por conidia, además se identificó el tipo de estructuras observadas en cada aislamiento.
- **Registro Fotográfico de la Caracterización Morfológica**

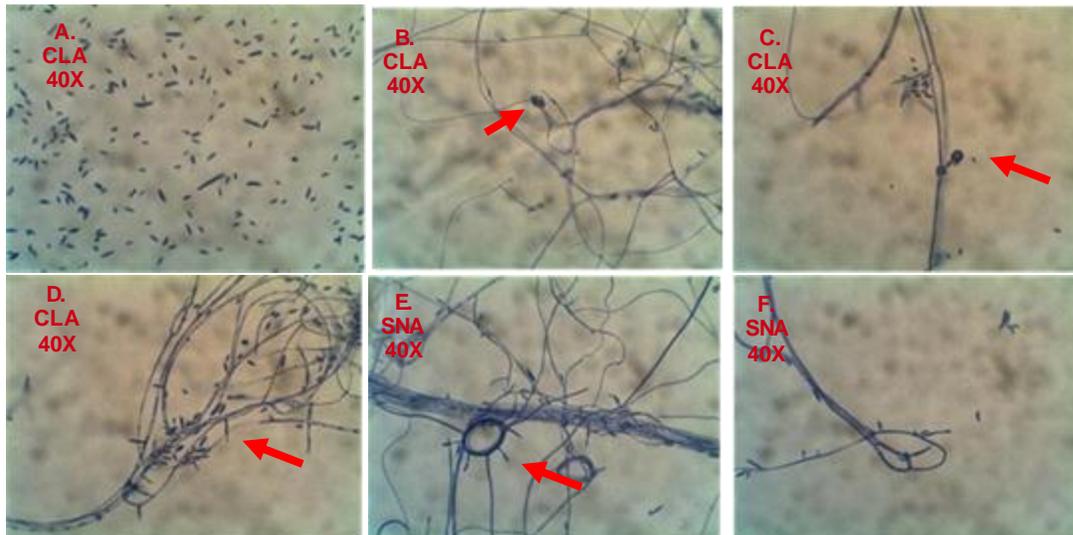


Figura 16. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-1. A. Abundantes microconídios en médío CLA. B-C. Falsas cabezas de microconidias. D y F. Monofialides. E. Hifas en espiral.

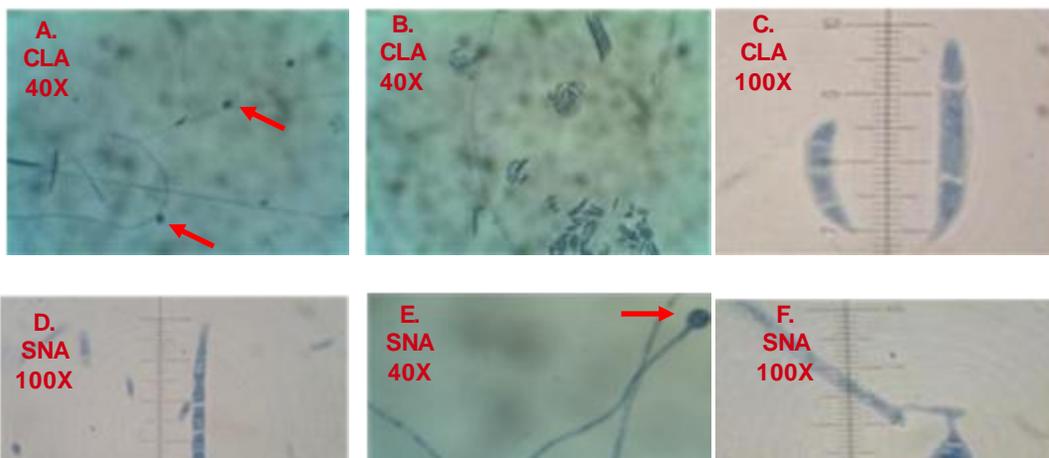


Figura 17. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-2. A - D. Microconidios, Mesoconidias y Macroconidias. E - F. Célula agrandada.

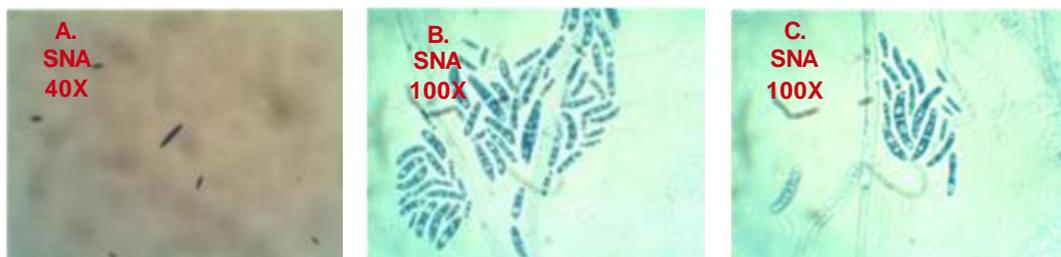


Figura 18. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-6. A-C. Microconidias y Mesoconidias.

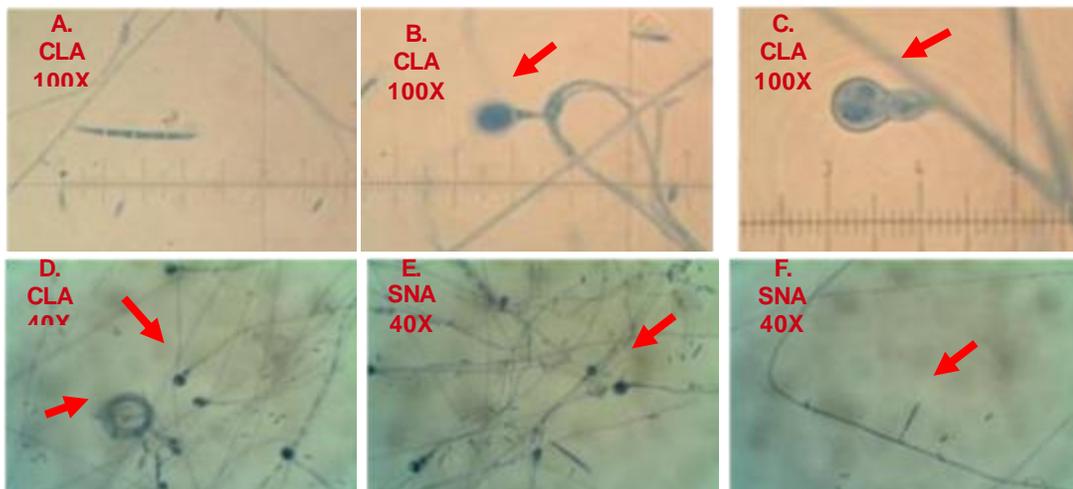


Figura 19. . Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-9. A. Macroconidia en medio CLA. B-C. Clamidosporas. D. Hifas en espiral y Células agrandadas. E. Clamidosporas y microconidias. F. Monofialides.



Figura 20. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-11. A-B. Polifialides. C. Hifas en espiral y Clamidosporas. D. Cadena de Clamidosporas Verrugosas. E. Polifialides en medio CLA.

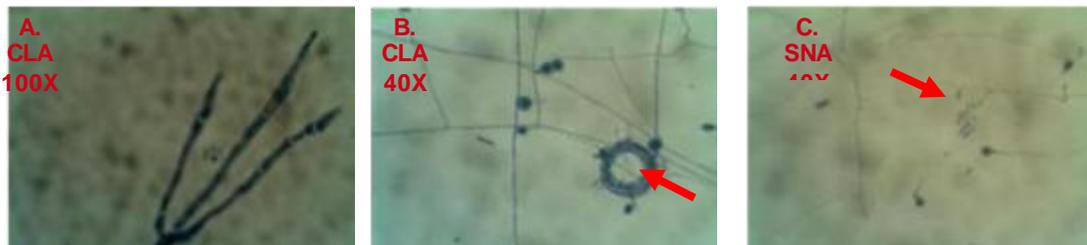


Figura 21. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-12. A. Conidioforo. B. Hifas en espiral y Clamidosporas verrugosas solas y en cadena. D. Microconidias y Mesoconidias en SNA.

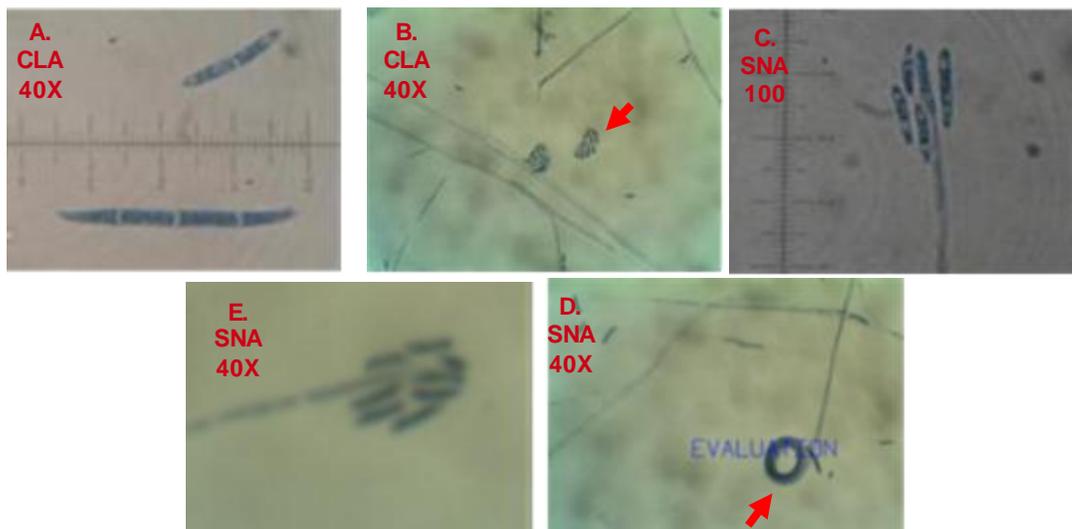


Figura 22. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-18. A. Macroconidias en CLA. B. Microconidias en CLA. C-D. Microconidias en SNA. E. Hifas en espiral.



Figura 23. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-25. A. Microconidias en cadena. B. Falsas cabezas de microconidias en CLA. C. Falide. D. Macroconidia. E. F. Hifas en espiral.

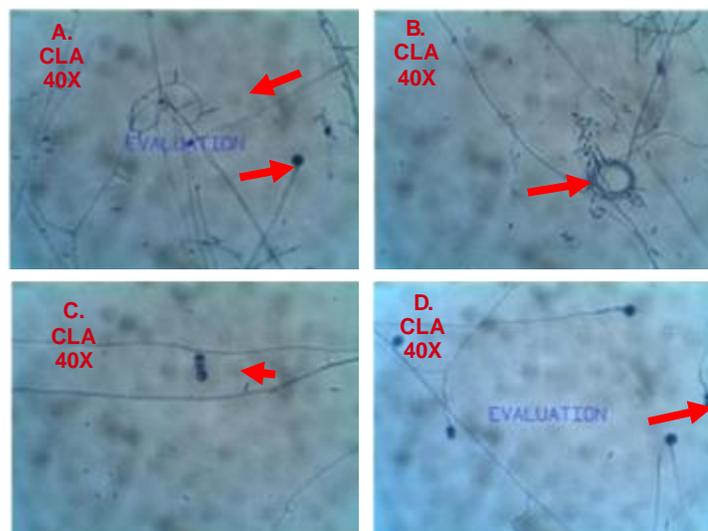


Figura 24. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-26. A. Monofialides y Clamidosporas solas. B. Hifas en espiral. C. Clamidosporas verrugosas en Cadena. D. Clamidosporas solas y en cadena.

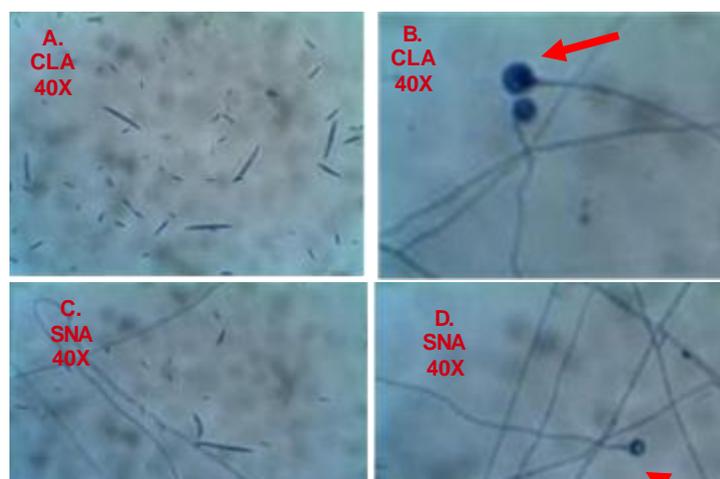


Figura 25. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-27. **A.** Microconidias y Macroconidias en medio CLA. **B.** Clamidosporas. **C.** Microconidias y Macroconidias en medio SNA. **D.** Clamidospora en medio SNA.

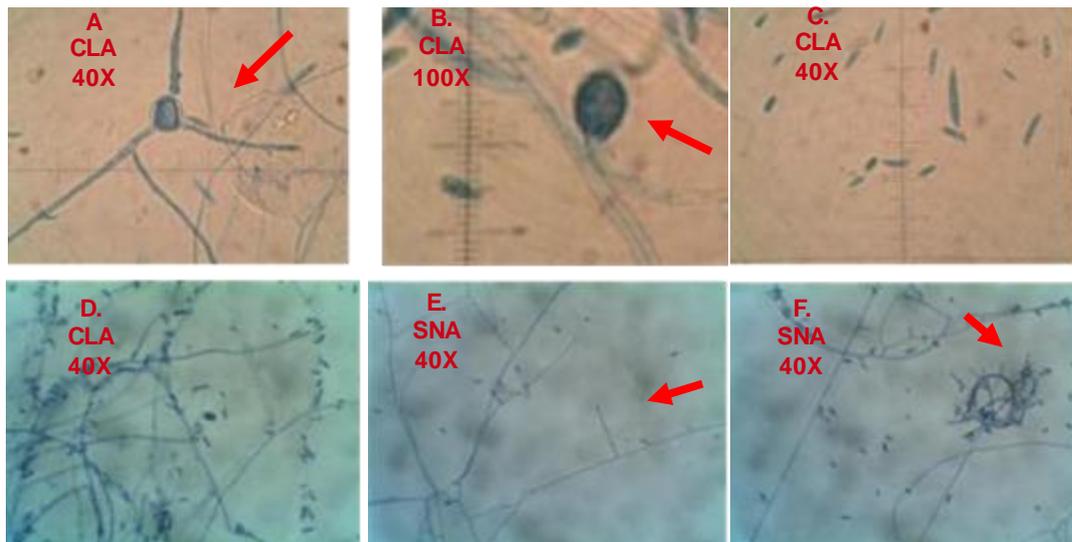


Figura 26. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-41. **A.** Estructura desconocida. **B.** Clamidospora verrugosa. **C – D.** Microconidias y Mesoconidias. **E.** Monofialide. **F.** Hifas en espiral.

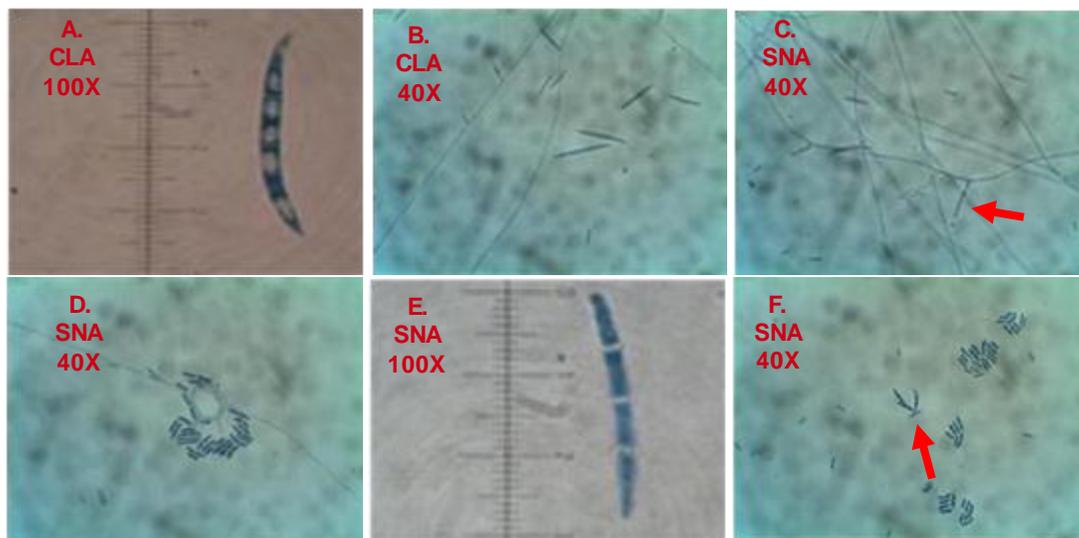


Figura 27. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-52. **A - B.** Macroconidias em médio CLA. **C.** Monofialides. **D.** Microconidias en SNA. **E.** Macroconidia en SNA. **F.** Microconidias en SNA.

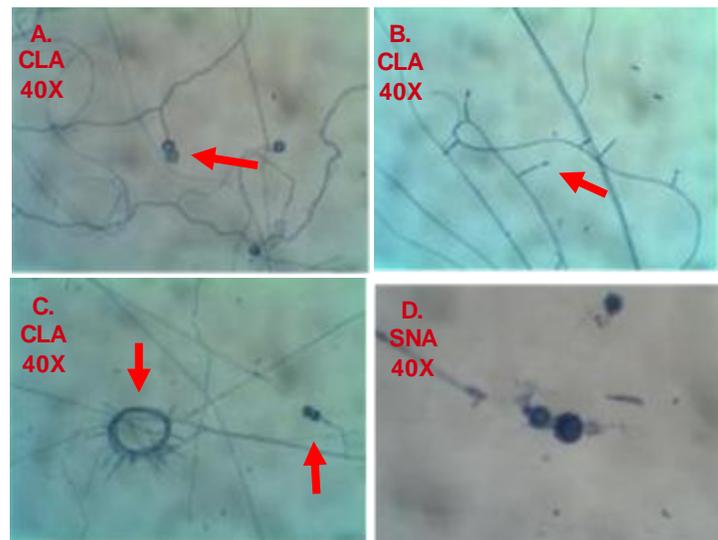


Figura 28. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-53. **A.** Clamidosporas verrugosas en cadena. **B.** Monofialides. **C.** Hifas em espiral. **D.** Clamidosporas verrugosas em SNA.

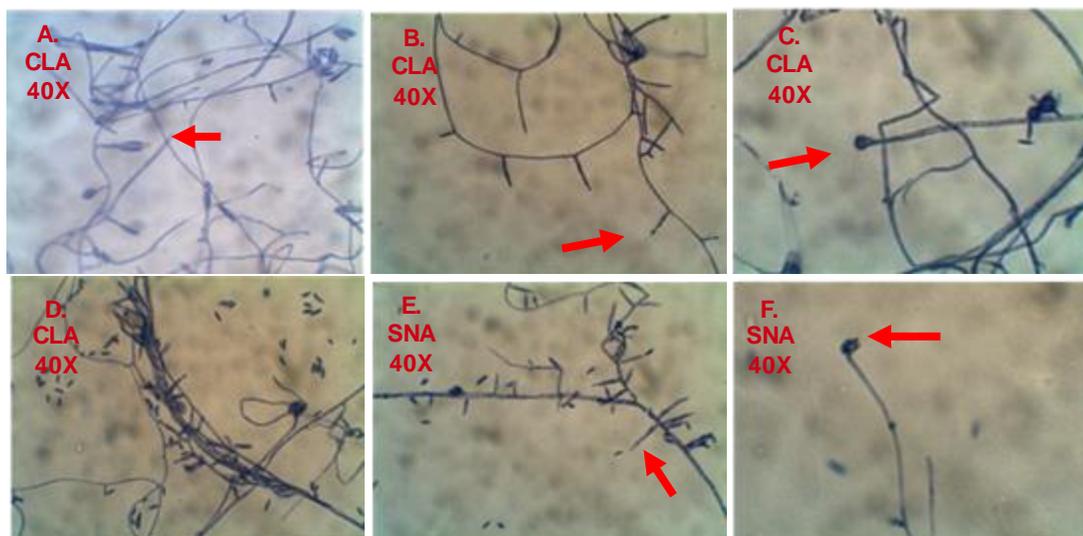


Figura 29. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-54. A-B. Monofialides en CLA. C. Clamidosporas verrugosas. D. Microconidias en CLA. E. Monofialides. F. Falsas cabezas.



Figura 30. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-55. A. Microconidias. B-C. Polifialides en CLA.

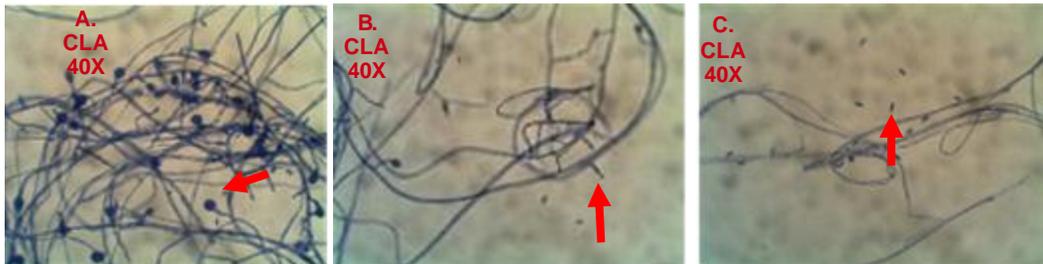


Figura 31. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-58. A. Clamidosporas en CLA. B. Monofialides. C. Microconidias.

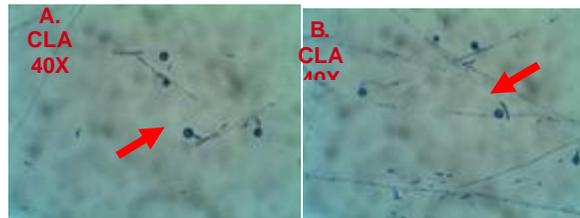


Figura 32. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-64. A-B. Clamidosporas.

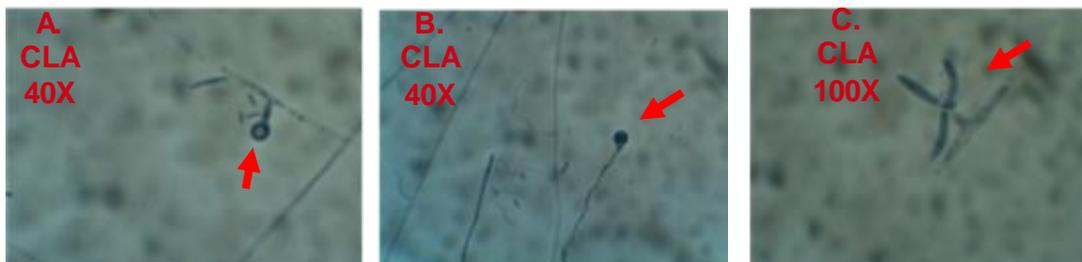


Figura 33. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-65. A. Mesoconidia y Clamidospora. B. Clamidospora. C. Polifialide.



Figura 34. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-66. A. Clamidosporas verrugosas. B. Microconidias y mesoconidias en CLA. C. Clamidosporas verrugosas en cadena. D. Microconidias en SNA. E. Microconidias, mesoconidias y clamidosporas en SNA.

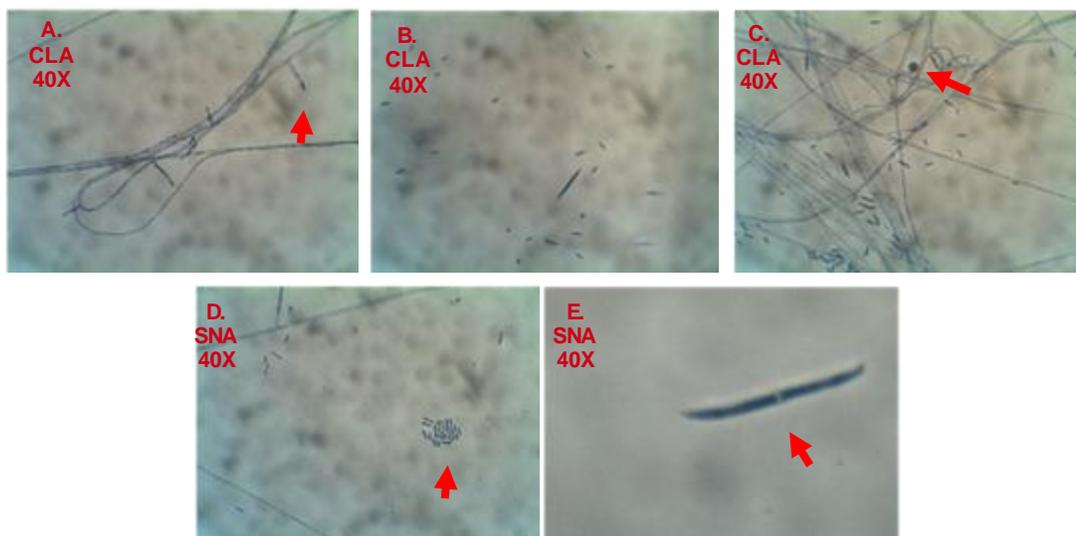


Figura 35. Estructuras encontradas en el aislamiento FSM-70. A. Monofialides en CLA. B. Mesoconidia en CLA. C. Clamidospora en CLA. D. Microconidias en SNA. E. Macroconidia en SNA.

Varios estudios de identificación del agente causal de la marchitez en especies de *Capsicum* han demostrado que hay diversos organismos asociados a esta enfermedad entre los que se han reportado *Phytophthora capsici*, *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *rodeolens*, *F. solani*, *F. chlamydosporum*, *F. sambucinum*, *F. lactis*, *F. proliferatum*, *Verticillium dahlia* (Yang *et al.*, 2009, 2010; Babay-Ahari, 2009; Attia, 2003; Black *et al.*, 1991). Rivelli (1989), reporto a *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici*, como una nueva forma especialis la cual fue

aislado de plantas de Tabasco (*Capsicum frutescense*) el cual se ha encontrado que es susceptible al marchitamiento y pudrición de raíz y base del tallo causado por especies de *Fusarium*.

Tabla 8. Características Morfológicas de los aislamientos Patogénicos de *Fusarium* spp.

AISLAMIENTO	SNA				CLA			
	RANGO ANCHO (um)	RANGO LARGO (um)	No. SEPTOS	TIPOS DE ESTRUCTURAS	RANGO ANCHO (um)	RANGO LARGO (um)	No. SEPTOS	TIPOS DE ESTRUCTURAS
FSM-1	2,9580 - 3,7336	12,1176 - 18,9119	1 - 2	MONOFIALIDES, MICROCONIDIAS, MESOCONIDIAS, CONIDIOFOROS	2,0059-3,6873	11,5953-17,8281	0 - 1	MONOFIALIDES, CONDIOS EN CADENA, MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS
FSM-2	2,2847 - 3,5656	28,7943 - 40,9734	3	MACROCONIDIOS, MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS	2,7347-3,5488	24,2537-38,4249	2 - 3	MACROCONIDIOS, MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS
FSM-6	3,01543-3,7643	15,3123-21,5376	1-2	MACROCONIDIOS, MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS	3,1252-3,8090	16,2493-23,5452	1-2	MACROCONIDIOS, MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS
FSM-9	1,7295 - 2,8551	16,3434 - 42,0194	1 - 3	MACROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, MICROCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS	2,2047-3,2634	15,2997-31,7841	1 - 3	MACROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, MICROCONIDIOS
FSM-11	2,2014 - 2,8992	19,5775-48,1946	2 - 3	MACROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, MICROCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS	2,2317-3,04153	15,2997-31,7841	2 - 3	MACROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, MICROCONIDIOS.
FSM-12	2,2451 - 5,1220	20,5103-33,2768	1 - 2	MACROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, MICROCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS	1,6922-1,9720	10,0472-18,8873	2	MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS
FSM-18	2,4276 - 3,5551	15,4355-27,1971	1 - 3	MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS	1,9606-4,0340	18,1503-27,4394	0 - 3	MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS
FSM-25	2,0899 - 3,4786	19,3528-66,2963	1 - 6	MACROCONIDIOS, MICROCONIDIOS EN CADENA	2,4028-2,9736	22,1994-34,7024	1 - 6	MACROCONIDIOS, MICROCONIDIOS EN CADENA

FSM-26	1,9568 - 2,6431	10,8453-18,4567	1-2	MICROCONIDIOS, MONOFIALIDES, CLAMIDOSPORAS EN CADENA	2,0244-2,7592	11,0619-20,4479	1 - 2	MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS
FSM-27	2,7727 - 3,3649	22,8541-45,0947	1 - 3	CLAMIDOSPORAS, MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS	2,7727-3,1252	18,2747-44,2254	1 - 4	CLAMIDOSPORAS, MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS
FSM-41	2,5449-2,7017	13,095-16,059	1	MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS	2,1322-3,4113	13,5554-21,0601	1-3	MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS, MONOFIALIDES
FSM-52	2,8551 - 3,5551	18,8377-42,7275	1 - 3	MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS, MONOFIALIDES	2,2048-3,0648	11,3949-29,0883	1 - 3	MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS
FSM-53	2,1775 - 2,9555	11,4734-15,5701	1	MICROCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS, MONOFIALIDES	1,8507-2,64	11,5468-17,8411	1 - 3	MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS
FSM-54	2,9580 - 3,7675	14,8849-22,9904	1 - 3	MICROCONIDIOS, MONOFIALIDES, POLIFIALIDES	2,5213-3,2243	6,5003-16,6260	0-1	MICROCONIDIOS, MONOFIALIDES
FSM-55	2,9580 - 3,7516	17,0576-25,7731	0 - 3	MONOFIALIDES, MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS	1,9143-2,8656	14,7867-21,7467	0 - 2	MICROCONIDIOS, MESOCONIDIOS
FSM-58	2,6258-3,6791	13,3615-14,7014	0-1	CLAMIDOSPORAS EN CADENA, MONOFIALIDES, MICROCONIDIOS	1,6635-2,4491	7,0377-7,2167	0-1	CLAMIDOSPORAS, MICROCONIDIOS
FSM-64	2,1637 - 2,8235	16,5195-19,7767	1 - 2	MICROCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS, MONOFIALIDES	1,8181-2,7484	13,3121-21,7725	0 - 2	CLAMIDOSPORAS, MICROCONIDIOS, MONOFIALIDES
FSM-65	1,7638 - 2,7727	10,6745-15,9609	1 - 3	CLAMIDOSPORAS, MICROCONIDIAS	2,5212-3,3381	17,4117-23,5137	0 - 3	CLAMIDOSPORAS, MICROCONIDIAS

FSM-66	2,6933-3,6791	16,8659-22,8331	1-2	MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS	2,5212-3,3381	17,4117-23,5137	1-2	MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS, CLAMIDOSPORAS
FSM-70	2,2847-3,0939	17,0629	1-2	MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS, MONOFIALIDES, CLAMIDOSPORAS	2,2149-2,9454	18,5239-27,7704	0-2	MICROCONIDIOS, MACROCONIDIOS, MONOFIALIDES, CLAMIDOSPORAS

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- De los 70 aislamientos, se identificaron 21 que están asociados a la marchitez y pudrición de raíz y base del tallo en plantas de *Capsicum* en regiones productoras del Valle del Cauca.
- El método de inoculación a la raíz con corte, fue el más eficiente y práctico para inocular los aislamientos de *Fusarium* spp en especies de *Capsicum*.
- De las 38 accesiones evaluadas, las accesiones 12-13, 7-17, 70*959 y CAY45 fueron clasificadas como altamente resistentes a *Fusarium* spp., y las accesiones 12-17 y 957-632 presentaron una resistencia moderada a este patógeno. Estas accesiones pueden ser utilizadas como padres donantes en el proceso del mejoramiento del ají con resistente a la Pudrición de la raíz y base del tallo causado por *Fusarium* spp.
- Teniendo en cuenta, que este material ya se había evaluado para determinar la resistencia a *Phytophthora capsici*, este germoplasma se constituye una fuente de resistencia promisoría en programas de mejoramiento genético enfocado a el control de esta enfermedad.
- Las pruebas de patogenicidad y resistencia bajo condiciones controladas son importantes para la identificación de fuentes de resistencia a la enfermedad en programas de mejoramiento para el desarrollo de variedades con fuentes de resistencia a *Fusarium* spp.

5.2 Recomendaciones

- Evaluar el germoplasma resistente al aislamiento FSM-58 con los demás aislamientos de *Fusarium* spp. que resultaron patogénicos.
- Evaluar la resistencia en campo del germoplasma obtenido.
- Utilizar el germoplasma resistente obtenido, como fuentes de resistencia a *Fusarium* spp.

A. Anexo: Lista de aislamientos.

CODIGO	PROCEDENCIA	FECHA DE COLECTA	VARIEDAD	EDAD CULTIVO	UBICACION GEOGRAFICA
FS-1	BOLIVAR	11 de febrero de 2009	Golazo (Hibrido)	4 meses (500 m, 2.300 plantas)	4°22'9,5" N 76°14'53,1" W 1629msnm
FS-2	BOLIVAR	11 de febrero de 2009	Golazo (Hibrido)	4 meses (500 m, 2.300 plantas)	4°22'9,5" N 76°14'53,1" W 1629msnm
FS-3	BOLO	18 febrero de 2009			
FS-4	BOLO	18 febrero de 2009			
FS-5	DAGUA	28 de julio 2008	TABASCO	1 AÑO	3°46'48,2" N 76°44'43,7" W 454msnm
FS-6	DAGUA	28 de julio 2008	TABASCO	1 AÑO	3°46'48,2" N 76°44'43,7" W 454msnm
FS-7	DAGUA	28 de julio 2008	TABASCO	1 AÑO	3°46'48,1" N 76°44'43,9" W 455msnm
FS-8	DAGUA	28 de julio 2008	TABASCO	1 AÑO	3°46'48,1" N 76°44'43,9" W 455msnm
FS-9	DARIEN	4 Agosto de 2008	AJI HABANERO	4 MESES	3° 58' 5,8" N 76° 25' 50,1" W 1534msnm
FS-10	DARIEN	4 Agosto de 2008	AJI HABANERO	4 MESES	3° 58' 5,8" N 76° 25' 50,1" W 1534msnm
FS-11	DARIEN	4 Agosto de 2008			3° 56' 51,6" N 76° 29' 11,1" W 1638msnm
FS-12	DARIEN	4 Agosto de 2008			3° 56' 51,6" N 76° 29' 11,1" W 1638msnm
FS-13	DARIEN	4 Agosto de 2008			3° 56' 51,6" N 76° 29' 11,1" W 1638msnm
FS-14	DARIEN	4 Agosto de 2008			3° 56' 51,6" N 76° 29' 11,1" W 1638msnm
FS-15	DARIEN	4 Agosto de 2008			3° 56' 51,6" N 76° 29' 11,1" W 1638msnm

FS-16	DARIEN	4 Agosto de 2008			3° 56' 51,6" N 76° 29' 11,1" W 1638msnm
FS-17	DARIEN	4 Agosto de 2008			3°56'51,1" 76°29'11,1" 1638msnm
FS-18	DARIEN	4 Agosto de 2008			3°56'51,1" 76°29'11,1" 1638msnm
FS-19	DARIEN	4 Agosto de 2008			3°56'59,1" 76°29'11,6" 1642msnm
FS-20	DARIEN	4 Agosto de 2008			3°56'59,1" 76°29'11,6" 1642msnm
FS-21	DARIEN	4 Agosto de 2008			3°56'56,1" 76°29'11,6" 1642msnm
FS-22	DARIEN	4 Agosto de 2008			3°56'56,1" 76°29'11,6" 1642msnm
FS-23	DARIEN	4 Agosto de 2008			3°56'56,1" 76°29'11,6" 1642msnm
FS-24	SANTA ELENA	22 marzo de 2008			
FS-25	SANTA ELENA	22 marzo de 2008			
FS-26	SANTA ELENA	22 marzo de 2008			
FS-27	SANTA ELENA				
FS-28	VIJES	25 AGOSTO DE 2008	CAYENE		3°41'48" N 76°26'11,4" W 985msnm
FS-29	VIJES	25 AGOSTO DE 2008	CAYENE		3°41'47,3" N 76°26'11,2" W 980msnm
FS-30	VIJES				
FS-31	VIJES				
FS-32	UNION				
FS-33	UNION				
FS-34	UNION				
FS-35	UNION	25 AGOSTO DE 2008	JALAPENO ISTAPA	ESTADO FINAL	76°28'55,1" 990msnm
FS-36	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	JALAPENO ISTAPA	ESTADO FINAL	76°28'55,1" 990msnm
FS-37	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 41,4" 76° 28' 5,5" 1002msnm
FS-38	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 41,3" 76° 28' 6,5" 1005msnm

FS-39	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 41,3" 76° 28' 6,5" 1005msnm
FS-40	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 41,3" 76° 28' 6,5" 1005msnm
FS-41	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 40,8" 76° 28' 6,0" 1006msnm
FS-42	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 40,8" 76° 28' 6,0" 1006msnm
FS-43	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 40,8" 76° 28' 6,0" 1006msnm
FS-44	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON		3° 39' 40,8" 76° 28' 6,0" 1006msnm
FS-45	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON NATALY	2 MESES	3° 38' 15,3" 76° 28' 52,3" 1021msnm
FS-46	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON NATALY	3 MESES	3° 38' 15,3" 76° 28' 52,3" 1021msnm
FS-47	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON NATALY	4 MESES	3° 38' 15,3" 76° 28' 52,3" 1021msnm
FS-48	YUMBO	25 AGOSTO DE 2008	PIMENTON NATALY	5 MESES	3° 38' 15,3" 76° 28' 52,3" 1021msnm
FS-49	YUMBO				
FS-50	YUMBO				
FS-51	YUMBO				
FS-52	YUMBO				
FS-53	YUMBO				
FS-54	YUMBO				
FS-55	YOTOCO	11 DE AGOSTO DE 2008	HABANERO	1 año (1 ha)	3° 54' 45,6" 76° 26' 9,9" 1567msnm
FS-56	YOTOCO	11 DE AGOSTO DE 2008	HABANERO	1 año (1 ha)	3° 54' 45,6" 76° 26,5' 9" 1567msnm
FS-57	YOTOCO	11 DE AGOSTO DE 2008	HABANERO	1 año (1 ha)	3° 54' 44,8" 76° 26' 11,8" 1576msnm
FS-58	YOTOCO	11 DE AGOSTO DE 2008	HABANERO		3° 58' 26,3" 76° 23' 25" 1636msnm
FS-59	YOTOCO	11 DE AGOSTO DE 2008	HABANERO		3° 58' 26,3" 76° 23' 25" 1637msnm
FS-60	PITAYO				
FS-61	PITAYO				

FS-62	PITAYO				
FS-63	PITAYO				
FS-64	CEUNP				
FS-65	CEUNP				
FS-66	CEUNP				
FS-67	VIJES	25 AGOSTO DE 2008	CAYENE		3°41'47,3" N 76°26'11,2" W 980msnm
FS-68	VIJES	25 AGOSTO DE 2008	CAYENE		3°41'47,3" N 76°26'11,2" W 980msnm
FS-69	TULUA				
FS-70	CEUNP				

B. Anexo: Porcentaje de Incidencia y Severidad de Cayenne y California Wonder.

TRATAMIENTO	% INCIDENCIA CAYENNE	% SEVERIDAD CAYENNE	%INCIDENCIA CALIF WON	% SEVERIDAD CALIF WON
FS-1	75,00	90,00	66,67	66,67
FS-2	100,00	80,00	100,00	100,00
FS-3	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-4	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-5	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-6	100,00	60,00	41,67	8,33
FS-7	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-8	100,00	20,00	50,00	10,00
FS-9	100,00	100,00	100,00	80,00
FS-10	66,67	13,33	58,33	11,67
FS-11	100,00	58,33	75,00	35,00
FS-12	100,00	55,00	75,00	60,00
FS-13	100,00	20,00	0,00	0,00
FS-14	0,00	0,00	100,00	40,00
FS-15	0,00	0,00	100,00	40,00
FS-16	0,00	0,00	100,00	40,00
FS-17	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-18	100,00	80,00	100,00	100,00
FS-19	66,67	0,00	58,33	13,33
FS-20	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-21	100,00	21,67	0,00	0,00
FS-22	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-23	100,00	40,00	0,00	0,00
FS-24	100,00	20,00	0,00	0,00
FS-25	100,00	60,00	0,00	0,00
FS-26	100,00	60,00	100,00	60,00

FS-27	100,00	60,00	100,00	60,00
FS-28	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-29	100,00	20,00	0,00	0,00
FS-30	100,00	33,33	0,00	0,00
FS-31	100,00	40,00	50,00	20,00
FS-32	100,00	45,00	0,00	0,00
FS-33	50,00	0,00	50,00	20,00
FS-34	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-35	66,67	13,33	0,00	0,00
FS-36	75,00	15,00	0,00	0,00
FS-37	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-38	58,33	11,67	0,00	0,00
FS-39	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-40	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-41	100,00	73,33	50,00	10,00
FS-42	100,00	33,33	100,00	20,00
FS-43	100,00	23,33	100,00	20,00
FS-44	100,00	33,33	100,00	20,00
FS-45	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-46	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-47	58,33	11,67	0,00	0,00
FS-48	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-49	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-50	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-51	100,00	100,00	100,00	21,67
FS-52	100,00	100,00	100,00	20,00
FS-53	100,00	100,00	100,00	20,00
FS-54	100,00	100,00	100,00	20,00
FS-55	100,00	100,00	100,00	100,00
FS-56	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-57	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-58	100,00	100,00	100,00	100,00
FS-59	0,00	0,00	100,00	20,00
FS-60	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-61	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-62	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-63	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-64	100,00	100,00	100,00	60,00
FS-65	100,00	100,00	100,00	60,00
FS-66	100,00	100,00	100,00	40,00

FS-67	100,00	25,00	100,00	20,00
FS-68	100,00	23,33	100,00	40,00
FS-69	0,00	0,00	0,00	0,00
FS-70	100,00	100,00	100,00	100,00

Bibliografía

- [1] **AGARWAL, P. C.; USHA D., B. S.; INDRA R., D. C.; KHETARPAL, R. K.** (2007). Seed-borne fungi identified from exotic pepper (*Capsicum* spp.) germplasm samples introduced during 1976-2005. *Plant Genetic Resources Newsletter*. No. 149, pp. 39-42, 11.
- [2] **AHMED, N.; TANKI, M.I. AND MIR, N.M.** (1994). Screening of advance breeding lines of chilli and sweet and hot pepper cultivars against *Fusarium* wilt. En: *Plant Disease Research*, Vol. 9, No. 2, p. 153-154, 1 ref.
- [3] **AGRIOS, G.N.** (2005). *Plant pathology*. Fifth edition. Elsevier Academic Press, California, USA. 922 p.
- [4] **APOCADA S., M.A.; ZAVALETA M., E.; OSADA K., S.; GARCÍA E., R. AND VALENZUELA U., J. G.** (2004 (a)). Hospedantes Asintomáticos de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. radialis-lycopersici W.R. Jarvis y Shoemaker en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol: 22, Nº 001. p. 7-13
- [5] **APOCADA S., M.A.; ZAVALETA M., E.; OSADA K., S.; GARCIA E., R. AND VALENZUELA U., J. G.** (2004 (b)). Pudrición de la Corona del Chile (*Capsicum annum* L.) en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 22, Nº 001. p. 22-29
- [6] **ATLAS, RONALD M.; SYNDER, J.M.** (2006). *Biological Sciences. Handbook of Media for Clinical Microbiology*. Second Edition. Taylor & Francis Group. 524p

- [7] **BOOTH, C.** (1971). The genus *Fusarium* Ed. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237p.
- [8] **BOOTH, C.** 1975. The Present Status of *Fusarium* Taxonomy. *Annu. Rev. Phytopathol.* 13:83-93.
- [9] **BOSLAND, P. W. y VOTAVA, E.J.** 2000. Peppers: Vegetable And Spice *Capsicums*. CABI, Nueva York. 204p.
- [10] **CAMINO, V., Depestre, T., Espinosa, J.** 1987. Search for *Capsicum annuum* susceptibility to *Fusarium*. *Capsicum. Newsletter, No. 6, pp. 70,2 ref.*
- [11] **CASANOVA, A Y J. R. Savón.** 1995. Producción biointensiva de hortalizas. *Revista Agricultura Orgánica.*1 (3): 13-16.
- [12] **CASTAÑO ZAPATA, J.** Prácticas de Laboratorio de Fitopatología. Manizales: Universidad de Caldas, 1998. Manizales. 103p
- [13] **CASTELLANI, A.** 1963. Further Researches on the long viability and growth of many pathogenic fungi and some bacteria in the sterile distilled water. *Mycopathologia. Den Haag.* V. 20. P 1-6. 1963.
- [14] **CHA, Sang-Do; Jeon, Young-Jae; Ahn, Geum-Ran; Han, Jae-In; Han, Kap-Hoon; Kim, Seong-Hwan.** 2007. Characterization of *Fusarium oxysporum* Isolated from Paprika in Korea. *Mycobiology* 35(2): 91-96.
- [15] **CHAIYAWAT, P., Boonchitsirikul, C., and Lomthaisong, K. S.** 2008. An investigation of a defensive chitinase against *Fusarium oxysporum* in pepper leaf tissue. *Mj. Int. J. Sci. Tech.* 2(01), 150-158
- [16] **EDWARDS, K.; JOHNSTONE, C. AND THOMPSON, C.** 1991. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Plant Biotechnology*

Section, ICI Seeds, Jealott's Hill Research Station, Bracknell, Berks, UK. *Nucleic Acids Research*, Vol. 19, No. 6

[17] **ELMER, WADE H. AND McGovern, Robert J.** 2004. Efficacy of integrating biological with fungicides for the suppression of *Fusarium* wilt of cyclamen. *Crop Protection* 23: 909-914.

[18] **ESCALONA, Y.; RODRIGUEZ, D.; CONTRERAS, N.; JIMENEZ, N.** 2006. Molecular detection of *Fusarium subglutinans*, the causal organism of internal fruit rot in greenhouse peppers. *Bioagro* 18 (1):3-13.

[19] FAOSTAT database. 2007. (3 de octubre de 2009). Disponible en <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>.

[20] **FOURIE, G., STEENKAMP, E.T., PLOETZ, R.C., GORDON, T. R., AND VILJOEN, A.** 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

[21] **GEISER, DAVID M.; JIMENEZ-GASCO, M. M.; KANG, S.; MAKALOWSKA, IZABELA; VEERARAGHAVAN, N.; WARD, T. J.; ZHANG, N.; KULDAU, G. A.; O'DONNELL, K.** (2004). *FUSARIUM-ID* v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology* 110: 473–479.

[22] **GÖCMEN, M.; ABAK, K.** 2006. Determine the genotypes resistant to *Fusarium solani* in pepper (*Capsicum annumm* L.). *Bahce*, Vol. 35, N°.1/2, p. 1-8, 14 ref.

[23] **GONZÁLEZ C., M. M.; TORRES P., I.; GUZMÁN M., H.** 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)

[24] **GONZÁLEZ C., M. M., VILLORDO P., E., TORRES-P., I., DELGADILLO S., F., RODRÍGUEZ G., R., GUZMÁN M., S.H., PONS H., J.L., GUEVARA G., R.G. Y**

GUEVARA O., L. 2007. Búsqueda de genotipos resistentes a patógenos de raíz causantes de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.). En: Gaceta del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato (CONCYTEG). Pp. 2-12. Artículo de divulgación.

[25] **GONZÁLEZ V., C. A.; SELEME, F. V.; JURI, C. M.** 2002. Relevamiento de Patógenos causante de Enfermedades en Pimiento (*Capsicum annuum*) para Pimentón en la Provincia de Catamarca. Universidad Nacional de Catamarca CONGRESO REGIONAL de ciencia y tecnología NOA. Secretaría de Ciencia y Tecnología. COMUNICACIONES CIENTÍFICAS. Sección: Ciencias de la Ingeniería, Agronomía y Tecnología.

[26] **GOOSEN, T. AND DEBETS, F.** Molecular genetics analysis. EN: BOS, C.J. Fungal Genetics. Principles and Practice. BOS, C.J. 1996. p. 97 - 117.

[27] **JABEEN, N.; AHMED, N.; KHAN, S.H.; CHATTOO, M.A.; SOFI, P.A.** 2007. Inheritance of resistance to *Fusarium* wilt (*Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Saac.) in chilli (*Capsicum annuum* L.). Div. of Olericulture. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (India).v. 67(4) p.334-336

[28] **JABEEN, N., AHMED, N., GHANI, M.Y., SOFI, P.A.** (2009). Role of phenolic compounds in resistance to chilli wilt. *Communications in Biometry and Crop Science* 4 (2), 52–61.

[29] **JARAMILLO N. J.** 2001. Hortalizas Plagas y enfermedades. El Manejo agronómico de cultivos como herramienta de manejo integrado de plagas y enfermedades tendientes a la producción limpia de hortalizas. Rio Negro, Impresos Begon Ltda. CORPOICA SOCOLEN.

[30] **JONES, M, M; Black, L.L.** 1992. Source of resistance among *Capsicum* spp. to *Fusarium* wilt of pepper. *Capsicum* Newsletter, No. 11, pp. 33-34, 2 ref.

- [31] **KASSAWARA M., MAYRA** 2005. Variabilidade Genética de isolados de *Fusarium* spp. e estudo da Interação com a Planta Hospedeira. TESIS. 124p.
- [32] **KELAIYA D. S. AND PARAKHIA A. M.** 2000. Screening of Chilli Varieties Against *Fusarium* Wilt. Department of Plant Pathology, Gujarat Agricultural. University. Junagadh. *GAU Res. J.* 25 (2) 101-102
- [33] **LESLIE, JOHN F. AND SUMMERELL, BRETT A.** 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing. 388p.
- [34] **LUGO, ZUNILDE C. Y SANABRIA, N. H.** 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.
- [35] **MA, Z., MICHALIDIDES, T.J.,** 2005. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Prot.* 24, 853–863.
- [36] **MICHELSE, C. B. YREP, M.** 2009. Pathogen profile. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Blackwell Publishing Ltd. DOI: 10.1111/J.1364-3703.2009.00538.X *MOLECULAR PLANT PATHOLOGY* 10 (3), 311–324
- [37] **MILLER, SALLY A.; ROWE, R.C.; RIEDEL, R.M.** 1996. “*Fusarium* and *Verticillium* Wilts of Tomato, Potato, Pepper, and Eggplant”. Extension Fact Sheet. The Ohio State University. HYG-3122-96. 3p.
- [38] **MORETTI N., A.** 2009. Taxonomy of *Fusarium* Genus, A Continuous Fight Between Lumpers And Splitters. Institute os Sciences of Food Production, ISPA-CNR. Proc. Nat. Sci, MaticaSrpska Novi Sad, N° 117, 7-13, 2009.
- [39] **MORETTI, A AND SUSCA, A.** *Fusarium*. En: DONGYOU LIU. MOLECULAR DETECTION OF FOODBORNE PATHOGENS. United States of America: Dongyou Liu. 2010. p. 577 - 592.

- [40] **MUSHTAQ, M. AND M. H. HASHMI.** (1997). Fungi associated with wilt disease of capsicum in Sindh, Pakistan. *Pakistan Journal of Botany* 29(2): 217-222. Dep. Botany, Univ. Karachi-75270.
- [41] **MUSHTAQ, M. NAHAR, S. AND PATHAN, I. H.** 2004. Seed-borne mycoflora of *capsicum annum* imported from India. *Pak. J. Bot.*, 36(1): 191-197.
- [42] **NAYEEMA, J.; AHMED, N.; TANKI, M.I.; DAR, G.M.** 1996. Screening Of hot Pepper Germplasm For Resistance To *Fusarium* Wilt (*Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc.). *Capsicum & Eggplant Newsletter*, No. 14, pp. 68-71, 3 ref.
- [43] **NELSON, P. E.; DIGMANI, M. CECILIA AND ANAISSIE, ELIAS J.** 1994. Taxonomy, Biology, and Clinical Aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 7 (4) 479-504.
- [44] **NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A.; MARASAS, W.F.O.** 1983. *Fusarium* Species. An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University. 266p.
- [45] **NUEZ V., F.; GIL O. R. Y COSTA G. J.** El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Barcelona, España. Ediciones Mundi Prensa Libros
- [46] **OELKE, L. M. AND BOSLAND, P. W.** 2001. *Fusarium* Disease of *Capsicum*. *Capsicum & Eggplant Newsletter*, No. 20, pp. 86-89, 19 ref.
- [47] **PÉREZ - HERNÁNDEZ, A.; SERRANO-ALONSO, Y.; AGUILAR-PÉREZ, M. I.; GÓMEZ, R. M.; GÓMEZ - VAZQUEZ, J. M.** Damping-off and Root Rot of Pepper Caused by *Fusarium oxysporum* in Almería Province, Spain. [Plant Disease](#) Accepted for publication Posted online on 4 Apr 2014, First Look. [Plant Disease](#) Dec 2013, Volume 97, Number 12

- [48] **RAMIREZ, M.L; CHULZE, S. Y MAGAN, N.** 2004. Impact of environmental factors and fungicides on growth and deoxivalenol production by *Fusarium graminearum* isolates from Argentinian wheat. *Crop Protection* 23 (2004) 117–125.
- [49] **RIVELLI, V.** 1989. A wilt of pepper incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* forma speciales nova. M. S. Thesis. Louisiana State University. Baton Rouge. 71 pp.
- [50] **RIVERA JIMENEZ, M. N.** 2009. Marchitez del Chile Poblano (*Capsicum annum* L.): Identificación Molecular del Agente Causal, Identificación en Semillas, Histopatología y Alternativas de Control. MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO. TESIS. 98 pp.
- [51] **SAHA S. R., RASHID M. H., YASMIN L., ALAM M. M.ANDHOSSAIN M.A.** 2007. *Disease Insect Reactions of Sweet Pepper under the Field Conditions of Bangladesh*. *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 2(6): 06-09
- [52] **SANTOS J., P.** 2010. ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE *Phytophthora capsici* Leo. Y *Fusarium solani* Mart. EN EL CULTIVO DEL CHILE (*Capsicum annum* L.). MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO. TESIS. 62pp.
- [53] **SEIFERT, K.** 1996. *Fusarium* Interactive Key. Agriculture and Agri-Food Canada. P 65.
- [54] **SEMPERE, F. Y SANTAMARINA, M. P.** 2009. The conidia formation of several *Fusarium* species. *Annals of Microbiology*, 59 (4) 663-674.
- [55] **SHCHERBAKOVA, L. A.** Advanced methods of plant pathogen diagnostics. EN: Dyakov, Yu. T., Dzhavakhiya, V. G. y Korpela, T. 2007. *Comprehensive and Molecular Phytopathology*. Netherlands: 2007. Pag 75-116.
- [56] **SHERF, ARDEN F. AND MAC NAB, ALAN A.** 1986. PEPPER, p 502-543. En: *VEGETABLE DISEASES AND THEIR CONTROL*. 2ª Edicion. New York, Wiley. 728pp.

- [57] **SINGH, A. Y SINGH A. K.** 1998. Screening of chilli germplasm against *Fusarium* wilt. Crop Research (Hisar), Vol. 15, No. 1, pp. 132-133, 1 ref.
- [58] **SMUDJA, M.** 1999. Epidemiology of *Fusarium* Fruit and Stem Rot of Greenhouse Grown Sweet Pepper. The University of British Columbia. Tesis. 108 pp.
- [59] **SONG, W.; ZHOU, L.; YANG, C.; CAO, X.; ZHANG, L.; LIU, X.** 2004. Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. Crop Protection 23 (2004) 243–247
- [60] **SUGA, H., NAKAJIMA, T., KAGEYAMA, K., HYAKUMACHI, M.** 2011. The genetic profile and molecular diagnosis of thiophanate-methyl resistant strains of *Fusarium asiaticum* in Japan. Fungal biology 115 1244-1250.
- [61] **SUMMERELL, BRETT A.**, Baharuddin, Salleh And Leslie, John F. 2003. A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. The American Phytopathological Society. Publication no. D-2002-1206-01F. Plant Disease, Vol. 87 No. 2
- [62] **SUNDARAMOORTHY, S., RAGUCHANDER, T., RAGUPATHI, N., SAMIYAPPAN, R.** 2011. Combinatorial effect of endophytic and plant growth promoting rhizobacteria against wilt disease of *Capsicum annum* L. caused by *Fusarium solani*. Biological Control 60 (2012) 59–67
- [63] **TAMAYO, P.J.** 2001. Estado del Arte de las Enfermedades de Clima Frio Moderado y su Control. Pp. 91-102. *En*: Memorias XXII Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines. ASCOLFI. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Antioquia, Colombia. Julio 11 a 13 de 2001. 129 p.
- [64] **TOSI, L., BUONAURO, R., GUIDERDONE, S. M.** 2000. Pepper wilt caused by *Fusarium solani* in Central Italy. *Atti, Giornate fitopatologiche, Perugia, 16-20 aprile, Volume 2, pp. 305-306, 4 ref.*

[65] **UTKHEDE, R., MATHUR, S.** 2003. *FUSARIUM* fruit rot of greenhouse sweet peppers in Canada. *PlantDisease*, Vol. 87, No. 1, pp. 100, 1 ref.

[66] **VÁZQUEZ-LÓPEZ, A, TLAPAL-BOLAÑOS, B., YAÑEZ-MORALES, M.J.1, y QUINTOS-ESCALANTE, M.** 2004. ETIOLOGÍA DE LA MARCHITEZ DEL CHILE DE AGUA (*Capsicum annuum* L.) EN TRES LOCALIDADES DE LOS VALLES CENTRALES DE OAXACA, MÉXICO. Primera Convención Mundial del Chile 2004. First World Pepper Convention 2004. Pag. **337-339**.

[67] **VÁSQUEZ LÓPEZ, A; TLAPAL BOLAÑOS, B.; YAÑEZ MORALES, M. DE J.; PÉREZ PACHECO, R.; QUINTOS ESCALANTE, M.** 2009. ETIOLOGÍA DE LA MARCHITEZ DEL 'CHILE DE AGUA' (*Capsicum annuum* L.) EN OAXACA, MÉXICO *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 32, Núm. 2, abril-junio, 2009, pp. 127-134 Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. México

[68] **VELÁSQUEZ VALLE, R. Y AMADOR RAMÍREZ, M. D.** 2007. Análisis Sobre la Investigación Fitopatológica de Chile Seco (*Capsicum annum* L.), Realizada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias en los Estados de Aguascalientes y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 25, No. 1. Pp. 80-84.

[69] **VELÁSQUEZ V., R., MEDINA A, M. M., MACIAS VALDEZ, L. M.** 2001. LA PUDRICIÓN DE LA RAÍZ DEL CHILE (*Capsicum annuum* L.) EN EL NORTE CENTRO DE MÉXICO. INIFAP, Campo Experimental Pabellón, Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Fitopatológico. Primera Convención Mundial del Chile 2004. First World Pepper Convention 2004. Pag. 138-143.

[70] **VELÁSQUEZ V., R., MEDINA A, M. M., LUNA R., J. DE J.** 2001. Sintomatología Y Géneros De Patógenos Asociados Con Las Pudriciones De La Raíz Del Chile (*Capsicum annum* L.) En El Norte-Centro De México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Sociedad Mexicana de Fitopatología, A. C. Vol.: 19, No. 002. 175-181 pp.

- [71] **VELÁSQUEZV., R., MEDINA A, M.M., Y MACÍAS V., L.M.** 2003. Reacción de líneas avanzadas de chile (*Capsicum annuum* L.) provenientes de Zacatecas a enfermedades comunes en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:71-74.
- [72] **WANG, L. L., WANG, M.** 1991. Studies on the resistance to *Fusarium* wilt of pepper (*Capsicum annuum*) germplasm at the seedling stage. *Acta Horticulturae Sinica, Vol. 18, No. 2, pp. 153-157, 11 ref.*
- [73] **WANG, J. H.; FENG, Z. H.; HAN, Z.; SONG, S. Q.; LIN, S. H. AND WU, A. B.** First Report of Pepper Fruit Rot Caused by *Fusarium concentricum* in China. *Plant Disease* Dec 2013, Volume 97, Number 12.
- [74] **WEI, H., ZHEN HUI G., DA WEI L.** 2007. *In vitro* selection of new pepper germplasm resistant to fusarium wilt. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, China. Vol. 27, No. 6, pp. 1096-1101, 16 ref.*
- [75] **WINDER, RICHARD S.** 1999. The Influence of Substrate and Temperatura on the Sporulation of *Fusarium avenaceum* and its Virulence on Marsh Reed Grass. *Mycol. Res.* 103 (9): 1145-1151.
- [76] **WOLLENWEBER, H. W., Y REINKING, O. A.** 1935. Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. Paul Parey, Berlin Germany
- [77] **YANG, J., KHARBANDA, P.D., HOWARD, R.J., MIRZA, M.,** 2009. Identification and pathogenicity of *Fusarium lactis*: causal agent of internal fruit rot of sweet pepper in Alberta. *Canadian Journal of Plant Pathology* 31, 47–56. (Abstr)
- [78] **YANG, L. CHANG-YUAN, L., KUI-HUA, Z, ZE-YAN, M., CHUN-HAO, L., YAN, C., HUI, W.** 2009. The Biological Characteristics of *Fusarium oxysporum* on pepper. *Journal of Shenyang Agricultural University.* Vol. 40 No. 3 pp. 291-295

- [79] **Y. YANG, N. BOURAS, J. YANG, R.J. HOWARD, S.E. STRELKOV.** 2011. Mycotoxin production by isolates of *Fusarium lactis* from greenhouse sweet pepper (*Capsicum annuum*), Int. J. Food Microbiol. (2011), doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.013.