



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**EVALUACIÓN DE GENOTIPOS DE AJÍES (*Capsicum spp*)
RESISTENTES A PUDRICIONES RADICALES CAUSADAS POR
Fusarium sp Y *Phytophthora capsici*.**

JULIANA CARDONA ARCE

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Palmira Colombia

2013

**EVALUACIÓN DE GENOTIPOS DE AJÍES (*Capsicum* spp)
RESISTENTES A PUDRICIONES RADICALES CAUSADAS POR
Fusarium sp Y *Phytophthora capsici*.**

JULIANA CARDONA ARCE

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

Magister en Ciencias Agropecuarias

Director:

Mario A. García Dávila Dr.

Codirector:

Carlos Germán Muñoz Ph.D.

Línea de Investigación:

Protección de Cultivos

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias

Palmira Colombia

2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS
LINEA DE INVESTIGACIÓN PROTECCIÓN DE CULTIVOS

En Palmira a los 09 días del mes de Agosto de 2013, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los profesores EDGAR IVÁN ESTRADA SALAZAR y CARLOS ALBERTO HUERTAS.

Para calificar la Tesis de Grado de:

JULIANA CARDONA ARCE

Titulada:

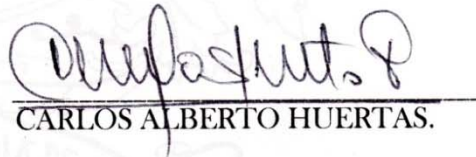
“EVALUACION DE GENOTIPOS DE AJIES (*Capsicum sp*) RESISTENTES A PUDRICIONES RADICALES CAUSADAS POR *Fusarium spp* y *Phytophthora capsici*”, bajo la dirección de Mario Augusto García Dávila, PhD y Carlos German Muñoz Perea, PhD

Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los docentes EDGAR IVÁN ESTRADA SALAZAR y CARLOS ALBERTO HUERTAS, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA

REPROBADA


EDGAR IVÁN ESTRADA SALAZAR


CARLOS ALBERTO HUERTAS.

Dedicatoria

A Dios por haberme dado en cada momento de mi vida, fuerza para salir adelante.

A mis padres Elmer del Jesús y María del Carmen, por su amor, apoyo y por creer en mí siempre.

A mis tíos Alejandrino Gonzales y Delfa Saavedra, quienes estuvieron apoyándome durante toda mi formación profesional.

A mi hermana Carolina por darme en cada momento consejos de fortaleza y amor.

Agradecimientos

Al profesor Mario García le expreso mis agradecimientos por su orientación en esta investigación y por su apoyo.

Al profesor Carlos German Muñoz por su orientación en el trabajo de invernadero y laboratorio.

A COLCIENCIAS y el Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores “Virginia Gutiérrez de Pineda” por su apoyo financiero.

A DIPAL, por su apoyo financiero.

A todo el personal de CEUNP, por toda la colaboración en labores de campo.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, por darme la oportunidad de adelantar mis estudios de maestría.

A los amigos que me brindaron su amistad, apoyo y colaboración en todo este trabajo y mi vida.

Resumen

Se evaluó la resistencia a *Phytophthora capsici* Leonian y *Fusarium* spp Link responsables de causar enfermedades conocidas como pudriciones radicales, en 30 accesiones de *Capsicum* spp procedentes de la colección del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, un genotipo resistente a *P. capsici* evaluado por la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira y una variedad de pimentón *Capsicum annuum* var Nathalie, la cual, se usó como testigo susceptible a los dos patógenos. Las evaluaciones se realizaron bajo condiciones de invernadero en CEUNP (Centro Experimental de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira) utilizando un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones para *P. capsici* y un diseño de bloques completamente al azar para *Fusarium* sp. La primera siembra se hizo para seleccionar las accesiones resistentes a *P. capsici* y la segunda para *Fusarium* sp. Se evaluaron las variables: porcentaje de plantas afectadas (incidencia), progreso de la enfermedad para *P. capsici*, porcentaje de daño para *Fusarium* sp y contenido de capsaicina. El genotipo resistente a *P. capsici* también lo fue para *Fusarium* sp. Las accesiones S22-17-32-5, 41-8, S52-23, 8-4, 61-12, S21-27-31-7, S21-21-32 y S18.C8-10-1-p7 se clasificaron en la categoría de resistentes a *P. capsici*. Las accesiones 84-25, 61-12, 17, S21-27-31-7, S21-21-32, S18-C9-10-1-p7, 11-11, S21-17-32-5 y 41-8 expresaron un porcentaje de daño entre 0-6,25% considerándose como resistentes al daño por *Fusarium* sp. La accesión S22-17-32-5 tuvo el mayor contenido de capsaicina y al mismo tiempo mostró resistencia a *P. capsici* y *Fusarium* sp. Se observó que el contenido de capsaicina tiene una correlación negativa con la resistencia a los dos patógenos.

Las accesiones que mostraron resistencia tanto a *P. capsici* como a *Fusarium* sp y tuvieron alto contenido de capsaicina pueden ser útiles en futuros programas de mejoramiento, con miras a la obtención de variedades comerciales resistentes a pudriciones radicales.

Palabras clave: *Phytophthora capsici*, *Fusarium* spp, *Capsicum* spp, Pudriciones radicales, Resistencia.

Abstract

Was evaluated the resistance to *Phytophthora capsici* Leonian and *Fusarium* spp Link known to cause diseases known as root rots in 30 accessions of *Capsicum* sp from the collection of the genebank of the Universidad Nacional of Colombia in Palmira, a genotype resistant *P. capsici* evaluated by the Universidad Nacional de Colombia in Palmira and a variety of paprika *Capsicum annuum* var Nathalie, which was used as a control susceptible to both pathogens. Evaluations were performed under greenhouse conditions in CEUNP (Experimental Center of the National University of Colombia Palmira) using a completely randomized design with four replications. The first planting was made to select resistant accessions *P. capsici* and the second seed for *Fusarium* sp. Variables were assessed incidence percentage, disease progression for *P. capsici*, percentage of damage to *Fusarium* sp and content of capsaicin. Genotype resistant *P. capsici* was shown to be resistant to *Fusarium* sp. The accessions S22-17-32-5, 41-8, S52-23, 8-4, 61-12, S21-27-31-7, S21-21-32 and S18.C8-10-1-p7 is behaved like the resistant genotype, classified as resistant to *P. capsici* and accessions 84-25, 61-12, 17, S21-27-31-7, S21-21-32, S18-C9-10-1-p7, 11-11, S21-17-32-5 and 41-8 showed a percentage between 0 to 6.25% damage considered as resistant to damage by *Fusarium* sp. Accession S22-17-32-5 had the highest content of capsaicin and while showed resistance to *P. capsici* and *Fusarium* sp. It was observed that the content of capsaicin has a negative correlation with resistance to both pathogens. The accessions that showed resistance to both *P. capsici* and *Fusarium* sp and had high content of capsaicin may be useful in future breeding programs, with a view to obtaining commercial varieties resistant to root rots.

Key words: *Phytophthora capsici*, *Fusarium* spp, *Capsicum* spp, Resistance, root rots.

Contenido

	Pág.
Resumen.....	VI
Abstract	VIII
Lista de figuras	XII
Lista de tablas.....	XIII
Introducción	1
1. El Cultivo de Ají (<i>Capsicum</i> spp)	3
1.1 Importancia económica y producción en Colombia	3
1.1.1 Contenido de Capsaicina	4
1.1.2 Origen, distribución y especies silvestres relacionadas	6
2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE <i>P. capsici</i> Leonian.....	8
2.1 Descripción de <i>Phytophthora capsici</i>	8
2.2 <i>Phytophthora capsici</i> en Colombia y en el mundo	9
2.3 Ciclo de la enfermedad	10
2.4 Factores Ecológicos.....	11
2.5 Daño	12
2.6 Manejo de <i>P. capsici</i>	12
2.6.1 Control químico	13
2.6.2 Control biológico	13
2.6.3 Control genético	14
3. Características generales de <i>Fusarium</i> sp.....	16
3.1 Descripción de <i>Fusarium</i> spp	16
3.2 <i>Fusarium</i> sp en Colombia y en el mundo	17
3.3 Ciclo de la enfermedad	18
3.4 Factores ecológicos	19
3.5 Daño	20
3.6 Manejo de <i>Fusarium</i> sp	20
3.6.1 Control Químico	20
3.6.2 Control Biológico	21
3.6.3 Control Genético	21

4. Materiales y Métodos.....	23
4.1 Evaluación del germoplasma en invernadero	23
4.2 Inoculación con <i>P. capsici</i>	27
4.3 Inoculación con <i>Fusarium</i> sp.	27
4.4 Extracción y cuantificación de capsaicina.....	29
5. Resultados y Discusión	30
5.1 Evaluación de la Incidencia y Severidad para <i>Phytophthora. capsici</i>	30
5.2 Evaluación de la Incidencia y Severidad para <i>Fusarium</i> spp.....	36
5.3 Contenido de capsaicina.....	42
6. Conclusiones	47
A. Anexo: Metodología de extracción de soxleth.....	48
B. Anexo: Metodología para cuantificación con HPLC.....	49
7. Bibliografía	51

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1: a. Plantas afectadas por <i>Fusarium</i> sp., b. y c. Síntomas visibles del daño por <i>Fusarium</i> sp., d. Plantas afectadas por <i>P. capsici</i> , e. Raíz afectada por <i>P. capsici</i>	24
Figura 2: Progreso de la enfermedad en material susceptible y resistente a <i>P. capsici</i> . a. Material susceptible., b. material resistente a <i>P. capsici</i>	31
Figura 3: Relación entre la variable avance de la enfermedad (cm) producido por <i>P. capsici</i> (severidad) y la variable porcentaje de plantas muertas.	34
Figura 4: Genotipos resistentes con relación al progreso de la enfermedad (cm) producido por <i>P. capsici</i> (severidad) a través del tiempo.	35
Figura 5: Comportamiento de la enfermedad en genotipo susceptible y resistente a <i>Fusarium</i> spp. a. genotipo susceptible., b. genotipo resistente a <i>Fusarium</i> spp.	37
Figura 6: Relación entre la variable porcentaje de daño producido por <i>Fusarium</i> sp y la variable porcentaje de plantas afectadas (incidencia).	40
Figura 7: Genotipos resistentes con relación al porcentaje de severidad producido por <i>Fusarium</i> sp a través del tiempo.	41
Figura 8: Germoplasma resistencia a <i>P. capsici</i> y <i>Fusarium</i> spp.	41
Figura 9: Contenido de capsaicina asociado a peso de fruto en 16 acepciones de <i>Capsicum</i>	44

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1: Genotipos evaluados para determinar la resistencia a <i>Phytophthora capsici</i> y <i>Fusarium sp.</i>	25
Tabla 2: Evaluación de la severidad para <i>Fusarium sp.</i>	28
Tabla 3: Cuadrados Medios para la Variable avance del síntoma (cm) producido por <i>P. capsici</i> al día 42 (SevP.capsici42), índice de crecimiento por día (IndCreDía) y índice de crecimiento por semana (IndCreSem).	31
Tabla 4: Análisis de Varianza para la Variable avance de la enfermedad (cm) producido por <i>P. capsici</i> , interacción germoplasma por días de evaluación.	32
Tabla 5: Severidad promedio (Sevmedia42) y porcentaje de plantas afectadas (%platafect42) en el día 42 para <i>P. capsici</i> en el germoplasma evaluado.	32
Tabla 6: Análisis de Varianza para la Variable porcentaje de daño producido por <i>Fusarium spp</i> al día 14 (SevFusarium14), índice de crecimiento por día (IndCreDía) y índice de crecimiento por semana (IndCreSem).....	37
Tabla 7: Análisis de Varianza para la Variable porcentaje de daño producido por <i>Fusarium spp.</i> , interacción germoplasma y días de evaluación.	38
Tabla 8: Severidad promedio (Sevmedia14) y porcentaje de plantas afectadas (%platafect14) en el día 14 para <i>Fusarium spp.</i>	38
Tabla 9: Acciones resistentes a <i>P. capsici</i> y <i>Fusarium spp</i> y con alto contenido de capsaicina	43

Tabla 10: Correlaciones simples entre las variables germoplasma porcentaje de daño producido por *Fusarium* spp (SevFusarium) avance de la enfermedad producido por *P. capsici* (SevPcapsici) y contenido de capsaicina (contcapsaina). 45

Introducción

El ají dulce y picante (*Capsicum* spp.) es originario de Centro y Sur de América (Pardey, 2008). El ají se ubica entre las siete hortalizas más cultivadas en el mundo (Pérez, 2008) con una extensión aproximadamente 3.8 millones de hectáreas y una producción mundial estimada en 33.29 millones de toneladas entre ajíes secos y ajíes verdes. En Sur América se siembran cerca de 25.675 hectáreas de ají verde, de las cuales 4.039 hectáreas corresponden a Colombia (FAO, 2011). Esta hortaliza se cultiva, en zonas aptas como el Valle del Cauca y la Costa Atlántica de Colombia principalmente para exportación (Anuario Estadístico Ministerio de Agricultura, 2012).

A escala mundial, los principales productores de ají son China, México, Turquía, Estados Unidos, España que son también exportadores representativos (FAO 2011). En Colombia los principales productores son, en su orden: Magdalena, Bolívar, y Valle del Cauca, con una participación del 73.1% de la producción nacional, estimada en 12 mil toneladas (Agronet, 2011).

El cultivo de ají al igual que otras hortalizas es afectado por una serie de problemas fitosanitarios limitantes, en los que se encuentran la aparición de podredumbres de la raíz y la corona causadas por *Phytophthora capsici* y *Fusarium* sp, que ocasionan pérdidas considerables en precosecha, afectando la producción de ají y pimentón en las principales zonas productoras del país. La presencia de estas enfermedades se encuentra ampliamente distribuida en países productores de *Capsicum* spp, donde el daño que ocasiona es de importancia económica. Su presencia ha sido confirmada en todo el mundo. La infección es producida por las conidias o zoosporas y estructuras de resistencia en toda la planta. El patógeno penetra iniciando el daño en el cuello de la raíz,

una lesión circular en la base del tallo causando volcamiento y muerte de la planta. Los frutos son afectados a través del pedúnculo, se encogen, se arrugan y presenta lesiones oscuras cubiertas con micelio blanco y permanecen adheridos en la planta (Fletcher, 1994; Andrés et al., 2005).

Inspecciones realizadas a cultivos de pimentón y ají es en departamentos productores de Colombia describen que generalmente, *P. capsici* prefiere condiciones húmedas del suelo y temperaturas de 20 a 28°C se consideran óptimas para el desarrollo de la pudrición del cuello. La pudrición por *Fusarium sp* es más frecuente en suelos ácidos, mal drenados y de textura liviana (Corpoica, 2005).

García (2011)¹ reporta que desde el año 2006 se observa plantas afectadas a *P. capsici* en las diferentes zonas productoras del Valle del Cauca. La enfermedad ha incrementado su incidencia hasta el punto de adquirir gran importancia económica para el cultivo de ají, debido a que ha generado pérdidas hasta de un 70% de la producción.

Aunque, en países como Estados Unidos, España y Argentina se han publicado estudios para resistencia a *Phytophthora capsici*; en Colombia aún no se conocen estudios en este sentido y las investigaciones se han orientado hacia el control de la diseminación del inóculo mediante el uso de fungicidas, los cuales son costosos y tienen efectos negativos en el ambiente, además de generar resistencia del patógeno.

Phytophthora capsici y *Fusarium sp.*, se presentan durante todo el desarrollo fenológico del cultivo, dificultando las opciones de manejo, razón por la cual la búsqueda de resistencia se convierte en la mejor alternativa para la protección de cultivos. De ahí, la necesidad de identificar genotipos resistentes a *Phytophthora capsici* y *Fusarium sp.*, con el fin de que a futuro los mejoradores puedan obtener genotipos comerciales resistentes a estos patógenos, y a partir de programas de mejoramiento genético convencional disminuir el uso indiscriminado de agroquímicos, reducir la contaminación y los costos.

¹García, M. A. (2011) información personal. Profesor asociado de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.

1. El Cultivo de Ají (*Capsicum* spp)

1.1 Importancia económica y producción en Colombia

El género *Capsicum* con sus diversas especies de pimentones y ajíes es de gran importancia alimentaria y económica en Colombia y otros países del mundo. El Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2011) reportó para el 2011 una producción de ají en Colombia de 16.515 toneladas con un área sembrada de 2.045 hectáreas. Se siembra en casi todas las regiones en los departamentos de Antioquia, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Cesar, Córdoba, La guajira, Magdalena, Santander, Sucre y Valle del Cauca con producciones que varían entre 32-6.674 toneladas por año con rendimientos que varían entre 3.5-15.7 toneladas por hectárea. La producción se destina para la agroindustria nacional y para la exportación.

El cultivo de ésta hortaliza ha aumentado significativamente ante la demanda de otros países, sin embargo, departamentos productores como el *Valle del Cauca*, redujeron su producción en 929 toneladas y rendimiento en 0.5 toneladas por hectárea del año 2010 al 2011 (Agronet, 2011). Los valores fluctúan considerablemente de producción y rendimiento, porque esta hortaliza afronta una serie de problemas relacionados con alta susceptibilidad a condiciones adversas de clima, suelos, enfermedades y plagas, convirtiendo a este cultivo en una actividad comercial muy riesgosa.

Tradicionalmente en las regiones productoras de ají y pimentón se observa una tendencia a incrementar la superficie con las mismas variedades de *Capsicum* para el consumo en fresco y para la industria, favoreciendo cada vez a que los problemas fitosanitarios sean más graves.

Las especies de *Capsicum* spp domesticadas, presentan variaciones en características de frutos, que posiblemente por efectos asociados a la domesticación tiene un cuello de botella evolutivo dentro del cual se restringe la variación de caracteres menos visibles. La selección de especies domesticadas para diferentes usos (por ejemplo frutos en seco o fresco, especia o vegetal) ha llevado a una mayor partición de la diversidad genética dentro de cada una (Ligarreto et al., 2004).

Adicionalmente, Colombia depende de la importación de semilla para la producción de ají y pimentón, además de la suministrada y producida por las mismas empresas exportadoras de ají; para el caso de pimentón la semilla es producida por entidades estatales y algunas empresas comercializadoras privadas.

En Colombia, actualmente se siembran distintos cultivares de ají y pimentón de las especies C. Annum (Cayenne), C. frutescens (Tabasco) y C. chinense (Habanero), con el fin de atender los mercados para consumidores que buscan variedad, calidad y pungencia (García, 2011).

1.1.1 Contenido de Capsaicina

Uno de los principales atributos de la calidad en los frutos del genero *Capsicum*, además del color, sabor y aroma, es la pungencia. El picante es debido a la presencia de unos

compuestos denominados capsaicinoides que están presentes en su mayoría en la placenta del fruto. Estos compuestos contribuyen a la pungencia tanto por el número y tipo de capsaicinoides presentes como por la cantidad de cada uno de ellos (Escamilla et al., 2011).

La capsaicina es el compuesto más potente de los capsaicinoides. La capsaicina fue aislada por J. Thresh en 1876, y se caracteriza por ser un polvo cristalino blanco, insoluble en agua, pero muy soluble en alcohol y aceites. Por esta razón, el ardor que se produce al comer ají se puede calmar más efectivamente con leche y helados que con agua. Estudios sobre la relación entre especies del género *Capsicum* y la capsaicina, indican que la concentración de este alcaloide aumenta durante la maduración del fruto, es mayor en las variedades de fruto más pequeño y varía en proporción inversa a la cantidad de ácido ascórbico (Peruano, 2011).

El contenido de capsaicinoides en especies de *Capsicum* varía generalmente de 0,1 a 1 % y en algunos casos se registran valores de hasta 1,5 % (Sein et al., 1998). La Environmental Protection Agency (EPA) de Estados Unidos considera a la capsaicina como un pesticida bioquímico, ya que se forma naturalmente en las plantas de *Capsicum* como medio de protección contra animales e insectos. Solo las aves no son afectadas por la capsaicina (Peruano, 2011).

La capsaicina se emplea en la elaboración de cremas tópicas para aliviar el dolor muscular, así como los síntomas del reumatismo y mejorar la flexibilidad de las articulaciones. En lo que respecta al cáncer, los estudios han sido numerosos, por ejemplo, la American Association for Cancer Research, reportó que la capsaicina es capaz de eliminar células cancerosas en la próstata provocando la apoptosis (muerte de las células). Sin embargo, el excesivo uso de capsaicina puede llevar a la insensibilidad y disminución de la expresión de su receptor natural, situación que provocaría que la capsaicina se convierta más bien en agente de proliferación de células cancerosas (Peruano, 2011).

1.1.2 Origen, distribución y especies silvestres relacionadas

El género *Capsicum* spp es originario de América del Sur y Central. Las investigaciones arqueológicas demuestran que este género estuvo muy ligado a las civilizaciones Maya, Azteca (Centroamérica y México) e Inca (Andes). En algunas regiones del Perú se encontraron frutos y semillas de 2800 a 1800 años a.C. que sirvieron de evidencias de su domesticación. En América Central también se hallaron restos arqueológicos de hace 7000 años a.C (Vallejo et al., 2006).

La distribución geográfica de las especies domesticadas de *Capsicum*, cultivadas antes del descubrimiento de América, va desde Centroamérica hasta el Brasil, pasando por los países andinos (Vallejo et al., 2006). El ají picante, se ha propagado por toda América, África y Asia tropical, donde sus frutos son valorados por el sabor que ellos añaden a su dieta. Los ajíes no picantes o dulces son preferidos por consumidores de regiones templadas tales como Europa y Norte América, pero se ha interiorizado en la cultura su consumo a los trópicos como una dieta de los países occidentales (Ligarreto et al., 2004).

El género *Capsicum* incluye más de 25 especies de las cuales, cinco son las que se cultivan comercialmente *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. pubescens*, *C. baccatum* y *C. annuum* que es el de mayor producción mundial. *C. annuum* fue domesticado en tierras altas de México, este incluye la mayoría de ají picante de México, África y Asia, y varios cultivares de ají dulce que crecen en países templados. Sin embargo, este no se adapta bien en tierras bajas húmedas del trópico, donde, por lo menos en Latinoamérica, es reemplazado por *C. chinense* y *C. frutescens*. *C. frutescens* es cultivado también en África y Asia como un cultivo de especias. Los frutos de *C. chinense* (habanero) tienen mayor pungencia. Las otras dos especies domesticadas son predominantes en Latinoamérica: *C. baccatum* siendo el ají picante más común (en seco y fresco) de los países andinos y *C. pubescens*, que es también una especie de tierras altas, con paredes gruesas y frutos carnosos, los cuales son también usados en frescos (Pardey, 2008).

En Colombia se reportan las especies cultivadas *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. pubescens*, y las especies silvestres *C. ciliatum*, *C. dimorphum*, *C. geminifolium* y *C. parvifolium* (Vallejo et al., 2006). Aunque estas especies domesticadas son de origen tropical, la mayoría del mejoramiento genético de *Capsicum* se ha llevado a cabo en países de clima templado, sin embargo, el mejoramiento genético se ha restringido en mayor proporción en *C. annuum*.

Las especies silvestres poseen genes particulares adaptados a condiciones ambientales y de resistencia a insectos y enfermedades propias de la región. (Ligarreto et al., 2004). Las especies silvestres de *Capsicum* han sido poco explotadas comercialmente (Vallejo et al., 2006) desaprovechándose estos genes particulares. Dentro de las especies silvestres se destacan *C. chacoense* A.T. Hunz., *C. galapagoense* A.T. Hunz., *C. praetermissum* H y S., *C. cardenassi* H y S., *C. eximium* A.T. Hunz. y *C. tovari* nom. *Tovari*, *C. annuum* var. *aviculare* y *C. baccatum* var. *baccatum* (Vallejo et al., 2006).

2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *P. capsici* Leonian

La primera publicación y descripción sobre el tizón en pimiento y su agente causal *P. capsici* fue realizada por Leon H. Leonian, cuando encontró la enfermedad en plantas de chile en la estación de investigación agrícola de Nuevo México, Las Cruces en 1922 (Hurtado, 2010).

El oomiceto *P. capsici* es el agente causal de la enfermedad más universalmente conocida en plantas del género *Capsicum* spp. Recibe diversos nombres en español, como tristeza o seca en España, y marchitez o secadera marchita en México (Nuez et al, 1995).

2.1 Descripción de *Phytophthora capsici*.

El micelio es cenocítico (los núcleos incluidos en un citoplasma común no están separados por tabiques que delimiten células), se pone densamente tuberoso bajo ciertas condiciones de cultivo, las extensiones tuberosas son esféricas u ovoides, iguales a los esporangios, rico en protoplasma. Los Esporangios generalmente son ovoides, varían según el medio de cultivo. Se presentan formas elongadas, elipsoides, subesferoides, elongaciones irregulares con formas intermedias, papila prominente apical en un solo esporangio algunas veces pueden ser tres variando su disposición, pueden ser desprendidos del esporangióforo (caducos). Tiene germinación por zoosporas y en

condiciones especiales por tubos germinativos. El tamaño del esporangio es muy variable, está en promedio de 60 x 36 μ (Leonian, 1922).

La sobrevivencia del patógeno a largo plazo o fuera del tejido del hospedero, se debe a la oospora la cual es gruesa de múltiples capas de β -glucano y celulosa. Las oosporas requieren de un periodo de incubación de cuatro semanas antes de germinar directamente o por formación de esporangio. *P. capsici* es una especie heterotálica y requiere de dos tipos de compatibilidad designados A1 y A2 para completar la fase sexual. Las oosporas son formadas cuando los dos tipos de compatibilidad A1 y A2 entran en asociación. Las zoosporas exhiben geotropismo negativo y quimiotácticamente siguen gradientes de nutrientes mientras nadan. Así las Zoosporas tienen contacto con la superficie de la planta se enquistan y germinan para producir tubos germinativos. La penetración de la superficie de las hojas por *P. capsici* ocurre directamente o a través de aberturas naturales como los estomas. Estas son producto de la reproducción asexual (Hurtado, 2010).

2.2 *Phytophthora capsici* en Colombia y en el mundo

P. capsici fue reportada por primera vez por Leonian en los EE.UU. en 1922 sobre los chiles en Nuevo México y se extendió a las zonas de producción de hortalizas en Colorado y Florida en los años 1930 y 1940, en varios cultivos hortícolas como tomates, berenjenas, calabazas y melones (Lamour, 2004).

Corpoica (2005) realizó actividades de inspección a cultivos comerciales de pimentón y ajíes (*Capsicum annuum* L.) en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Risaralda, Quindío y Valle del Cauca. La pudrición de la raíz por *P. capsici* fue una de los patógenos con mayor distribución en las zonas de clima frío moderado y cálido causando pérdidas del 30% y 50% respectivamente.

En el Valle del Cauca la empresa Agronilo S. A., localizada en el municipio de La

Unión, reportó a *P. capsici* como la responsable de 70% de las pérdidas y en el corregimiento de San Marcos, municipio de Yumbo, se han calculado pérdidas hasta del 80% ocasionadas por *P. capsici* en cultivos de pimentón (Hurtado, 2010).

La Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, actualmente cuenta con germoplasma de ají y pimentón, colectado en diferentes sitios de Colombia y otros países. Se ha aprovechado adecuadamente las potencialidades de los recursos fitogenéticos de *Capsicum* realizando evaluaciones de diferentes características agronómicas, dentro de ellas se ha identificado fuentes de resistencia a enfermedades, como lo es la secadera causada por *Phytophthora capsici* (Hurtado, 2010).

2.3 Ciclo de la enfermedad

Phytophthora capsici es un patógeno del suelo. Produce varios tipos de esporas que permiten que se propague por todo el campo, y de persistir en el campo entre los cultivos. *P. capsici* sobrevive entre los cultivos como oosporas o micelio en tejido infectado. Una oospora sexual presenta pared gruesa y se forma cuando los micelios de dos tipos de apareamiento opuestos (similar al anteridio y oogonio) crecen juntos. Las oosporas son resistentes a la desecación, las bajas temperaturas, y otras condiciones ambientales extremas, y puede sobrevivir en el suelo en ausencia de la planta huésped durante muchos años. Una vez que las plantas de pimiento se trasplantan en un campo, y las condiciones ambientales son favorables, las oosporas germinan y producen esporangios y zoosporas (esporas asexuales). Las altas precipitaciones, la saturación de los suelos, y temperaturas entre 75 a 85 °F (24 -29 °C) son condiciones favorables para que se desarrolle el tizón causado por *Phytophthora*. Las zoosporas liberadas en el agua, nadan y al entrar en contacto con el tejido huésped inician la infección. Después de la infección se forma una lesión que rodea los cuellos en la base de la planta cerca de la línea del suelo. Los esporangios se producen en la superficie de la lesión y se esparcen por salpicaduras de lluvia. Una vez localizados en la planta de ají, los esporangios liberan zoosporas que inician la infección. La producción y difusión de esporangios se repiten a

lo largo de la temporada lluviosa. Las plantas eventualmente mueren y las oosporas formadas dentro de las lesiones se liberan en el suelo. Las oosporas se mantendrán en el suelo hasta que otro cultivo susceptible sea plantado (Phytophthora blight of pepper., 2001).

2.4 Factores Ecológicos

Algunos de los factores ambientales que favorecen el desarrollo de hongos y oomicetos son la temperatura, humedad, luz, nutrientes y el pH del suelo. Los efectos en el avance de la enfermedad son el resultado de su influencia sobre el desarrollo y la susceptibilidad del hospedero, sobre la propagación y actividad del patógeno o sobre la interacción entre ambos. *Phytophthora* sp., no prospera a menos de 7.5°C y más de 28.5°C, pero bajo condiciones óptimas de humedad y temperatura, los esporangios se producen con abundancia y liberan gran cantidad de zoosporas; al disminuir la temperatura 24°C estas se diseminan a través del agua, causando una mayor infección (Reyes et al., 2007).

2.5 Las plantas susceptibles pueden presentar daños en raíces tallos, hojas, y frutos. Aunque la infección puede ocurrir solo en partes aéreas es muy común en la línea del suelo. El primer síntoma comúnmente presentado en lotes de pimentón y ajíes es un daño en el cuello de la raíz, una lesión circular en la base del tallo que causa volcamiento y muerte de la planta. Las raíces infectadas son de color café oscuro y blando, las manchas de las hojas comienzan pequeñas, circulares, irregulares y acuosas. Con el tiempo se agrandan, se aclaran y pueden romperse. Los frutos de pimentón son afectados a través del pedúnculo, se encogen, se arrugan y presenta lesiones oscuras cubiertas con micelio blanco y permanecen prendidos en la planta. En las hojas causa lesiones circulares, café grisáceas y húmedas, las lesiones de hojas y tallos son comunes cuando el inoculo es dispersado por salpique del suelo a partes bajas de la planta (Hurtado, 2010).

2.5 Daño

Las plantas susceptibles pueden presentar daños en raíces tallos, hojas, y frutos. Aunque la infección puede ocurrir solo en partes aéreas es muy común en la línea del suelo. El primer síntoma comúnmente presentado en lotes de pimentón y ajíes es un daño en el cuello de la raíz, una lesión circular en la base del tallo que causa volcamiento y muerte de la planta. Las raíces infectadas son de color café oscuro y blando, las manchas de las hojas comienzan pequeñas, circulares, irregulares y acuosas. Con el tiempo se agrandan, se aclaran y pueden romperse. Los frutos de pimentón son afectados a través del pedúnculo, se encogen, se arrugan y presenta lesiones oscuras cubiertas con micelio blanco y permanecen prendidos en la planta. En las hojas causa lesiones circulares, café grisáceas y húmedas, las lesiones de hojas y tallos son comunes cuando el inoculo es dispersado por salpique del suelo a partes bajas de la planta (Hurtado, 2010).

2.6 Manejo de *P. capsici*

Las estrategias recomendadas para manejo del tizón de *Capsicum* spp., incluyen prevención del patógeno, siendo la estrategia primaria el manejo de la dinámica del agua en el suelo evitando los excesos, dándole el mejor drenaje posible. La rotación de cultivos con hospederos no susceptibles, aplicación de fungicidas apropiados (Lamour *et al*, 2001), selección de lotes sin historia de la enfermedad, y que no hayan tenido cultivos previamente de pimentón, cucurbitáceas, tomate o berenjenas por más de tres años. Sembrar en lotes aislados de campos infestados con *P. capsici*, limpiar el equipo agrícola del suelo, sembrar en camas altas, y preparar antes del trasplante una corona central para que el agua escurra durante la lluvia, No regar con agua drenada de lotes infestados, explorar el campo los síntomas producidos *P. capsici* después de lluvias fuertes y en áreas con dificultad de drenaje, no rescatar semilla de lotes infestados con *P. capsici* (Phytophthorabligh of pepper, 2001).

2.6.1 Control químico

Mefenoxam fue ampliamente utilizado en los pimientos por primera vez en 1997. La enfermedad se produjo en campos que fueron tratados con varias aplicaciones de mefenoxam en 1997 en el norte de Carolina y New Jersey, Estados Unidos. Un total de 150 aislamientos fueron obtenidos de 17 campos de ocho localidades productoras (siete granjas del Norte de Carolina y una de New Jersey), donde se evaluó la sensibilidad a mefenoxam en el laboratorio. 30% se clasificaron como sensibles, 10% como intermedias y 59% como resistentes a mefenoxam. Las cepas resistentes se encontraron en el 82% de los campos muestreados. La mayor proporción de aislados resistentes procedían de campos donde mefenoxam se utiliza solo y no en combinación con otros fungicidas. (Parra y Ristaino, 2001).

La frecuencia de aislamientos resistentes en el norte de Carolina es del 63% muy superior a los niveles de resistencia en las zonas donde mefenoxam no es ampliamente adoptados (Café-Filho et al, 2008).

En Michigan, *Phytophthora capsici* se ha vuelto resistente a mefenoxam, el ingrediente activo de un fungicida de uso común. Incluso después de que los productores han dejado de usar mefenoxam, *Phytophthora capsici* sigue con resistencia al fungicida (Parra et al., 2001).

Lamour (2003) indica que *P. capsici* persiste como oosporas por dos (2) años entre pepinos y tomates, y que la rotación de cultivos y la utilización de mefenoxam no proporcionan un control económico.

2.6.2 Control biológico

Sutherland et al. (1991), evaluaron nueve aislamientos de oosporas micoparásitas de seis actinomicetos y tres hongos para reducir la incidencia de la pudrición de la raíz de *Capsicum annuum* producida por *P. capsici*; reportaron que *Verticillium chlamydosporium*

aumentó el número de plantas sanasen más del 100% cuando estos se trasplantaron a suelo infestado artificialmente con oosporas de *P. capsici*.

Guigón y Gonzalez (2003), aislaron seis cepas nativas de *Trichoderma* spp del sur del estado de Chihuahua, México en el 2001; pero solo dos cepas redujeron la velocidad de incremento y la severidad del marchitamiento de plantas de ají (*Capsicum annuum* L.) causada por *P. capsici*, promoviendo un mejor crecimiento y desarrollo a la planta.

Zhang et al. (2009), reportaron que algunas cepas de *Bacillus* sp rizobacterias promotoras de crecimiento (PGPR) son eficaces para el control del tizón en calabacín causado por *P. capsici* en invernadero.

2.6.3 Control genético

La Universidad de Illinois sugiere utilizar variedades resistentes, siempre que sea posible, como se encuentra en las variedades 'Emerald Isle', 'Paladin', y 'Rainger' que tienen de moderada a alta Resistencia contra aislamientos de *P. capsici*. "Arda" también ha sido reportada con resistencia (Phytophthorabligh of pepper, 2001).

Investigaciones con aislamientos de *P. capsici* de Michigan indica que la insensibilidad es controlada por un gen dominante incompleto de mayor efecto, lo que es consistente con los hallazgos de otros oomicetos. Lamour *et al.*, (2001), reportaron el fungicida fenilamida mfenoxam sensible a aislamientos de *P. capsici*, pero, como ha ocurrido con muchos oomicetos, ha desarrollado insensibilidad en poblaciones de campo.

González et al. (2004), reportaron que dos genotipos provenientes del banco de germoplasma del INIFAP siguen siendo resistentes al complejo de patógenos de la raíz *P. capsici*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum* y *Rhizoctonia solani* causantes de marchitamiento de *Capsicum annuum* L.

Anaya (2011), reporta que los genotipos BG102 y BG107 del banco de germoplasma del INIFAP-CEBAJ fueron resistentes a tres especies de

patógenos (*Fusarium* spp., *P. capsici* y *Rhizoctonia solani*) responsables del marchitamiento de ají (*Capsicum annuum* L.).

La inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) protege las plantas de pimientos de infecciones posteriores con *Phytophthora capsici*. Se encontraron diferencias en la cantidad de patógeno presente en tallos y raíces entre las plantas tratadas con FOL y las no tratadas (Silvar et al, 2008).

Morán et al. (2010), evaluó la resistencia a *P. capsici* bajo condiciones de invernadero, 29 poblaciones de chile nativo colectadas en el sur del Estado de Puebla. Los análisis de varianza y comparación de medias mostraron diferencias significativas entre poblaciones, lo cual indica que algunos materiales presentan mecanismos de defensa particulares que podrían ser aprovechados en programas de mejoramiento genético.

3. Características generales de *Fusarium sp*

El género *Fusarium* fue introducido por Link en 1809 (Leslie et al., 2006), el cual tiene una gama amplia de especies y además se han identificado más de 120 *forma especialis* diferentes, basados en la especificidad del huésped y cultivar que infectan (Michielse et al., 2009).

El hongo *Fusarium* es el agente causal de la enfermedad del ají conocido como Damping off y pudrición de la raíz.

3.1 Descripción de *Fusarium spp*

La forma y tamaño de las esporas es la característica principal para el reconocimiento de los fusarium. Las esporas están dispersas en el micelio aéreo o en esporodoquios. Los macroconidios son curvados, pluriseptados, con una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie. Los microconidios son comúnmente unicelulares, elipsoidales, fusiformes, claviformes, piriformes o subglobosos, similares en ancho a los macroconidios, con una base redondeada o truncada, por lo general formando cabezuelas mucosas, pero en algunas especies en cadenas basípetas. No siempre son producidos ambos tipos de esporas.

Los conidióforos del micelio aéreo en algunos casos sólo constan de una célula conidiógena, en otros están ramificados, a veces en verticilos. Las monofiálides producen conidios desde una sola abertura y en las polifiálides surgen las esporas desde más de

una abertura en la misma célula. La presencia de una célula basal con forma de pie en los macroconidios se considera característica de *Fusarium* pero varios géneros de Coelomycetes también la tienen. A su vez unas pocas especies de *Fusarium* presentan conidios pluriseptados sin esa célula basal y se las llama mesoconidios. Algunas especies presentan clamidosporas terminales, laterales o intercalares, a veces formando cadenas. Las células conidiales ocasionalmente se transforman en clamidosporas. Algunas especies forman esclerocios irregulares, de color beige, ocre, pardo o gris oscuro.

Las colonias de los distintas especies de *Fusarium* que crecen moderada a profusamente, tienen diversos colores (blanco, rosado pálido, rojo, anaranjado, púrpura, celeste, verde aceituna o pardo), especialmente en el reverso de la colonia, excepto pardo oscuro o negro. El micelio es ralo o denso, ya sea algodonoso, como un fieltro o con una zona central de funículos, pero en algunos casos es limoso. Hay *Fusarium* con esporodoquios de color anaranjado. Los pigmentos que difunden en el agar suelen variar de color o tono con el pH. Algunas especies presentan zonas concéntricas de distinta morfología macroscópica debido a la secuencia luz - oscuridad (Carrillo, 2003).

3.2 *Fusarium* sp en Colombia y en el mundo

Toro (1999), reportó que la variedad cayenne (*Capsicum annum* L.) en la zona cafetera (Manizales), tuvo una incidencia del 8% y severidad del 2.5% por *Fusarium* sp. *Phytophthora capsici*, fue la enfermedad más limitante y presentó mayor incidencia y severidad del 65% y 100%, respectivamente.

González et al. (2002), infirieron que uno de los patógenos causantes del Mal de los Almácigos (MDA) en Argentina, fue *Fusarium oxysporum* (Sch.) el cual es transmitido por semilla. Aparece también en plantas adultas.

Corpoica (2005), reportó a *Fusarium oxysporum* en cultivos de pimentón y ajíes, en los departamentos de Antioquia, Córdoba, Cundinamarca y Valle del Cauca fue muy frecuente y de importancia en todas las zonas productoras de Colombia ocasionando pérdidas superiores al 40%.

Anaya et al. (2011), estudiaron que en México la enfermedad de raíz más importante del cultivo de ají es la marchitez. Se han reportado como agentes causales a *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sp* el cual fue aislado con una frecuencia de 42.6% y *Phytophthora capsici* con una frecuencia de 3.9%.

3.3 Ciclo de la enfermedad

Fusarium sp., es un habitante del suelo que sobrevive como micelio en residuos de plantas infectadas y en todas sus formas de esporas, pero, con mayor frecuencia, especialmente en las regiones templadas más frías, como clamidosporas. Su diseminación en el campo a distancias cortas se realiza por medio de agua y maquinaria agrícola contaminada y en largas distancias principalmente en trasplantes de plantas infectadas o en el suelo llevado con ellos. Por lo general, una vez que un área es infectada con *Fusarium*, se mantendrá indefinidamente.

Cuando las plantas sanas se siembran en suelo contaminado, el tubo germinativo de las esporas o el micelio penetran las puntas de las raíces directamente o entra a través de heridas o en el momento de formación de raíces laterales. El micelio avanza a través de la corteza de la raíz intercelularmente, y cuando llega a los vasos del xilema entran en ellos a través de los haces vasculares. El micelio permanece exclusivamente en los vasos y viaja a través de ellos, sobre todo hacia arriba, hacia el tallo y la corona de la planta. Mientras que en los vasos, el micelio se ramifica y produce microconidias, las

cuales se separan y son llevadas hacia la parte aérea de la planta en el flujo de savia. Las microconidias germinan en donde se detiene el movimiento ascendente de la savia, el micelio penetra en la pared superior de los haces vasculares, produciendo más microconidias. El micelio también avanza lateralmente a los vasos adyacentes, penetrando a través de los haces.

La obstrucción de los haces por el micelio, esporas y el aplastamiento de los vasos por la proliferación de las células del parénquima, es responsable de pérdida de agua de la planta infectada. Cuando las hojas transpiran más agua que las raíces y el tallo, los estomas se cierran y las hojas se marchitan y finalmente muere la planta. Luego, el hongo invade todos los tejidos de la planta, llega a la superficie de la planta muerta, y hay esporulación. Las esporas pueden ser diseminadas a plantas sanas o nuevas áreas por el viento, el agua, etc.

A veces, cuando la humedad del suelo es alta y la temperatura es relativamente baja, las plantas infectadas pueden generar aceptables producciones, sin embargo, en tales casos, el hongo puede alcanzar el fruto de las plantas y penetrar o contaminar la semilla. Por lo general, los frutos infectados se pudren y se caen. Las semillas infectadas son muy ligeras y no siempre son eliminadas en los procedimientos de extracción y limpieza de estas, y por lo tanto, juegan un papel importante en la propagación del hongo (Agrios, 2005).

3.4 Factores ecológicos

La marchitez vascular es favorecida por las heridas que se realizan en las raíces y tallos. Se transmite en semillas y a través del suelo contaminado. La enfermedad es más frecuente en suelos ácidos, mal drenados y de textura liviana. Las plantas afectadas que se dejan en el campo son la principal fuente de inóculo, ya que el patógeno esporula fácilmente en las plantas enfermas y es diseminado por el agua y el viento a plantas sanas. El hongo sobrevive en el suelo en forma de clamidosporas y en residuos de cosecha (FAO, 2003).

3.5 Daño

La enfermedad se caracteriza por la aparición de los síntomas de marchitamiento, acompañada del amarillamiento parcial de las hojas, a causa de la interferencia en el crecimiento; en estados iniciales en las hojas puede verse la mitad clorótica y la mitad de un color verde normal. Se observa una disminución del crecimiento de la planta. Los síntomas de la enfermedad avanzan afectando la planta hacia arriba hasta causar un marchitamiento generalizado y la muerte (Garcés et al., 2001).

Un aspecto muy importante para el diagnóstico de la enfermedad que la diferencia fácilmente de otras enfermedades vasculares es una coloración café-rojizo en los vasos conductores (Santos, 2010).

3.6 Manejo de *Fusarium sp*

3.6.1 Control Químico

Las respuestas a la aplicación de fungicidas sistémicos, principalmente de aquellos del grupo de los benzimidazoles, han sido variables debido posiblemente a la aparición de aislamientos resistentes a dichos fungicidas, como comprobaron Tramiery Bettacchini (1974), Leski (1977) y Gullino *et al.*, (1986). Según Arbeláez (1987), en Colombia se ha detectado una baja eficiencia del benomil en el control de la enfermedad, por ello, dicho fungicida se aplica muy poco. De la misma manera Garibaldi y Gullino (1987) encontraron que en Italia por el uso frecuente del Benomil, se presentó una disminución significativa en la sensibilidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthia* dicho fungicida (citado por Garcés et al., 2001).}

Utkhede y Mathur (2005), evaluaron dos productos químicos Rovral®, BASF 516 para el control de la pudrición de los frutos en ají dulce bajo condiciones de invernadero y mostraron que redujeron el porcentaje de infección de los frutos de ají dulce e incrementó el rendimiento de los mismos.

3.6.2 Control Biológico

Corpoica evaluó una mezcla de tres (3) microorganismos antagonicos *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma* sp., *Pseudomonas fluorescens* para controlar el marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli en plantas de frijol, Los resultados fueron poco efectivos no parecen ser muy promisorios para el manejo de este tipo de enfermedades vasculares (Avendaño, et al. 2006).

Trichoderma viride mostró ser un buen control biológico in vitro de *Fusarium oxysporum* en 62%, donde se reduce el crecimiento radial del hongo patógeno (Sahi et al, 2007).

El control biológico del marchitamiento por *Fusarium* ha dado resultados alentadores. Control puede implicar previa inoculación de plantas con cepas no patógenas de *F. oxysporum* o el uso de hongos antagonistas, tales como *Trichoderma* y *Gliocladium*, *Pseudomonas fluorescens* y bacterias *Burkholderia cepacia*, y otros. Sin embargo, ninguno de los biocontroles se utiliza en la práctica todavía (Agrios, 2005).

Utkhede y Mathur (2005), evaluaron siete productos biológicos para el control de la pudrición de los frutos en ají dulce, bajo condiciones de invernadero y solo dos fueron eficaces para reducir el porcentaje de infección en los frutos y aumentar el rendimiento de los mismos.

3.6.3 Control Genético

Anaya et al. (2011), identificó de 26 colectas de ají un genotipo con resistencia a *Fusarium* sp el cual tiene un potencial para usarse en programas de mejoramiento genético en *Capsicum*.

Gómez (2010), evaluó un genotipo no comercial resistente de *Lycopersicon esculentum* Mill., como portainjerto para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici raza 3 (FoL3) en tres genotipos susceptibles. Los resultados mostraron que los genotipos susceptibles injertados e inoculados con FoL3 fueron estadísticamente iguales al testigo resistente.

Davika-rani et al., (2007), evaluaron 88 genotipos de chile contra *Fusarium solani* encontrando a F-112-5-83, SKAU-C-101 y PC-6 como resistentes al ataque del patógeno.

4. Materiales y Métodos

4.1 Evaluación del germoplasma en invernadero

La fase experimental de la investigación se realizó en el invernadero del centro experimental de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira (CEUNP) ubicado en el corregimiento El Carmelo, municipio de Candelaria, departamento del Valle del Cauca, situado a $3^{\circ} 24'$ latitud norte y $76^{\circ} 26'$ longitud oeste; con una altura de 980 m.s.n.m, una temperatura promedio de 24°C , 69% de humedad relativa y 1028 mm de precipitación promedio anual. Pertenece a la zona cálida – moderada, clima semiárido con cuatro meses del año con exceso de precipitación. (Pardey, 2008).

Se evaluaron 30 genotipos de ají y 16 plantas por genotipo, entre los que se encontraban accesiones F6, de los tres especies de capsicum: *C. annum*, *C. chinense* y *C. frutescens* y una variedad de ají *C. annuum* cv. Nathalie, la cual, se usó como testigo susceptible a ambas pudriciones y una accesión evaluada con resistencia a *P. capsici* (Tabla 1). La semilla de los diferentes genotipos de ají evaluado fue suministrada por el Programa de Investigación de Mejoramiento Genético Agronomía y Producción de Semillas de Hortaliza, obtenida dentro del proyecto: Estudios básicos para iniciar la producción de cultivares de ají *Capsicum* spp con resistencia a *P. capsici* y *Fusarium* sp.

Para *P. capsici* se utilizó un diseño experimental completamente al azar (CAA) con 16 plantas por genotipo. Cada bandeja estuvo conformada por un solo genotipo. Para *Fusarium* sp se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar (BCA) con cuatro repeticiones; en bandejas de 24 alveolos. Cada bandeja estuvo conformada por cuatro plantas, sembradas en un sustrato con chachaza carbonilla en una

concentración 2:1, previamente esterilizada. Se tuvo un bloque adicional sin inocular como testigo.



Figura 1: a. Plantas afectadas por *Fusarium* sp., b. y c. Síntomas visibles del daño por *Fusarium* sp., d. Plantas afectadas por *P. capsici*, e. Raíz afectada por *P. capsici*.

Se evaluó periódicamente la manifestación de síntomas que indicaban presencia del patógeno en los genotipos, en el caso de *Fusarium* sp se hizo día de por medio y para *P. capsici* cada seis días. Se realizaron siete evaluaciones para ambos patógenos, a partir de la inoculación, y se evaluaron las siguientes variables: número de plantas afectadas (incidencia), avance de la enfermedad (cm) para *P. capsici* y porcentaje de daño para *Fusarium* sp. Estas evaluaciones se realizaron durante dos siembras (Fig. 1).

La información obtenida se procesó estadísticamente, mediante un análisis de varianza y se realizó una prueba de comparación de medias (Duncan), con la ayuda del programa SAS versión 9.3. Se realizaron correlaciones simples entre las diferentes variables utilizadas.

Tabla 1: Genotipos evaluados para determinar la resistencia a *Phytophthora capsici* y *Fusarium* sp.

Código del Germoplasma	Descripción	Cultivar
84-25	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
S18-c9-10-1	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
S16-32-26-4	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
S21-27-31-7	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero amarillo
61-12	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
8-4	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
5-1	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
33-1	<i>Capsicumfrutescens</i>	Tipo Tabasco
S21-21-32	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
13-12	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño
98-3	<i>Capsicumfrutescens</i>	Tipo Tabasco
41-8	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño
S18-c9-10-1 P7	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño

14-28	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
83-4	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
75-6	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
11-11	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño
S22-17-32-5	<i>Capsicumfrutescens</i>	Tipo Tabasco
S52-23	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño
22-6-3	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño
28-6	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
11-17-3-3	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
10-4	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
S13-32-23-3	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
17-P1	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño
2-11	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
7-7-5	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Jalapeño
37-4	<i>Capsicumchinense</i>	Tipo Habanero
27-6	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
4-10	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
Resistente (8-6)	<i>Capsicumannuum</i>	Tipo Cayenne
Testigo susceptible (Nathalie)	<i>Capsicumannuum</i>	Pimentón

4.2 Inoculación con *P. capsici*

Se utilizaron ocho (8) aislamientos de *P. capsici* las cuales fueron colectadas en toda la región del valle (Yotoco, Palmira (CEUNP), Roldanillo, Darién, La Unión, Yumbo), para inocular los 30 genotipos de ají de 35 días de edad. La siembra de las cepas se hizo en un medio V8 (jugo de vegetales) y se dejaron crecer por ocho días en una incubadora a 28°C, previamente esterilizada.

Después de los ocho días las cajas Petri con el oomiceto se pusieron a esporular en la cámara de producción de zoosporas previamente desinfectada. Las cepas estuvieron por tres días con luz blanca, permitiendo que fuera homogénea para todas las cajas, Se agregó agua destilada estéril a la caja donde se encontraba el oomiceto (10 ml). Las cajas se llevaron a la nevera por 30 minutos para causar un estrés y el oomiceto se enquistó. Se llevaron de nuevo a la incubadora por 30 minutos. Se realizó un conteo por cepa sembrada, para determinar la cantidad de inóculo a utilizar por planta (unidad infectiva). La inoculación se realizó en horas de la tarde (alrededor de las 6:00 pm) para asegurar la infección.

La concentración de *P. capsici* que se empleó fue de 2×10^5 zoosporas/ml. La inoculación consistió en adicionar aproximadamente 5ml del inóculo a la planta a la base del tallo. Las plantas se evaluaron cada seis días hasta el día 42 después de inoculadas, en ellas se midió el avance de la enfermedad a partir del sitio de inoculación.

Se clasificaron las plantas como susceptibles, con resistencia parcial y resistente de acuerdo al número de plantas afectadas y el avance de la enfermedad (severidad).

4.3 Inoculación con *Fusarium* sp.

Se utilizó una cepa de *Fusarium* sp aislada del híbrido comercial de pimentón llamado golazo de cuatro meses de edad, proveniente de la localidad de Bolívar del departamento

del Valle del Cauca a 1629msnm (Clavijo, 2009), para inocular las plantas en F7 de las accesiones que mostraron alguna tolerancia y resistencia a *P. capsici*. La siembra del hongo se hizo en PDA (papa dextrosa agar) y se dejó crecer por ocho días en la incubadora a 28°C. Se hizo un conteo para determinar la cantidad de inóculo que se utilizaría por planta. La inoculación se realizó en horas de la tarde (alrededor de las 6:00 pm) para asegurar la infección.

Se utilizó una concentración de 10^6 conidias/ml. La inoculación consistió en sumergir la raíz de la planta a la cual se le realizó una pequeña herida para favorecer la penetración del patógeno, en 1ml de la suspensión durante tres horas y luego fueron sembradas en las bandejas. Las plantas se evaluaron cada dos días hasta el día 14 después de inoculadas, las cuales se les midió el avance de la enfermedad con una tabla de evaluación de la severidad de acuerdo a la escala (Tabla 2).

Tabla 2: Evaluación de la severidad para *Fusarium sp*.

ESCALA	SÍNTOMAS
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

(Modificado de Elmer *et al.*, 2004).

Se clasificaron las plantas como susceptibles, resistencia parcial y resistentes de acuerdo al número de plantas afectadas y al porcentaje de daño (severidad).

4.4 Extracción y cuantificación de capsaicina

Se usó la metodología de extracción soxleth propuesto por Franz von Soxhlet que consiste en el lavado sucesivo de una mezcla sólida en este caso los frutos de ají con un determinado solvente afín a la polaridad del metabolito de interés etanol, que va extrayendo de la mezcla la capsaicina.

Después de concentrar el extracto con un rotaevaporador, las muestras son rotuladas y almacenadas a 4°C. Antes de que las muestras sean analizadas en el HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) debe ser filtrada.

La cuantificación se realizó con el HPLC, utilizando tres repeticiones de inyección por muestra con la microjeringa para documentar un valor promedio por muestra (Anexo 1).

5. Resultados y Discusión

5.1 Evaluación de la Incidencia y Severidad para *Phytophthora. capsici*

El avance de la enfermedad (severidad en cm) en el germoplasma producido por *P. capsici* presento diferencias significativas entre las accesiones (Tabla 3). Similares resultados obtuvo Hurtado (2010). Roig (2009) evaluó *Phytophthora capsici* en pimentón e identificó algunas introducciones catalogadas como menos susceptibles que las variedades comerciales.

El síntoma de la enfermedad en las plantas susceptibles a lo largo del tallo se caracterizó por presentar un color marrón oscuro, con un crecimiento más rápido mientras que en las plantas clasificadas como resistentes esta coloración se presentó con un crecimiento más lento (Figura 2). Características que corresponden a la descripción realizada por Leonian (Lamour, 2004).



Figura 2: Progreso de la enfermedad en material susceptible y resistente a *P. capsici*. **a.** Material susceptible., **b.** material resistente a *P. capsici*.

re
 cuales tienen una dependencia lineal entre longitud de necrosis (medida inversa de resistencia).

El avance de la enfermedad para la última lectura (día 42) mostró diferencias significativas para las accesiones evaluadas, el crecimiento de la lesiones por día y por semana fue significativo siendo mayor para las accesiones que mostraron ser más susceptibles a *P. capsici* (Tabla 3).

Tabla 3: Cuadrados Medios para la Variable avance del síntoma (cm) producido por *P. capsici* al día 42 (SevP.capsici42), índice de crecimiento por día (IndCreDía) y índice de crecimiento por semana (IndCreSem).

Fuentes de Variación	Cuadradosmedios		
	SevP.capsici42	IndCreDia	IndCreSem
Germoplasma	577,98**	3,6**	0,10**
Media	6,61	0,56	0,094
Desviación estándar	1,462	0,136	0,022

Se presentaron diferencias significativas en los días de evaluación después de la inoculación y en la interacción entre germoplasma por días de evaluación (tabla 4). Las diferencias significativas en esta interacción se debe a que después de la inoculación el progreso medio del síntoma no es similar en el tiempo. Resultados similares fueron encontrados por Bartual (1991).

Tabla 4: Análisis de Varianza para la Variable avance de la enfermedad (cm) producido por *P. capsici*, interacción germoplasma por días de evaluación.

Fuentes de Variación	grados de Libertad (GI)	Avance del síntoma acumulado (cm) producido por <i>P. capsici</i>	
		CM	Pr>F
Rept	3	2,3525	0,0119
Germoplasma	31	307,9081	<.0001
Dias	6	498	<.0001
GermoplasmaxDias	186	15,0901	<.0001

La variable incidencia se evaluó por el número de plantas afectadas que fueron inoculadas para el ensayo. La medición fluctuó entre 0-100%. Se eliminó todas las accesiones que presentaron una incidencia mayor del 75%. El germoplasma se clasificó con base en incidencia y severidad en tres grupos: susceptibles, resistencia parcial y resistentes. Las accesiones con valores de incidencia del 100% y avance de la enfermedad de hasta 13cm fueron susceptibles, entre 10-30% de incidencia y 1-3cm de avance de la enfermedad tolerantes y entre 0-9% incidencia y 0.9 de avance de la enfermedad resistentes (Tabla 5).

Tabla 5: Severidad promedio (Sevmedia42) y porcentaje de plantas afectadas (%platafect42) en el día 42 para *P. capsici* en el germoplasma evaluado.

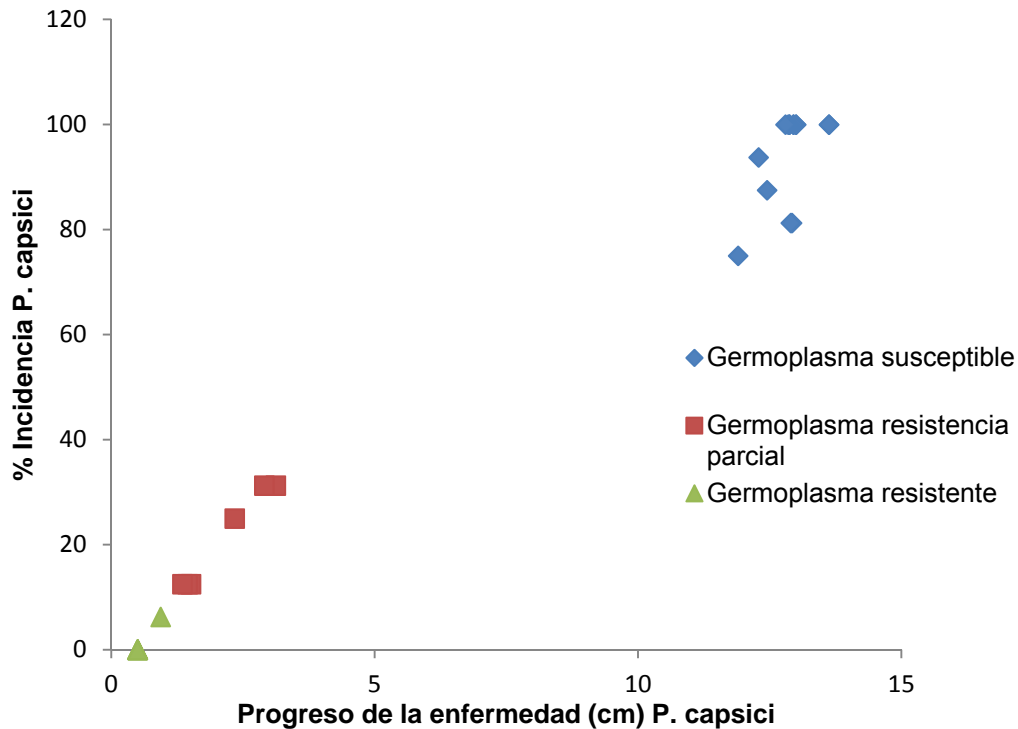
Germoplasma	Sevmedia42		%platafect42	
Nathalie	13,625	a	100	a
4-10	13,625	a	100	a
7-7-5	13	ab	100	a
37-4	13	ab	100	a

27-6	12,95	ab	100	a
14-28	12,95	ab	100	a
75-6	12,925	ab	81,25	a
11-17-3-3	12,9	ab	81,25	a
2-11	12,875	ab	100	a
28-6	12,875	ab	100	a
83-4	12,85	ab	100	a
10-4	12,8	ab	100	a
13-12	12,45	ab	87,5	a
S13-32-23-3	12,2875	b	93,75	a
S16-32-26-4	11,9	b	75	a
S18-C9-10-1	3,125	c	31,25	b
11-11	2,9063	c	31,25	b
33-1	2,3438	cd	25	b
17	1,5125	ed	12,5	c
84-25	1,45	ed	12,5	c
5-1	1,35	ed	12,5	c
98-3	0,9375	e	6,25	d
8-4	0,5	e	0	d
s22-17-32-5	0,5	e	0	d
22-6.3	0,5	e	0	d
S52-23	0,5	e	0	d
S21-21-32	0,5	e	0	d
41-8	0,5	e	0	d
S21-27-31-7	0,5	e	0	d
61-12	0,5	e	0	d
S18-C9-10-1 P7	0,5	e	0	d
8-6	0,5	e	0	d

Las accesiones S52-23, 8-4, 22-6-3, S22-17-32.5, 61-12, S21-21-32, S18-C9-10-1p7, 41-8 y S21-27-31-7 tuvieron el mismo comportamiento que el genotipo resistente de 0% de incidencia y 0,5cm de avance de la enfermedad seleccionándose como muy resistentes.

La accesión 98-3 no presento el mismo comportamiento que el genotipo resistente pero su porcentaje de incidencia y avance de la enfermedad fue menor del 6.25% y 0.94cm respetivamente (figura 4).

Figura 3: Relación entre la variable avance de la enfermedad (cm) producido por *P. capsici* (severidad) y la variable porcentaje de plantas muertas.

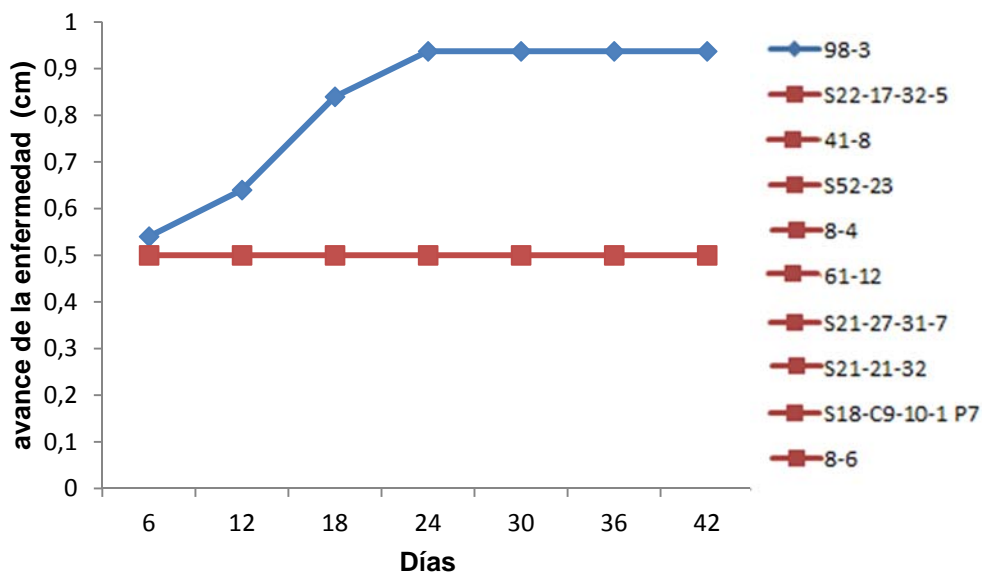


Ortega et al., 1991; Walker y Bosland 1999; Oelke et al., 2003 encontraron en variedades nativas "landrace" criollos de Morelos (SCM 334), del estado de mexicano de Morelos y USDA PI201234, una accesión de América Central, la cual presentan alta resistencia a *P. capsici*.

Se han realizado estudios para determinar la herencia de la resistencia (Bartual et al., 1991), pero los resultados no han sido concluyentes en cuanto al número de genes

involucrados en la resistencia a *P. capsici* en *Capsicum* sp., pero hay un indicio de que la resistencia a *P. capsici* es poligénica (Thabuis et al., 2004; Ogundiwin et al., 2005).

Figura 4: Genotipos resistentes con relación al progreso de la enfermedad (cm) producido por *P. capsici* (severidad) a través del tiempo.



Se seleccionaron las accesiones de *C. annuum* S52-23, 22-6-3, S18-C9-10-1p7, 41-8, de *C. chinense* 8-4, 61-12, S21-27-31-7, S21-21-32 y de *C. frutescens* 98-3 y S22-17-32.5.

Andrés et al (2005), no encontró resistencia completa en líneas locales de *Capsicum annuum*, pero mostró diferencias significativas en la interacción entre los distintos genotipos y cepas. Este comportamiento posiblemente se deba a una resistencia que involucra distintos genes de virulencia presente en cepas diferentes y a respuestas diferenciales en genes de virulencia (poligénica), así como a distintas acciones o mecanismos de virulencias entre los aislados inoculados.

El estudio de la resistencia genética de pimentón y ajíes a *P. capsici* ha sido complicado debido a la falta de un conjunto común de aislamientos patogénicos y genotipos hospederos (Glosier et al., 2007).

5.2 Evaluación de la Incidencia y Severidad para *Fusarium* spp.

El porcentaje de daño producido por *Fusarium* sp presentó diferencias significativas entre las 23 accesiones evaluadas (tabla 6). En Colombiano hay reportes de estudios en *Capsicum* de resistencia para *Fusarium* spp., básicamente se enfoca a el control de la enfermedad. Se han hecho estudios de mapeo del genoma en tomate que muestra resistencia a la enfermedad, la conservación de características de resistencia en el loci y la rápida diversificación de los genes para la resistencia innata dentro de los loci (Sela et al., 2001).

El avance de la enfermedad para la última lectura (día 14) mostró diferencias significativas para las accesiones evaluadas, el índice de crecimiento por día y por semana es también significativo y fue mayor para las accesiones que mostraron ser más susceptibles a *Fusarium* (Tabla 6).

El síntoma se presentó en las plantas susceptibles con hojas cloróticas, enanismo marchitamiento y muerte de la planta (Garcés et al., 2001), mientras que en las plantas clasificadas como resistentes la clorosis fue más leve o sin síntoma. Los intervalos de evaluación fueron más cortos para *Fusarium* spp que para *P. capsici*, debido al método de inoculación (Figura 5).

Para todas las fuentes de variación hubo diferencias significativas. En la interacción entre germoplasma por días de evaluación después de la inoculación ocurre igual que para *P. capsici*, el daño no es el mismo en el tiempo (tabla 7).



Figura 5: Comportamiento de la enfermedad en genotipo susceptible y resistente a *Fusarium* spp. **a.** genotipo susceptible., **b.** genotipo resistente a *Fusarium* spp.

Tabla 6: Análisis de Varianza para la Variable porcentaje de daño producido por *Fusarium* spp al día 14 (SevFusarium14), índice de crecimiento por día (IndCreDía) y índice de crecimiento por semana (IndCreSem).

Fuentes de Variación	Cuadrados medios		
	sevP.capsici42	IndCreDi	IndCreSem
		a	
Germoplasma	3903,95**	10.43**	41,72**
media	27,22	1,37	2,75
Desviaciones tandar	7,13	0,44	0,89

Tabla 7: Análisis de Varianza para la Variable porcentaje de daño producido por *Fusarium spp.*, interacción germoplasma y días de evaluación.

Fuentes de Variación	Grados de Libertad (GI)	% Severidad producido por <i>Fusarium</i>	
		CM	Pr>F
Rept	3	2208,1781	<.0001
Germoplasma	22	14383,6533	<.0001
Dias	6	8121,2862	<.0001
GermoplasmxDias	132	511,8030	<.0001

La variable incidencia para *Fusarium spp.*, presentó diferencias significativas. Los valores de incidencia fluctuaron entre 0-100%. Se eliminó todas las accesiones que presentaron una incidencia mayor del 75%. El germoplasma para *Fusarium spp* se clasificó al igual que para *P. capsici* en tres grupos: susceptibles, resistencia parcial y resistentes, donde las accesiones con valores de incidencia del 100% y porcentaje de daño del 80% fueron susceptibles, entre 10-38% de incidencia y 10-30% de porcentaje de daño tolerantes y entre 0-9% de incidencia y 0-9% de porcentaje daño resistentes (tabla 8).

Tabla 8: Severidad promedio (Sevmedia14) y porcentaje de plantas afectadas (%platafect14) en el día 14 para *Fusarium spp.*

germoplasma	Sevmedia14		%platafect14	
S16-32-26-4	80	a	100	a
75-6	78,75	a	100	a
13-12	78,75	a	100	a

S13-32-23-3	78,75	a	100	a
11-17-3-3	77,50	a	100	a
Nathalie	58,75	b	75	a
98-3	28,75	c	37,5	b
8-4	28,75	c	37,5	b
S52-23	28,75	c	37,5	b
S18-C9-10-1	27,50	c	37,5	b
5-1	25	c	37,5	b
33-1	7,5	d	6,25	c
s22-17-32-5	6,25	d	6,25	c
22-6.3	6,25	d	6,25	c
84-25	5	d	6,25	c
61-12	5	d	6,25	c
S21-21-32	3,75	d	6,25	c
S18-C9-10-1	1,25	d	0	c
P7				
11-11	0	d	0	c
17	0	d	0	c
41-8	0	d	0	c
S21-27-31-7	0	d	0	c
8-6	0	d	0	c

Las accesiones 17, S21-27-31-7, 11-11, y 41-8 tuvieron el mismo comportamiento que el genotipo resistente a *P. capsici* de 0% de incidencia y 0% de porcentaje de daño seleccionándose como muy resistentes (figura 7).

Se seleccionó como germoplasma resistentes las accesiones 84-25, 61-12, 17, S21-27-31-7, S21-21-32, S18-C9-10-1-p7, 11-11, S21-17-32-5, 22-6-3, 33-1 y 41-8. Algunos genotipos se recuperaron a través de los días de evaluación, es decir, disminuyeron su porcentaje de severidad para la quinta lectura (día 10), las accesiones S22-17-32-5, S21-27-31-7, S18-C9-10-1-p7y 11-11 tuvieron una disminución de porcentaje de daño de 1.25% excepto la 22-6-3 que presentó un porcentaje de 2.5%(figura 7).

En Colombia no hay reportes sobre cual especie esté causando principalmente la pudrición de ají y pimentón, adicionalmente la dificultad que se observa en los agricultores para diferenciar daños causados por *Fusarium* spp. a los daños ocasionados por *P. capsici* en zonas productoras de Yumbo, Dagua, Darién, Vijes y La Unión (Muñoz, 2010).

Figura 6: Relación entre la variable porcentaje de daño producido por *Fusarium* sp y la variable porcentaje de plantas afectadas (incidencia).

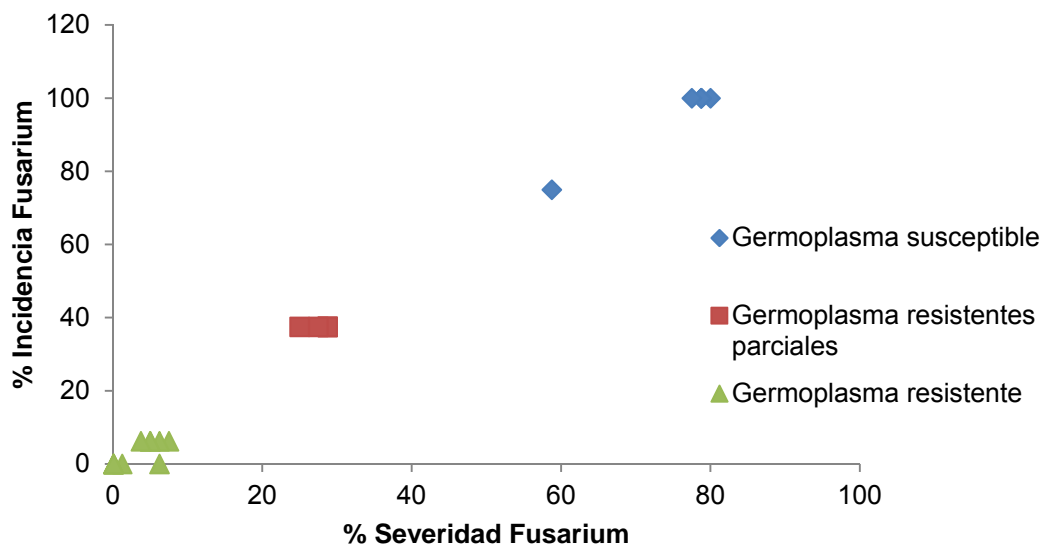


Figura 7: Genotipos resistentes con relación al porcentaje de severidad producido por *Fusarium* sp a través del tiempo.

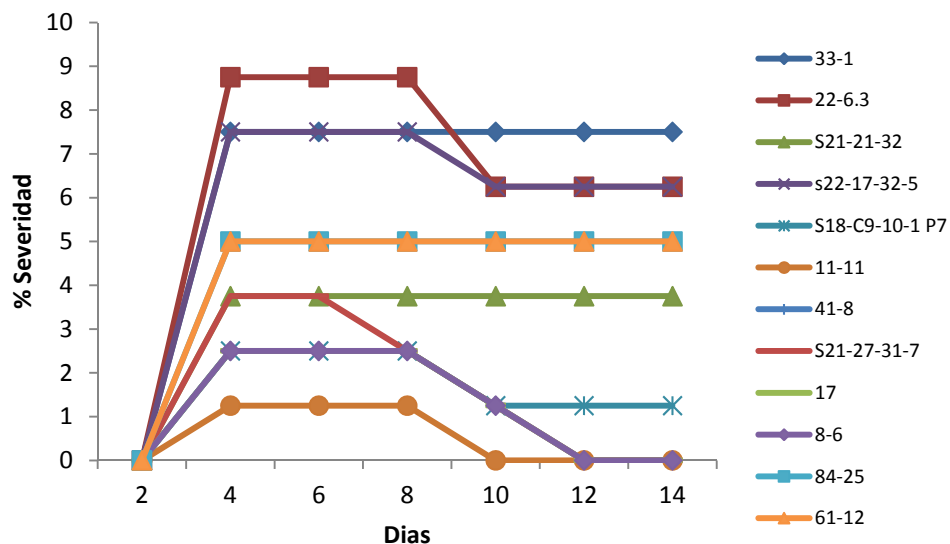
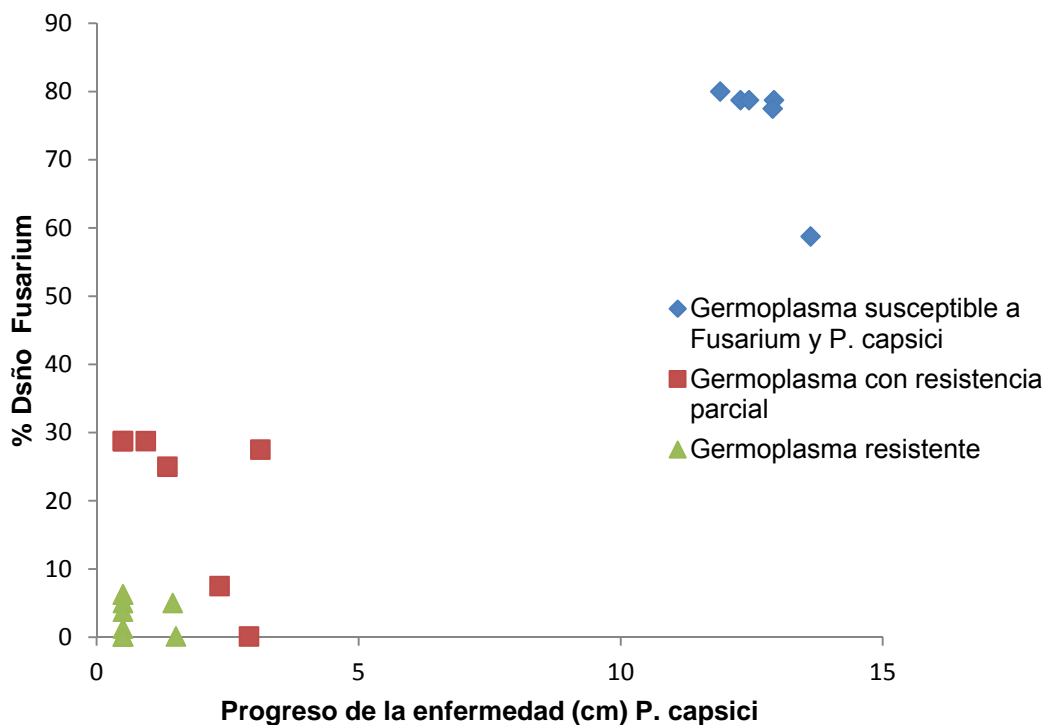


Figura 8: Germoplasma resistencia a *P. capsici* y *Fusarium* spp.



La selección final del germoplasma se hizo con resistencia tanto para *P. capsici* como para *Fusarium* spp. Se seleccionaron las accesiones 22-6.3, s22-17-32-5, 84-25, 61-12, S21-21-32, S18-C9-10-1 P7, 41-8, S21-27-31-7 y 17 como resistentes a *P. capsici* y *Fusarium* spp.; las accesiones 98-3, S52-23, 8-4, S18-C9-10-1, 5-1, 33-1 y 11-11 con resistencia parcial y S16-32-26-4, S13-32-23-3, 13-12, 75-6 y 11-17-3-3 como susceptibles (Figura 8).

A nivel mundial los reportes de búsqueda de fuentes de resistencia en *Capsicum* a *Fusarium* son escasos. En Colombia no hay reportes en *Capsicum* de resistencia a *Fusarium* spp. La Universidad Nacional de Colombia sede Palmira ha adelantado trabajos de colectas de campos contaminados en zonas productoras para la identificación de este patógeno. Este estudio ayudará a que se realicen futuros programas de mejoramiento para variedades comerciales.

Gocmen y Aback (2006) reportaron 6 accesiones de *Capsicum annuum* resistentes a *Fusarium* de 25 accesiones evaluadas con resistencia a *Phytophthora capsici*. Algunos autores han reportado moderada resistencia a *Fusarium* (Kelaiya et al., 2000). Nayeema (1996) encontró inmunidad del cultivar 'Masalwadi' de *Capsicum annuum* a *Fusarium pallidorosorum*, cinco muy resistentes, diez resistentes y 26 líneas con resistencia moderada.

Jabeen (2007) reportó que la resistencia moderada en el pimentón Arka Lohit (*Capsicum annuum*) a *F. pallidoroseum* fue controlada por un gen dominante.

5.3 Contenido de capsaicina

La pungencia es la característica propia de los ajíes contribuida principalmente por capsaicina, seguido de de hidrocapsaicina. El contenido de capsaicina varió desde cero hasta 2,45 mg/g (Tabla 9). Se ha evidenciado que la pungencia es una respuesta afectada por la interacción genotipo por ambiente. Pardey (2008) reportó frutos hasta de 5mg/g. Melgarejo et al, 2004 reportó para seis introducciones del amazonas un contenido máximo de 1.6 mg/g (Pardey, 2008).

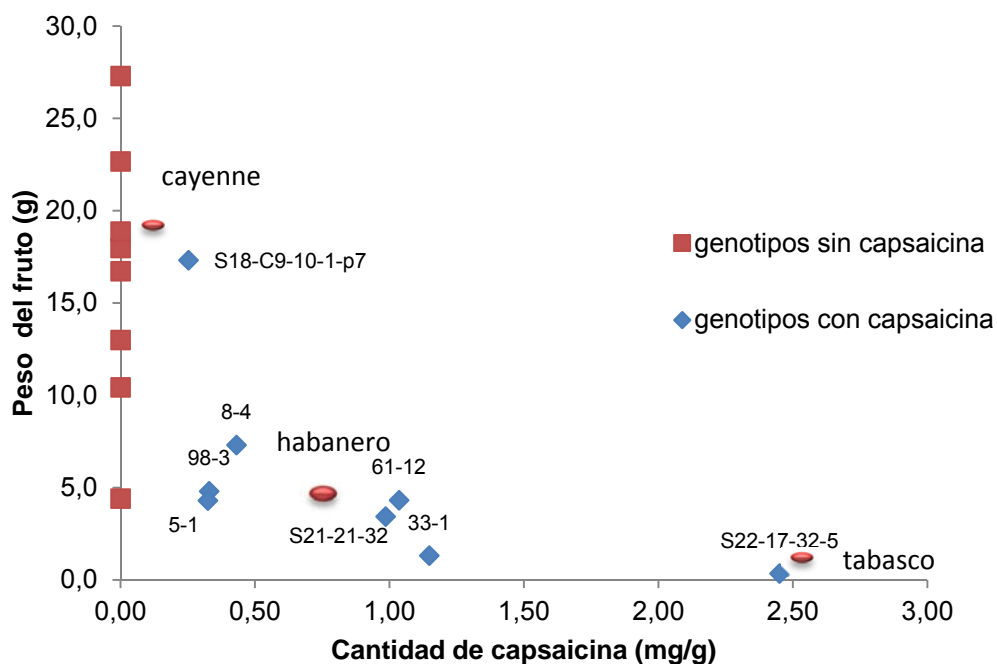
De las accesiones evaluadas se encontraron genotipos que sobresalieron por su alto contenido de capsaicina con relación a las variedades comerciales de los diferentes tipos de ají. S21-21-32 y 61-12 son ajíes tipo habanero que presentaron un contenido de 1.04 y 0.99mg/g respectivamente superior al habanero comercial y la accesión S18-C9-10-1-p7 con 0.25mg/g superando a la variedad comercial cayenne con 0.1mg/g.

Tabla 9: Accesiones resistentes a *P. capsici* y *Fusarium* spp y con alto contenido de capsaicina

Germoplasma	Tipo de Formato	Cantidad mg/g	Peso Frutos (g)
S22-17-32-5	<i>C. frutescens</i>	2,45	0,4
33-1	<i>C. frutescens</i>	1,15	1,3
98-3	<i>C. frutescens</i>	0,33	4,8
Tabasco	comercial	2,7	0,6
61-12	<i>C. chinense</i>	1,04	4,3
s21-21-32	<i>C. chinense</i>	0,99	3,4
8-4	<i>C. chinense</i>	0,43	7,3
5-1	<i>C. chinense</i>	0,32	4,3
Habanero	comercial	0,8	1,5
s18-c9-10-1-p7	<i>C. annum</i>	0,25	17,3
Cayenne	comercial	0,01	18

Las accesiones que mostraron resistencia a las dos enfermedades y que a su vez tuvieron alto contenido de capsaicina fueron S21-21-32y 61-12 identificadas como *C. chinense*y s22-17-32-5 identificada como *C. frutescens*; la accesión 33-1 (*C. frutescens*) no están dentro de los valores establecidos como resistentes pero se seleccionó por su alto contenido de capsaicina,

Figura 9: **Contenido de capsaicina asociado a peso de fruto en 16 accesiones de Capsicum.**



Al relacionar el peso de fruto con el contenido de capsaicina se encontró correlación inversa, a mayor contenido de capsaicina el peso de fruto es menor. La ubicación espacial de las 16 accesiones con los valores de capsaicina asociadas a peso de fruto fueron dispersos con valores extremos como la accesión S22-17-32-5, correspondió a un tipo tabasco. La pungencia de las variedades comerciales en orden decreciente fue Tabasco, seguido de Habanero y Cayenne (Figura 9).

Tabla 10: Correlaciones simples entre las variables germoplasma porcentaje de daño producido por *Fusarium* spp (SevFusarium) avance de la enfermedad producido por *P. capsici* (SevPcapsici) y contenido de capsaicina (contcapsaina).

Variab les	Germoplasma	SevPcapsici	SevFusarium	ContCap
Germoplasma	100.000	-0.18048	-0.03033	-0.43477
SevPcapsici		100.000	0.12356	-0.15622
SevFusarium			100.000	-0.20916
ContCap				100.000

El contenido de capsaicina no mostró correlación con la resistencia a las enfermedades, datos similares obtuvo Egea-Gilabert (2008) al evaluar características morfológicas como el contenido de capsaicina, relacionadas con la resistencia a *P. capsici* en *Capsicum*.

6. Conclusiones

Se identificaron nueve accesiones (líneas F6) con alta resistencia a *P. capsici* y de 23 accesiones (líneas F7) evaluadas para *Fusarium* spp once fueron resistentes.

Se hallaron cuatro accesiones de las especies *C. annuum*, *C. frutescens*, y *C. Chinense* que mostraron resistencia a *P. capsici* y *Fusarium* spp., con alto contenido de capsaicina.

En el germoplasma evaluado se identificaron genotipos sobresalientes en contenido de capsaicina que superan a las variedades comerciales Cayenne y Habanero. Este germoplasma indica la existencia de genotipos potenciales de alto valor para su incorporación en programas de mejoramiento genético.

La accesión S22-17-32-5 que corresponde a un *Capsicum frutescens* presentó menor porcentaje de daño y avance de la enfermedad y un mayor contenido de capsaicina.

A. Anexo: Metodología de extracción de soxleth

Etapa 1. Se Recolectó los frutos de la segunda siembra (frescos o conservados a -20°C).

Etapa 2. Se cortó los frutos de ají incluida la placenta en tiras, cuadros o rodajas y procedemos a pesar la muestra.

Etapa 3. Se colocó la muestra en un balón aforado y se adiciona diez (10) veces la cantidad del peso del fruto en etanol (ejemplo: si son 5 gramos de ají, se le adiciona 50 ml de etanol).

Etapa 4. Se colocó la muestra en el extractor soxleth a reflujo de tres a cuatro horas y se le dan condiciones de oscuridad, ya que la capsaicina es sensible a la luz, por ende el balón aforado donde se encuentra la muestra es forrado en papel aluminio.

Etapa 5. Después de pasadas la 4 horas, se extrajo el etanol por medio del rotaevaporador Heidolph (60°C de temperatura y 240mbares o 180mm de mercurio de presión).

Etapa 6. Las muestras se empacaron en tubos falcón previamente forrados con papel aluminio y rotulados y se almacenan en la nevera a 4°C.

Etapa 7. Se procedió a analizar en el High-performance liquid chromatography (HPLC), Cromatografía líquida de alta eficacia.

B. Anexo: Metodología para cuantificación con HPLC

Después de haber realizado la extracción de los frutos de ají, las muestras se analizan en el HPLC.

Se utilizó una fase móvil que contenía una mezcla de agua miliQ, acetonitrilo y ácido acético.

Se hicieron tres a cuatro repeticiones de inyecciones con la muestra para sacar un promedio, la muestra debe estar previamente filtrada para garantizar que esté libre de impurezas y cada vez que se cambiaba la muestra se limpiaba el bulbo con la fase móvil evitando que queden residuos de la muestra anterior obteniendo datos confiables.

El sistema genera el reporte de la muestra analizada (cada 12 minutos).

7. Bibliografía

AGRIOS, George. N. Plant Pathology. Quinta edición. 2005. P549-552.

AGRONET. 2010. Anuario estadístico de frutas y hortalizas 2006-2010 y sus calendarios de siembras y cosechas. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/agronetweb1/Estad%C3%ADsticas.aspx> [Fecha de revisión: 26 enero 2011].

AGRONET. 2012. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Anuario estadístico de frutas y hortalizas 2007-2011 y sus calendarios de siembras y cosechas, Resultados Evaluaciones Agropecuarias Municipales 2011. Dirección de Política Sectorial-Grupo Sistemas de Información. Bogotá, D.C. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/agronetweb1/Estad%C3%ADsticas.aspx> [Fecha de revisión: enero 2012].

Anaya L., J. L.; González C., M. M.; Villordo P., E.; Rodríguez G., R.; Rodríguez M., R.; Guevara G., R. G.; Torres P., I. 2011. Selección de genotipos de chile resistentes al complejo patogénico de la marchitez. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 2(3), 373-383.

ANDRÉS ARES J. L; RIVERA MARTINEZ A; POMAR BARBEITO F; FERNANDEZ PAZ J. 2005. Short communication. Telluric pathogens isolated from blighted pepper (*Capsicum annuum* L.) plants in northwestern Spain. Spanish journal of Agricultural research 3(3), 326-330.

ANDRÉS ARES J. L; RIVERA, MARTINEZ A; FERNANDEZ PAZ J. 2005. Resistance of pepper germplasm to *Phytophthora capsici* isolates collected in northwest Spain. Spanish journal of Agricultural research 3(4), 429-436.

AVENDAÑO, C; ARBELÁEZ, G; RENDÓN, G. 2006. Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* en frijol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma* sp. y *Pseudomonas fluorescens*. Agronomía Colombiana.

BARTUAL, R; MARSAL, J. I; CARBONELL, E. A; TELLO, J. C; CAMPOS, T. 1991. Genética de la resistencia a *Phytophthora capsici* L en pimiento. Bol. San. Veg. Plagas, 17: 3-124.

CARRILLO, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta. P70-72 (ISBN 987-9381-19-X).

CAFÉ-FILHO, A., RISTAINO, J. 2008. Fitness of Isolates of *Phytophthora capsici* Resistant to Mefenoxam from Squash and Pepper Fields in North Carolina. The American Phytopathological Society. Plant Disease vol. 92 No. 10.

CORPOICA. 2005. Problemas patológicos en los cultivos de pimentón y berenjena. Asociación Colombiana de Fitopatología. ASCOLFI, vol 31/6.

Egea-Gilabert, C., Bilotti, G., Requena, M. E., Ezziyani, M., Vivo-Molina, J. M., & Candela, M. E. (2008). Pepper morphological traits related with resistance to *Phytophthora capsici*. *Biologia Plantarum*, 52(1), 105-109.

ESCAMILLA, S., E. 2011. Extracción de capsaicina de chiles frescos (*Capsicum chinense*) consolventes orgánicos. Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.

FAO. 2011. Estadísticas Agrícolas mundiales. FAOSTAT. Disponible en:<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>[Fecha de revisión: [20 julio 2011]].

FAO. 2003. Manejo integrado de enfermedades. P53-54. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1374s/a1374s05.pdf> [Fecha de revisión: marzo 2012].

FLETCHER, J. T. 1994. *Fusarium* stem and rot of sweet peppers in the glasshouse. *Plant Pathology*, 43, 225-227.

GARCÉS G., E.; OROZCO A., M.; ROCÍO B., G.; VALENCIA, H. 2001. *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. *Acta Biológica Colombiana*, Vol. 6 No. 1, p 7-25.

GLOSIER, B. R., OGUNDWIN, E. A., SIDHU, G. S., SISCHO, D. R., & PRINCE, J. P. (2008). A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica*, 162(1), 23-30.

GÖÇMEN, M.; ABAK, K. 2006. Determine the genotypes resistant to *Fusarium solani* in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Bahçe* Vol. 35 No. 1/2 pp. 1-8

GONZALEZ C., M.M.; VILLORDO P., E.; TORRES P., I.; DELGADILLO S., F.; RODRIGUES G., R.; GUZMAN M., S.H.; PONS H., J. L. 2004. Búsqueda de genotipos resistentes a patógenos de raíz causantes de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.).

GONZALEZ V., C. A.; SELEME, F. d V.; JURI, C. M. 2002. Relevamiento de Patógenos causante de Enfermedades en Pimiento (*Capsicum annuum*) para Pimentón en la Provincia de Catamarca. Congreso Regional de ciencia y tecnología.

GÓMEZ ZAVALA, L. A. (2010). Uso de injertos y contenido de fenoles solubles totales en genotipos de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistentes y susceptibles a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3.

GUIGÓN, L., C.; GONZALEZ, G., P. A. 2003. Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp., con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*.

HURTADO, I. 2010. Búsqueda de resistencia a *phytophthora capsici* Leonian en germoplasma de *Capsicum* spp. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

JABEEN, N., AHMED, N., KHAN, S. H., CHATTOO, M. A., & SOFI, P. A. (2007). Inheritance of resistance to *Fusarium* wilt [*Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc.] in chilli (*Capsicum annuum* L.). *The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 67(4), 334-336.

KELAIYA, D. S.; PARAKHIA, A. M. 2000. Screening of chilli varieties against *Fusarium* wilt. *Gujarat Agricultural University Research Journal* Vol. 25 No. 2 pp. 101-102

LAMOUR K. H and HAUSBECK M. K. 2001. Investigating the Spatiotemporal Genetic Structure of *Phytophthora capsici* in Michigan. *Phytopathology*, vol.91, no. 10, p. 973-980.

LAMOUR, K. H; HAUSBECK, M. K. 2003. Effect of Crop Rotation on the Survival of *Phytophthora capsici* in Michigan. *The American Phytopathological Society*.

LAMOUR, K. H; HAUSBECK, M. K. 2004. *Phytophthora capsici* on Vegetable Crops: Research Progress and Management Challenges. *The American Phytopathological Society. Plant Disease / Vol. 88 No. 12*

LESLIE, J. F.; SUMEMERELL, B. A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing. P388.

LIGARRETO, MORENO, G. A; ESPINOSA, BAYER, N; MENDEZ, PINEDA, M. A. 2004. Recursos Genéticos y Cultivos de Ají y Pimentón *Capicum* sp. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Facultad de Agronomía.

MENYONGA, J. M.; TSAO, P. H. 1966. Production of zoospores suspensions of *Phytophthora parasitica*. Phytopathological notes.

MICHIELSE, C. B.; REP, M. 2009. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Molecular Plant Pathology 10(3), pp311-324.

MORÁN-BAÑUELOS, S. H., AGUILAR-RINCÓN, V. H., CORONA-TORRES, T., & ZAVALETA-MEJÍA, E. (2010). Resistencia a *Phytophthora capsici* L. de chiles nativos del sur de Puebla, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 33(SPE4), 21-26.

NAYEEMA J., N. AHMED; M. I. TANKI AND G. M. OAR. 1996. Screening of hot pepper germplasm for resistance to *Fusarium* wilt (*Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc.). *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 14 (1996): 68-71. I

NUEZ V., F.; GIL O., R.; COSTA G., J. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ediciones Mundiprensa. 1996. p 211 (ISBN 84 – 7114 – 609 – 6).

OELKE, L. M., BOSLAND, P. W., & STEINER, R. (2003). Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(2), 213-218.

OGUNDIWIN, E. A., BERKE, T. F., MASSOUDI, M., BLACK, L. L., HUESTIS, G., CHOI, D., PRINCE, J. P. (2005). Construction of 2 intraspecific linkage maps and identification of resistance QTLs for *Phytophthora capsici* root-rot and foliar-blight diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genome*, 48(4), 698-711.

ORTEGA, R.; PALAZON, E.; CUARTERO, Z. J. 1991. Genetics of Resistance to *Phytophthora capsici* in the Pepper Line 'SCM-334'. *Plant breeding*, 107: 50-55.

PARDEY, C. 2008. Caracterización y evaluación de accesiones de *capsicum* del Banco de germoplasma de la universidad nacional de Colombia sede Palmira y determinación del modo de herencia de la Resistencia a potyvirus (Pepdmv). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

PARRA, G., RISTAINO, J. 2001. Resistance to Mefenoxam and Metalaxyl Among Field Isolates of *Phytophthora capsici* Causing Phytophthora Blight of Bell Pepper. The American Phytopathological Society. Plant disease. Vol 85 No 10.

PÉREZ C., L. M.; CASTAÑÓN N., G.; MAYEK P., N. 2008. Diversidad morfológica de chiles (*capsicum* spp.) de tabasco, México. Cuaderno de Biodiversidad. Universidad de Alicante. Centro Iberoamericano de la Biodiversidad

PERUANO, G. 2011. Capsaicina: un tema picante. Año Internacional de la Química. Agenda Química virtual.

Phytophthora blight of pepper. 2001. Department of crop sciences. University of illinois at urbana-champaign. RPD No. 947.

RISTIANO, J. B; JOHNSTON, S. A. 1999. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. The American Phytopathological Society. Plant disease, vol. 83 No. 12.

REYES A, C.; MORALES G., L. 2007. Determinación de la temperatura óptima de desarrollo in vitro de *Phytophthora parasítica* dastur., en aguacate "hass", en la zona aguacatera de Michoacán, México. Actas VI Congreso Mundial del Aguacate (ISBN No 978-956-17-0413-8).

ROIG, J. M; OCCHIUTO, R. J y GALMARINI, C. R. 2009. Evaluación de resistencia a *Phytophthora capsici* Leonian. en germoplasma argentino de pimiento para pimentón. Horticultura Argentina 28(66).

SAHI, I. Y; KHALID, A.N. 2007. In vitro biological control of *Fusarium oxysporum*-causing wilt in *Capsicum annuum*. *Mycopath*5(2): 85-88.

SANTOS J., P. 2010. Estrategias para el control de *Phytophthora capsici* L. Y *Fusarium solani* Mart. En el cultivo del chile (*Capsicum annuum* L.). tesis de Maestría en Ciencias. México.

SEIN, G. 1998. Cuantificación de Capsaicinoides en *Capsicum chacoense* A.T. Hunziker (Solanaceae) y en Especialidades Farmacéuticas. Acta Farm. Bonaerense 17 (1): 5-10.

SELA-BUURLAGE MB, BUDAI-HADRIAN O, PAN Q, CARMEL-GOREN L, VUNSCH R, ZAMIR D, FLUHR R. 2001 Genome-wide dissection of *Fusarium* resistance in tomato reveals multiple complex loci. *Mol Genet Genomics*. 265(6):1104-11.

SILVAR, C.; MERINO, F.; DIAZ, J. 2008. Resistance in pepper plants induced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* involves different defence-related genes. German Botanical Society and The Royal Botanical Society of the Netherlands

SUTHERLAND, E. D.; PAPAIVIZAS, G. C. 1991. Evaluation of Oospore Hyperparasites for the Control of *Phytophthora* Crown Rot of Pepper. *J. Phytopathology* 131, 33-39.

THABUIS, A., LEFEBVRE, V., BERNARD, G., DAUBEZE, A. M., PHALY, T., POCHARD, E., PALLOIX, A. (2004). Phenotypic and molecular evaluation of a recurrent selection program for a polygenic resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(2), 342-351.

TIAN, D; BABADOOST, M. 2004. Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. *Plant disease*, Volume 88, Number 5

TORO L., H. 1999. Enfermedades del ají (*Capsicum annum* L.), variedad cayenne, en la zona cafetera central. *Fitotecnia*. N°29 FITOPATOLOGIA. Universidad de Caldas.

UTKHEDE, R. S., & MATHUR, S. (2005). Biological and Chemical Control of Fruit Rot in Greenhouse Sweet Peppers (*Capsicum annum* L.) Caused by *Fusarium subglutinans*. *Journal of Biological Sciences*, 5(5), 610-615.

VALLEJO, F. A; GARCIA, M. A; DURAN, T. M; PARDEY, C. 2006. Caracterización morfo-agronómica de 195 introducciones de *Capsicum* del Banco de Germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia-sede Palmira. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.

WALKER, S. J.; BOSLAND, P. W. 1999. Inheritance of *Phytophthora* Root Rot and Foliar Blight Resistance in Pepper. *J. AMER. SOC. HORT. SCI.* 124(1):14-18.

ZHANG, S.; WHITE, T.; MARTINEZ, M.; MCINROY, J.; KLOEPPER, J.; KLASSEN, W. 2010. Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for control of *Phytophthora* blight on squash under greenhouse conditions. *Biological Control* 53:129-135.