



INSTITUTO TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
CAMPUS TUXTLA GUTIÉRREZ



INFORME FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL.

INGENIERÍA BIOQUÍMICA.

**CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE INFECCIÓN DE *FUSARIUM* SPP. EN
ESPECIES NATIVAS DE CHILE.**

PRESENTA:

DANIELA EDITH ROBLES HERNÁNDEZ.

ASEOR:

DRA. NANCY RUIZ LAU.

AGRADECIMIENTO.

“Parte del viaje es su final...”

Quiero comenzar agradeciendo al Tecnológico Nacional campus Tuxtla Gutiérrez por darme la oportunidad de estudiar y ser una profesional.

Especial agradecimiento a mi abuelita Hermila Solís Paredes que desde que inicié la carrera me apoyo y aun que no logro verme culminarla, sé que desde donde este me observa y está orgullosa de mis logros.

A mis padres José Oscar Robles Sánchez, María Heydi Hernández Solís y hermano Ángel Alberto Robles Hernández, que siempre han creído en mí y me han animado a seguir adelante y dando fuerzas para la finalización de la carrera, y por estar siempre ahí de manera incondicional.

Le agradezco la confianza y apoyo a la Dra. Nancy Ruíz Lau, a la maestra Zulemy Navarrete Mapen y a todos mis compañeros del laboratorio 12 que me brindaron durante el tiempo que trabajé con ellos.

Gracias también a mis compañeros que conocí dentro de la carrera como también fuera de ello, se convirtieron en otra familia más que me apoyo y me permitió entrar su vida brindándome su amistad, por todo su tiempo, gracias por aguantarme y escucharme.

“¿Para qué me preocupo? Toda va a funcionar como exactamente de la manera que se supone.”

RESUMEN.

El chile es uno de los cultivos originarios de México y de los más importantes a nivel mundial. Sus distintas variedades se adaptan a diversos climas y tipos de suelo, lo que ha contribuido a su amplia distribución geográfica. Los usos múltiples del chile y sus derivados datan desde la época prehispánica y van más allá de conformar un extraordinario condimento.

El monocultivo en grandes extensiones de ésta solanácea ha provocado que las plagas y enfermedades aumenten. Una de ellas es la marchites vascular, causada por los hongos del genero *Fusarium*, como el patógeno puede ser habitante del suelo, es difícil de manejar y puede permanecer por tiempo indefinido. Debido al cultivo sucesivo de chile en el mismo lugar, la población del hongo aumenta y por ende, la incidencia de la enfermedad.

En este trabajo se estudió un método efectivo para la inoculación de dos cepas de *Fusarium* spp en chile habanero criollo (*Capsicum chinense* Jacq.) y chile siete caldos (*Capsicum annum*).

Los resultados demostraron que el habanero criollo es más susceptible a la patogenicidad del *Fusarium* que el chile siete caldos.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA.....	6
2.1. Área del trabajo.....	7
3. PROBLEMAS A RESOLVER, PRIORIZÁNDOLOS.....	7
4. OBJETIVOS.....	7
4.1 OBJETIVOS GENERALES.....	7
4.1.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	7
5. JUSTIFICACIÓN.....	7
6. MARCO TEÓRICO.....	8
6.2. Género <i>Capsicum</i>	8
6.2.1. Condiciones edáficas y clima.....	8
6.2.2. Establecimiento de la plantación.....	¡Error! Marcador no definido.
6.3. <i>Capsicum chinense</i> Jacq. (Variedad criolla).....	8
6.3.1. Descripción botánica de <i>capsicum chinense</i> Jacq.....	9
6.4. <i>Capsicum annuum</i> (siete caldos).....	9
6.3.1. Descripción botánica de <i>capsicum annuum</i>	10
6.2.1 Género <i>Capsicum</i> susceptible a la infección por <i>fusarium</i> spp.....	10
6.2.1.1 Generalidades de <i>Fusarium</i> spp.....	11
6.3.1. <i>Fusarium</i>	11
6.3.2. Clasificación taxonómica de <i>fusarium</i>	11
6.3.3. patogenicidad de <i>fusarium</i> spp.....	12
6.3.4. Ciclo de vida de <i>Fusarium</i> spp.....	12
7. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS.....	13
7.1. Material vegetal.....	14
7.2 Elaboración de los semilleros y trasplante.....	14
7.3. Material biológico.....	14
7.4. Inducción del patógeno.....	15
7.5. Primera estrategia de inoculación: Inoculación del patógeno en tomate.....	15
7.6. Segunda estrategia: Inoculación del patógeno en <i>Capsicum Chinense</i> (chile habanero).....	16
7.7. Segunda estrategia: Inoculación del patógeno en <i>Capsicum annuum</i> (chile 7 caldos).....	17
8. Resultados y discusión.....	19
8.1 Infección de <i>Fusarium</i> en plantas de tomate (estrategia 1).....	19
8.2. Infección de <i>Fusarium</i> en plantas de chile habanero (estrategia 2).....	20
8.3. Infección de <i>Fusarium</i> en plantas de chile 7 caldos (estrategia 2).....	24
8.3. Comprobación de patogenicidad de <i>Fusarium</i> en los tallos de <i>Capsicum</i>	27

9. Conclusión.....	29
Referencias	29

Índice de Figuras

Figura 1: Morfología de <i>C. chinense</i> . Semillas A), flor B), frutos C) y corte longitudinal del fruto D).....	9
Figura 2: Morfología de <i>C. Annum</i> . Planta A), Flor B), frutos C).	10
Figura 3: taxonomía <i>Fusarium</i> (Groenewald. 2006; Días de Castro et al., 2007)	12
Figura 4: Ciclo de vida de <i>Fusarium</i> spp. (Agrios 1996).	13
Figura 5: plántulas de chile	14
Figura 6: Cajas Petri con <i>Fusarium</i>	15
Figura 7: plantas de tomate. Tallo con palillo con <i>Fusarium</i> A), plantas inoculadas en bolsas de plástico por 48 h B).	16
Figura 8: Inoculación de <i>C. Chinense</i> con tapón de agar.	16
Figura 9: Plantas inoculadas en bolsas de plástico por 48 h.	17
Figura 10: Cajas Petri con <i>Fusarium</i> . A) FCHA 7, B) Cepa 4.	17
Figura 11: Inoculación de <i>C. Annum</i> con tapón de agar.	18
Figura 12: Plantas inoculadas en bolsas de plástico por 48 h.	18
Figura 13: Plantas de tomate. A) planta infectada con <i>Fusarium</i> . B) planta no infectada después de 31 días.	19
Figura 14: Plantas <i>Capsicum Chinense</i> . A) Plantas control. B) Plantas infectadas a los 20 días.	20
Figura 15: plantas de chile. A) plantas control. B) diferencias de las plantas infectadas con <i>Fusarium</i>	24
Figura 16: Tallos <i>Capsicum Chinense</i> . A) Control. B) FCHA 7.....	27
Figura 17: Tallos <i>Capsicum annum</i> . A) Control. B) FCHA 7. C) Cepa 4.....	28
Figura 18: Cajas Petri con tallos de <i>Capsicum</i> spp. A) Control. B) <i>Fusarium</i>	28

Índice de tablas

Tabla 1: clorofila	21
Tabla 2: peso húmedo parte aérea.....	21
Tabla 3: Peso seco parte aérea.....	22
Tabla 4: peso húmedo raíz	22
Tabla 5: Peso seco raíz	22
Tabla 6: Longitud de la parte aérea	23
Tabla 7: Longitud de la raíz	23
Tabla 8: Clorofila.....	25
Tabla 9: Peso Húmedo parte aérea.....	25
Tabla 10: Peso seco parte aérea.....	25
Tabla 11: Peso húmedo raíz.....	26
Tabla 12: Peso seco raíz	26
Tabla 13: Longitud en la parte aérea	26
Tabla 14: Longitud en raíz	27

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de las plantas han sido conocidas desde la antigüedad, pero generalmente eran atribuidas a fuerzas sobrenaturales. Hoy día se erigen como el principal factor limitante en la producción agrícola. Aparte de las plagas y las malas hierbas que afectan a las cosechas, las enfermedades están asociadas tanto a agentes abióticos como bióticos. Entre estos últimos encontramos: hongos, oomicetos, bacterias, mollicutes, virus y viroides, nematodos, protozoos y plantas fanerógamas parásitas. De ellos son los hongos y oomicetos los responsables de más de un 95% de dichas enfermedades (Muñoz. 2012).

Los cultivos de hortalizas se utilizan en todo el mundo como fuentes de nutrientes y fibras en la dieta humana. Los patógenos transmitidos por el suelo son uno de los principales problemas en la producción agrícola en todo el mundo, causando una reducción en el rendimiento y la calidad de los cultivos. El marchitamiento fúngico, pudrición de la raíz, la podredumbre carbonosa y el marchitamiento de los vegetales causados por *R. solani*, *F. solani*, *M. phaseolina*, *F. oxysporum*, *S. clerotium rolfisii*, *A. lternaria solani* y *Pythium spp.*, son las enfermedades más perjudiciales (Madbouly & Abdelbacki, 2017).

Fusarium es un género de hongos de distribución universal. Usualmente se encuentra como saprófito de suelo; sin embargo, se ha reportado como parásito facultativo de números hospederos en los que se incluyen plantas, animales y humanos. Algunas especies del género *Fusarium* son habitantes del suelo. Se reconoce por su impacto económico negativo en la agricultura mundial, ya que son agentes causales del marchitamiento vascular y pudrición basal de gran variedad de plantas (Camacho *et al*, 2008). La marchitez del chile o secadera es una de las principales enfermedades que causan pérdidas en la producción de 26% a 90%, no solo en México sino a nivel mundial. Es causada por un complejo fitopatológico de *Fusarium spp.*, *Phytophthora capsici*, *Verticillium spp.*, *Macrophomina spp.*, *R. hizoctonia solani*, *Pythium spp.* y *Sclerotium rolfisii*, actuando de manera aislada o combinada (Velásquez *et al.*, 2000). Como consecuencia de la incidencia de ésta enfermedad, la superficie sembrada ha disminuido o se ha desplazado a nuevas áreas (González-Pérez *et al.*, 2004).

Este proyecto se centró en de pruebas de patogenicidad de *Fusarium spp.* en plantas de *Capsicum*. Esto con la finalidad de determinar si el tiempo de infección y la severidad puede ser diferente en una variedad nativa de *Capsicum* y en otra comercial, ya que se ha reportado que los cultivares silvestres pueden mostrar una mayor resistencia comparada con las especies cultivadas.

2. DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA.

El Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG); es una universidad pública de tecnología, ubicada en la Ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. Es una Institución educativa pública de educación superior, que forma parte del Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos de México. El Instituto también está afiliado a la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior (ANUIES), zona Sur-Sureste.

Fue fundado el 22 de octubre de 1972, por el entonces Gobernador del Estado, Dr. Manuel Velasco Suárez, inicialmente con el nombre de Instituto Tecnológico Regional de Tuxtla

Gutiérrez (ITRTG), posteriormente se llamaría el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG). Actualmente es considerado una de las dos máximas casas de estudios del estado de Chiapas, junto con la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Su lema es *Ciencia y Tecnología con Sentido Humano* y su actual director es el MC. José Manuel Rosado Pérez.

Cuenta con tres extensiones en las ciudades de Chiapa de Corzo, Carranza y la otra en la ciudad de Bochil, además posee un Centro de Posgrado para estudios de Maestría en Ciencias en Mecatrónica, Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica y el Doctorado en Ciencias en Biotecnología.

2.1. Área del trabajo

Se realizó las prácticas profesionales en el “Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles” el cual consta de doce laboratorios cada uno dedicados a diferentes áreas de investigación; y en los invernaderos del Instituto. El proyecto se llevó a cabo en el laboratorio número 12 bajo la dirección de la Dra. Nancy Ruiz Lau cátedra CONACyT.

3. PROBLEMAS A RESOLVER, PRIORIZÁNDOLOS.

- Aumentar la eficiencia de la germinación de las semillas de chile siete caldos (*C. annuum*) y habanero criollo (*C. chinense*)
- Establecer un método eficiente de inoculación para infectar las plántulas de chile con *Fusarium oxysporum*.
- Establecer el proceso de infección de *Fusarium* en plantas de *Capsicum* spp.

4. OBJETIVOS.

4.1 OBJETIVOS GENERALES.

- Evaluar y caracterizar el proceso de infección de *Fusarium* spp. en plántulas de chile (*capsicum* spp.).

4.1.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Establecer el mejor método de inoculación de *Fusarium* spp en plántulas de *Capsicum*.
- Caracterizar la sintomatología de la infección de *Fusarium* spp. en plántulas de *C. Annuum* y *C. Chinense*.

5. JUSTIFICACIÓN

Los cultivos de hortalizas se utilizan en todo el mundo como fuentes de nutrientes y fibras en la dieta humana. Los patógenos transmitidos por el suelo son uno de los principales problemas en la producción agrícola en todo el mundo, causando una reducción en el rendimiento y la calidad de los cultivos. El marchitamiento fúngico, pudrición de la raíz, la podredumbre carbonosa y el marchitamiento de los vegetales causados por *R. solani*, *F. solani*, *M. phaseolina*, *F. oxysporum*, *S. rolfsii*, *A. solani* y *Pythium* spp., son las enfermedades más perjudiciales (Madbouly & Abdelbacki, 2017). De ahí la importancia de conocer el proceso de infección de hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* y poder identificar a tiempo la infección mediante la identificación de sus síntomas. Se ha reportado, que el grado de patogenicidad causado por *Fusarium* puede ser diferente dependiendo de la cepa y el cultivo, ya que se ha demostrado que la resistencia a fitopatógenos puede variar entre géneros y hasta dentro de la misma especie, de ahí de utilizar dos especies diferentes de *Capsicum*, además que una de ellas es considerada como nativa y no es cultivada a gran escala por lo que podría contar con mayor resistencia.

6. MARCO TEÓRICO

6.2. El género *Capsicum*.

Diversos estudios han definido como el centro de origen del género a una gran área ubicada entre el sur de Brasil y el este de Bolivia, oeste de Paraguay y norte de Argentina. En esta región se observa la mayor distribución de especies silvestres en el mundo (Ayala, 2002).

El género *Capsicum* presenta características que lo distinguen; como las diferencias marcadas de la forma, tamaño y color de los frutos, así como en los niveles de picor entre cada una de sus especies. Existen cinco especies domesticadas dentro de este género, las cuales son: *C. chinense* Jacq., *C. annum* L., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. y *C. pubescens* R. & P. (Estrada et al., 2000; Wang y Bosland, 2006). Las cinco especies domesticadas y sus parientes silvestres estuvieron confinadas en el Continente Americano en la época precolombina (Tun, 2001).

6.2.1. Condiciones edáficas y clima.

Los mejores suelos son los de textura media con buen drenaje, y en la producción con agricultura protegida el tipo de suelo debe ser rico en materia orgánica con conductividad eléctrica tolerable de 3.5 dS/cm⁻¹. (SARGAPA, 2017).

6.3. *Capsicum chinense* Jacq. (Variedad criolla)

El chile habanero es uno de los principales cultivos de la Península de Yucatán y se ha convertido en un producto representativo que identifica a esta región. La especie china tiene su centro de origen en el Amazonas y se ha dispersado a diferentes islas de la Cuencas del Caribe y de ahí a la Península de Yucatán (DeWitt y Bosland, 1997). Las características de calidad del fruto como son el sabor, aroma, pungencia y color lo distinguen de los frutos producidos en otras regiones del país (Trujillo y Pérez, 2004).

6.3.1. Descripción botánica de *Capsicum chinense* Jacq.

La planta es un arbusto de ciclo anual con hábito de crecimiento determinado. Presenta una altura entre 43.5 y 150 cm. La ramificación es erecta, con tres a cinco ramas primarias y nueve a trece secundarias. La raíz es de tipo pivotante con un sistema radicular que varía de 1 a 2.3 m (Tun, 2001; Soria et al., 2002).

El tallo es cilíndrico, erecto, glabro o pubescente. Presenta una altura de 30 a 120 cm y un diámetro que oscila entre 0.9 y 3.1 cm. Muestra una tendencia a formar tres tallos en la primera ramificación (Soria et al., 2002).

La floración inicia cuando la planta empieza su ramificación y las flores se presentan solitarias o en grupos de dos o más en cada una de las axilas; el botón floral se presenta envuelto completamente en el cáliz, el cual se abre rápidamente hasta dejar expuesta la corola, durando un promedio de 15 días, desde que aparece el primordio floral en las axilas de las ramas hasta la apertura total de la corola (Ayala, 2002). Las flores son blancas; su tamaño varía entre 1.5 y 2.5 cm de diámetro de la corola, el número de sépalos y pétalos es variable de cinco a siete, aun dentro de la misma especie, lo mismo que la longitud del pedúnculo floral (Tun, 2001).

El fruto es una baya poco carnosa y hueca; tienen entre tres y cuatro lóbulos; las semillas se alojan en placentas y son lisas y pequeñas, con testa de color café claro a oscuro y su periodo de germinación varía entre ocho y quince días. Las plantas presentan en promedio hasta seis frutos por axila; éstos son de un tamaño entre 2 y 6 cm. El color es verde cuando son tiernos y cuando están maduros pueden ser anaranjados, amarillos, rojos, café y su sabor siempre es picante aunque el grado de picor depende del cultivar (Tun, 2001; Soria et al., 2002).



Figura 1: Morfología de *C. chinense*. Semillas A), flor B), frutos C) y corte longitudinal del fruto D).

6.4. *Capsicum annuum* (siete caldos).

El cultivo de chile (*Capsicum annuum*) es de gran importancia en México, debido a que nuestro país se considera como centro de origen de algunas especies, identificándose una gran variedad de tipo que se encuentra ampliamente distribuidos en el territorio nacional.

Los numerosos tamaños, formas, sabores y colores de los frutos señalados por la cultura popular, pertenecen en realidad a la especie *Capsicum annuum*. Los frutos se emplean en

la cocina tradicional de muchos países, siendo consumidos en diversas formas; crudos, cocidos y procesados industrialmente.

La riqueza genética del *Capsicum annum* se debe en gran medida a la complejidad de climas y suelos donde se ha cultivado. Así como al manejo tradicional llevado a cabo por los campesinos que han empleado semillas seleccionadas de plantas nativas. (INIFAP, 2008).

6.3.1. Descripción botánica de *Capsicum annum*.

El *Capsicum annum* es una planta herbácea perenne de porte mediano que cumple un ciclo productivo anual. Presenta un tallo glabrescente erecto y ramificado ligeramente lignificado que alcanza una altura promedio entre 0,5-1,5 m.

El sistema radicular es del tipo pivotante, la raíz principal penetra entre 70-120 cm de profundidad. Así mismo, desarrolla un gran volumen de raíces secundarias y adventicias.

Las hojas simples de color verde oscuro brillante, de forma aovada, lanceolada u ovalada, con bordes rectos, ápice agudo y peciolo largo. Las flores de color blanco, erectas y pedunculadas aparecen de forma solitaria o en pequeños grupos en las axilas foliares.

El fruto es una baya hueca semi-cartilaginosa de color amarillo o rojo brillante, de formas y tamaños variables. La baya se encuentra dividida en 4 secciones donde se localizan las pequeñas semillas -3-5 mm-, redondeadas y de color amarillo. (Montes, 2018).



Figura 2: Morfología de *C. annum*. Planta A), Flor B), frutos C).

6.2.1 Género *Capsicum* susceptible a la infección por *Fusarium* spp.

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 de xilemas, 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 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. (Davey, 2014; Oelke y Bosland, 2001; Miller *et al.*, 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. (Davey, 2014; Oelke y Bosland, 2001).

6.2.1.1 Generalidades de *Fusarium* spp.

El género *fusarium* es el agente causal del marchitamiento vascular, enfermedad que afecta una gran variedad de cultivo (ajo, algodón, arveja, banano, brócoli, calabacita, cebolla, chile, fresa, linaza, melón, ornamentales clavel, crisantemos, gladiolos, tulipanes, repollo, tomate, etc) económicamente importantes alrededor de todo el mundo (Ortoneada, et al., 2004; Groenewald, 2006). Aunque su actividad como patógeno de plantas emergentes de animales y humanos; haciendo de tal forma en el caso de los humanos que se incrementa el número de casos severos reportados (Bushelman *et al.*, 1995).

El gran número de especies y población no identificadas en este género se debe al alto grado de variación en sus características morfológicas y fisiológicas, y esto explica la capacidad que tiene fusarium para colonizar variados nichos ecológicos en distintas áreas geográficas (Díaz de castro *et al.*, 2007).

6.3.1. *Fusarium*

Fusarium crece rápidamente en agar papa dextrosa a 25°C, produciendo un micelio algodonoso e incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o amarillo pálido y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido, rojo o púrpura (Díaz de castro *et al.*, 2007).

Este patógeno produce un micelio septado hialino que produce tres tipos diferentes de esporas asexuales. Los microconidios son producidos en el micelio aéreo solo en cadenas, tiene de una a dos células y son las esporas que el hongo produce con mayor frecuencia y abundancia en todas las condiciones. Estas esporas son las que el hongo forma con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas infectadas, o en el torrente sanguíneo en el caso de animales y humanos. (Díaz de castro *et al.*, 2007).

6.3.2. Clasificación taxonómica de *fusarium*

Reino	<i>Fungi</i>
Phylum	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Deuteromycete</i>
Orden	<i>Hypocreales</i>
Familia	<i>Hypocreaceae</i>
Género	<i>Fusarium</i>
Especies	<i>Fusarium oxysporum</i>
	<i>Fusarium solani</i>
	<i>Fusarium verticillioides</i>

Figura 3: Clasificación taxonómica de *Fusarium* (Groenewald. 2006; Días de Castro et al., 2007)

6.3.3. Patogenicidad de *Fusarium* spp.

Los hongos filamentosos constituyen un grupo de microorganismo ubicuo y extremadamente versátil. La gran mayoría de las especies viven como saprofitos sobre materia orgánica en descomposición; sin embargo, algunas son capaces de colonizar organismos vivos y provocan enfermedad. A pesar de tratarse de un número restringido de especies, los patógenos fúngicos tienen un gran impacto en la economía (Agrios et al., 2005; Di Pietro y Roncero, 2005).

Fusarium spp. se comporta como fitopatógenos al encontrar la planta con las características apropiadas de hospedero. Este penetra las diferentes capas de la corteza de la raíz hasta alcanzar el sistema vascular. Una vez establecido, la colonización de la planta es llevado a cabo rápidamente a través del xilema, que conlleva a la sintomatología característica de marchitez (Roncero et al., 2000; Agrios, 2005).

6.3.4. Ciclo de vida de *Fusarium* spp.

Según AGRIOS (1996), *Fusarium* spp. Forma parte del complejo de hongos del suelo y puede encontrarse habitando como saprofito, sobre restos vegetales en descomposición o como estructura de resistencia (clamidospora) en las partículas del suelo. Al establecerse un cultivo y si las condiciones medioambientales son favorables para el hongo, pueden provocar una serie de problemas en las plantas en desarrollo.

El ingreso de *Fusarium* spp. a la planta se ve facilitada cuando los propágulos presentan lesiones, o cuando las raíces se están elongado, se producen pequeñas heridas. Cuando el hongo entra en la raíz, comienza a producir micelio y microconidias que se van extendiendo en forma ascendente a través de los vasos xilemáticos de la planta, esta responde frente a

éste agente invasor, liberando polisacáridos (gomas-tilosas) que taponan los haces vasculares para impedir el avance del hongo (AGRIOS, 1996).

Fusarium spp. en su avance, libera toxinas y los síntomas característicos que presenta la planta, son marchitez vascular, clorosis de hojas, enanismo y pudrición seca de túberos. Al morir la planta, el hongo queda en los restos de los tejidos vegetales invernando como espora, micelio o clamidospora; éstas se dispersan a otras áreas por: el viento, propágulos vegetales o semillas infectadas, lluvia, maquinaria o implementos agrícolas. Al cosechar túberos contaminados, el hongo se puede propagar en almacenaje contagiando a otros propágulos sanos y luego en terreno al plantarlos, repetir el ciclo de la enfermedad (Figura 4) (Armentrout, 1988).

Las condiciones climáticas, más importantes para el desarrollo de las especies de *Fusarium* son: altas temperaturas en el rango de los 20-25° C, alta intensidad lumínica, elevada humedad relativa del ambiente (75-95%) y alta densidad de plantas. En el manejo del cultivo, las altas dosis de fertilización nitrogenada, predisponen a las plantas a un ataque de *Fusarium* spp. Esto último, condiciona que las plantas estén más turgentes y sus barreras naturales no están muy lignificadas, lo que las hace más susceptibles al ataque de las plagas (Paulitz y Belanger, 2001).

Pero según AGRIOS (1997), la ocurrencia de enfermedad, no tiene que ver con la cantidad de nitrógeno que se le aplique, sino que de la forma química que se adicione. Para *Fusarium* spp., el nitrógeno aplicado como amoníaco incrementa el ataque de este hongo en el cultivo y se ve disminuido cuando se aplica en forma de nitrato.

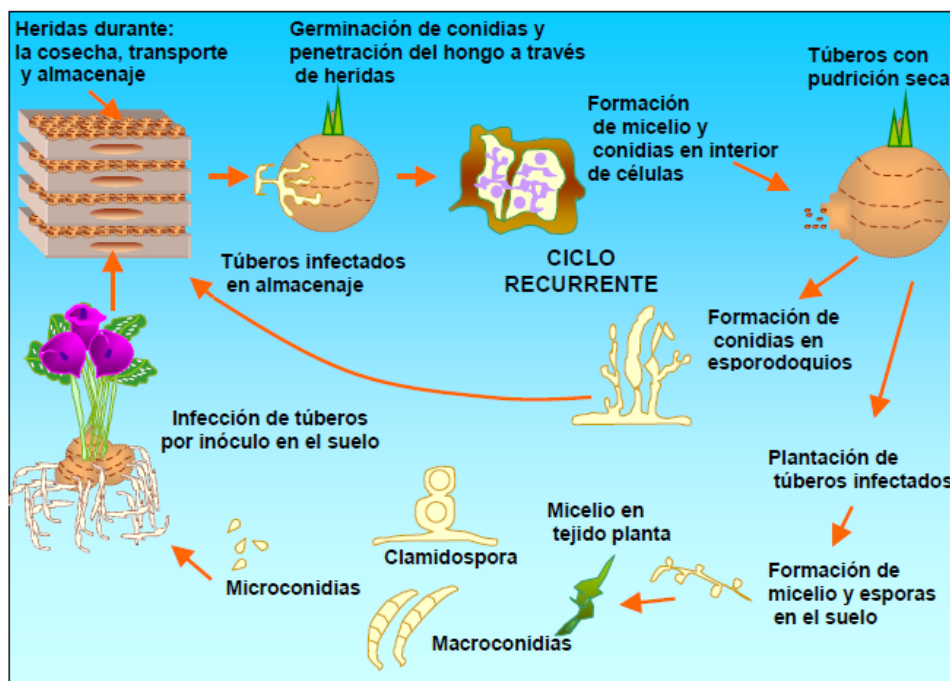


Figura 4: Ciclo de vida de *Fusarium* spp. (Agrios 1996).

7. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS

El presente trabajo de residencia se realizó en el Tecnológico Nacional campus Tuxtla Gutiérrez en los laboratorios del “Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles”

Este trabajo es parte del proyecto: Caracterización del proceso de infección de *Fusarium* spp. en especies nativas de Chile. El cual tiene como objetivo evaluar y caracterizar el proceso de infección de diferentes cepas de *Fusarium* spp. en plántulas de *Capsicum*.

7.1. Material vegetal.

Las semillas de Chile habanero criollo (*C. chinense*) fueron colectadas de un cultivo ubicado en Conkal Yucatán y las de siete caldos (*C. annuum*) de un cultivo en el Porvenir Agrarista, Trinitaria, Comitán, Chiapas. Las semillas de Chile fueron deshidratadas una vez extraídas de los frutos, durante 15 días a temperatura ambiente.

7.2 Elaboración de los semilleros y trasplante.

Una vez secas para su utilización fueron pre-hidratadas en ácido giberélico (500 ppm AG₃) durante 24 h, con el fin de acelerar y mejorar el proceso de germinación. Posteriormente, fueron colocadas en semilleros de poliestireno expandido con 200 cavidades utilizando un sustrato orgánico a base de turba (Peat moss®) más agrolita (Termolita®) para su germinación. A partir de que las plántulas contaron con 5-7 hojas verdaderas se aplicó como riego un fertilizante comercial (Ultrasol Multipropósito® 18-18-18) para su desarrollo. Veintiún días aproximadamente después de la emergencia (Figura 5), las plántulas se trasplantaron a vasos de unicel de un litro conteniendo una mezcla de suelo y peat moss (relación 3:1) como sustrato.



Figura 5: Desarrollo de las plántulas de *Capsicum* en los semilleros.

7.3. Material biológico

Se utilizaron dos cepas del género *Fusarium*: La cepa FCHA-T7 fue aislada de plantas de chile habanero (*C. chinense*) proporcionada por el Dr. Jairo Cristóbal Alejo del Instituto Tecnológico de Conkal y la cepa F7C-4T de plántulas de chile siete caldos (*C. annuum*) aislada por el grupo de trabajo de la Dra. Nancy Ruiz Lau. Ambas cepas fueron conservadas en cajas Petri con medio PDA.

7.4. Inducción del patógeno.

Para la inoculación se probaron dos estrategias y se utilizó tomate para el primer ensayo. La primera mediante palillos de madera en plantas de tomate, los cuales fueron colocados sobre una caja Petri con medio PDA en la circunferencia y se colocó el tapón de micelio del fitopatógeno en el centro. La segunda mediante disco de agar con micelio. La incubación se realizó a 30°C durante 10 días (Figura 6).



Figura 6: Cajas Petri con *Fusarium*.

7.5. Primera estrategia: Inoculación del patógeno en tomate.

Se inocularon 15 plantas de tomate de aproximadamente 67 días después de la emergencia con la cepa FCHA T7 de *F. oxysporum*. Para ello, se realizó una pequeña herida de forma vertical en la base del tallo con una navaja de afeitado estéril, posteriormente se tomó un palillo de madera con *Fusarium* y se insertó en la herida hecha, se fijó con parafilm la planta de tomate y el palillo (Figura 7). Después se humedeció el sustrato con agua y se colocó una bolsa de plástico por encima de la herida con el objetivo de conservar la humedad durante el proceso de infección, posteriormente se retiró la bolsa y se colocaron en el invernadero.



Figura 7: platas de tomate. Tallo con palillo con *Fusarium* A), plantas inoculadas en bolsas de plástico por 48 h B).

7.6. Segunda estrategia Inoculación del patógeno en *Capsicum*

7.6.1 *Chinense* (chile habanero)

Se inocularon cinco plantas de *C. chinense* var. criolla con la cepa FCHA-T7 de *F. oxysporum*. Primeramente, se realizó una pequeña herida de forma horizontal en la base del tallo (Figura 8) con una navaja estéril, posteriormente con el reverso de una punta de una micropipeta se hicieron varios discos de agar del hongo y se agarró con un palillo de madera estéril, posteriormente se colocó en la herida hecha y se fijó con parafilm el disco de agar al tallo y se retiró el palillo. Después, se humedeció el sustrato y se colocó una bolsa de plástico por encima de la herida para conservar la humedad durante el proceso de infección, posteriormente se retiró la bolsa y se colocaron en el invernadero.



Figura 8: Inoculación de *C. Chinense* con tapón de agar.



Figura 9: Plantas inoculadas en bolsas de plástico por 48 h.

7.6.2. Inoculación en *Capsicum annum* (chile siete caldos).

Se inocularon las plantas *C. annum* con dos diferentes cepas (Figura 10), la cepa FCHA-T7 de *F. oxysporum* y la F7C-4T aislada de Comitán. Primeramente se realizó una pequeña herida de forma horizontal en la base del tallo (Figura 11) con una navaja estéril, posteriormente con el reverso de una punta de una micropipeta se hicieron varios discos de agar del hongo y se agarró con un palillo de madera estéril, posteriormente se colocó en la herida hecha y se fijó con parafilm el disco de agar al tallo y se retiró el palillo. Después, se humedeció el sustrato y se colocó una bolsa de plástico por encima de la herida para conservar la humedad durante el proceso de infección, posteriormente se retiró la bolsa y se colocaron en el invernadero.

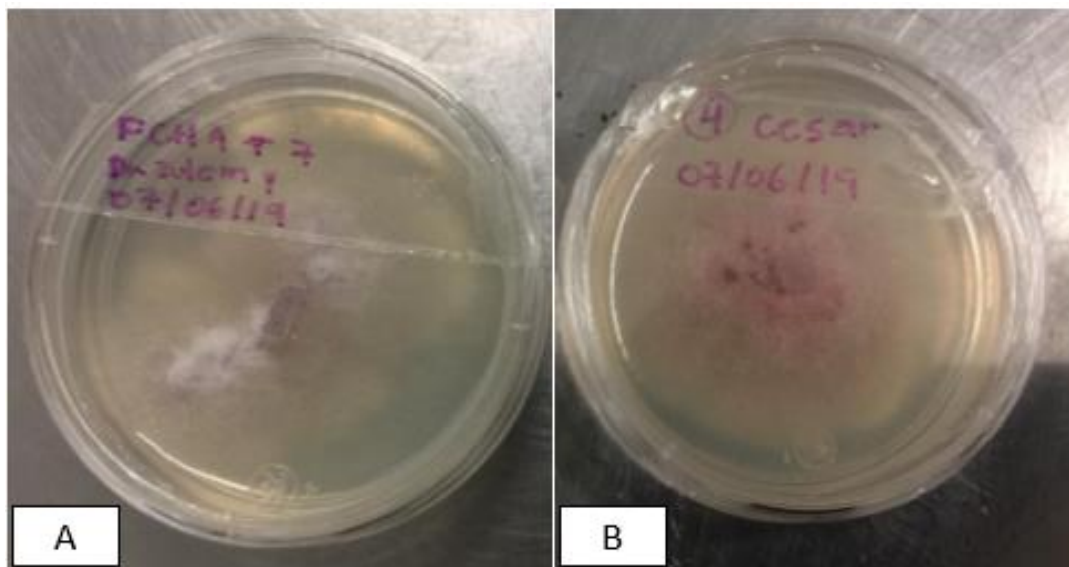


Figura 10: Cajas Petri con *Fusarium*. A) FCHA-T7, B) F7C-4T.

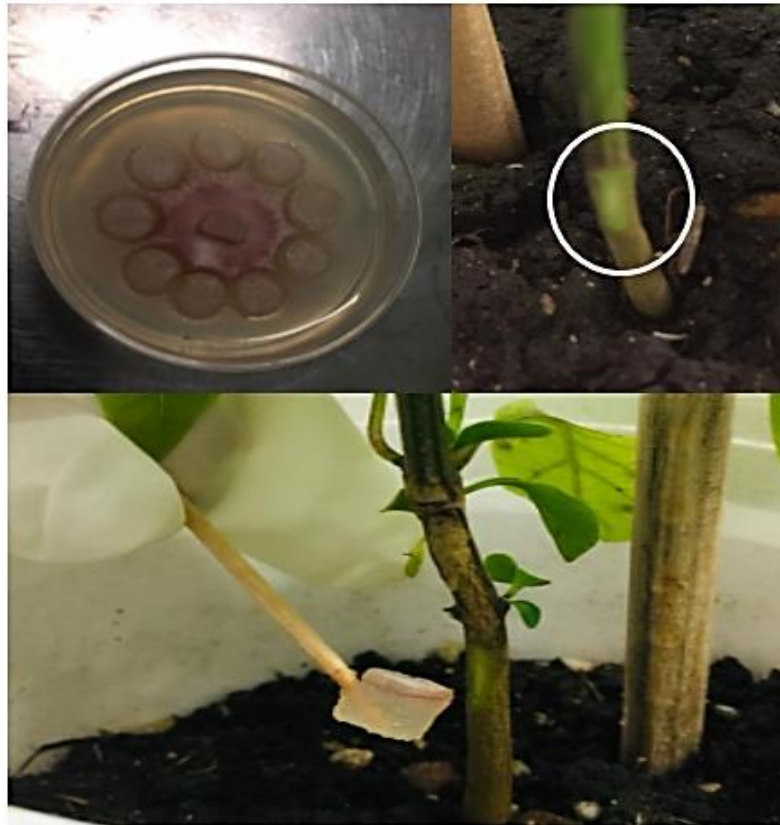


Figura 11: Inoculación de *C. annuum* con tapón de agar.



Figura 12: Plantas inoculadas.

8. Resultados y discusión

8.1 Infección de *Fusarium* en plantas de tomate (Estrategia 1)

La inoculación de *F. oxysporum* mediante palillos con micelio (Estrategia 1) no tuvo éxito ya que las plantas de tomate no presentaron síntomas de infección en un periodo de 31 días. Las plantas crecieron y comenzaron a florear (Figura 13) sin presentar algún síntoma o daño.

La literatura menciona que los síntomas pueden observarse en un intervalo de 10 a 15 días después del contacto con el *Fusarium* o bien en la etapa de floración y maduración del fruto. El síntoma inicial es amarillamiento de las hojas más viejas; dichos síntomas suelen afectar solo un lado de la planta, y con frecuencia los folíolos a un lado del peciolo se vuelven amarillos antes que los del otro lado esta marchitez va avanzando gradualmente en todo el follaje, hasta que la planta muere. La coloración parda del sistema vascular en los tallos es característica de esta enfermedad, mientras que la medula del tallo permanece intacta (SAGARPA, INIFAP, 2011).

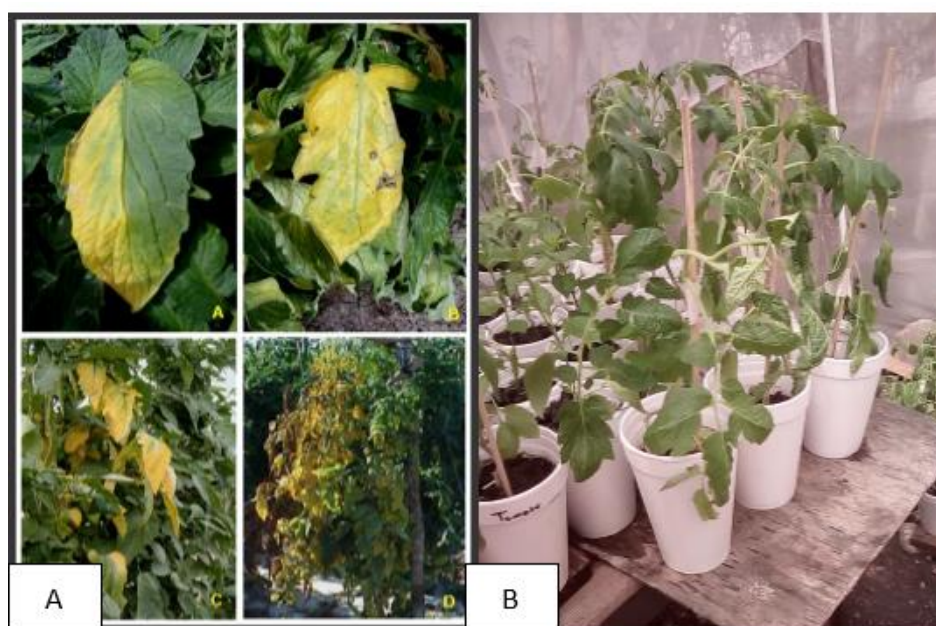


Figura 13: Plantas de tomate. A) planta infectada con *Fusarium*. B) planta no infectada después de 31 días.

El hecho de que las plantas de tomate no se hayan infectado puede deberse a que las condiciones de temperatura, humedad no fueran las apropiadas para que se diera el proceso de infección. Ya que como dice Messianen, (1991) *Fusarium* es un hongo de temperatura cálidas el desarrollo óptimo se presenta a 20°C el rango va de 12 a 28°C. Esta temperatura acompañada de alta humedad relativa, días cortos de baja intensidad lumínica favorecen el desarrollo de la enfermedad. Otros factores son los suelos ácidos, arenosos, con bajo pH, pobres en nitrógeno y alto suministro de potasio.

También otros de los motivos por el cual las plantas de tomate no se infectaron puede ser que la planta tenga una resistencia a las enfermedades ya que está asociada con un número

de respuestas de defensa, activadas por el hospedante después de ponerse en contacto con los patógenos. Se expresa frecuentemente como una reacción de hipersensibilidad, la cual resulta en la muerte celular acotada a los sitios de penetración del patógeno (Amaral DOJ, 2008).

En algunos cultivos se ha encontrado la resistencia monogénica contra las formas especiales patogénicas hospedero específica de *F. oxysporum* (Michielse CB, 2009). En tomate, los genes *R* contra la marchitez por *F. oxysporum* f. spp. *Lycopersici* son llamados genes *I* (por la inmunidad). Las razas de este hongo se establecen en base a la habilidad de las cepas individuales de poseer estos genes específicos. Takken y Rep (2010) confirmaron la existencia de los genes de avirulencia en este patógeno y determinaron que la ruptura de la resistencia mediada por el gen *I* es causada por una pérdida o mutación en estos genes. El reconocimiento del hongo, mediado por el gen *I*, induce una respuesta de defensa en las células parenquimatosas adyacentes a los vasos xilemáticos (respuesta hipersensible), la cual conlleva principalmente a la deposición de calosa, la acumulación de compuestos fenólicos y la formación de tilosa. Las reacciones de defensa basal y específica están mediadas por la expresión de tres moléculas señales claves, llamada ácido salicílico (AS), ácido jasmónico (AJ) y el etileno (ET). (SM., 2007; Ivonne et al., 2012).

8.2. Inoculación de *Fusarium* en plantas de *Capsicum*

8.2.1 Inoculación en chile habanero (estrategia 2)

El ensayo tuvo una duración de 20 días, durante este período las plantas desarrollaron síntomas (Figura 13): el más grave fue marchites progresivo del follaje y turgencia y luego enanismo.



Figura 14: Plantas *Capsicum Chinense*. A) Plantas control. B) Plantas infectadas a los 20 días.

Al finalizar el ensayo, todas las plantas se retiraron del invernadero y se registraron los datos de clorofila, peso fresco peso seco, longitud (parte aérea y raíz) de cada planta (Tablas 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7).

Tabla 1: Contenido de clorofila en plantas de *C. chinense* (Habanero criollo)

Tratamientos	
Control	FCHAT7
44.8	31.36
41.13	30.4
43.96	36.53
	21.83
	16.06
*1.92	*8.17

*Desviación estándar

Los resultados de las hojas presentaban una coloración amarillo o café y su aspecto seco y acartonado los cuales se muestran en la tabla 1 como la clorofila es diferente en el control y FCHA-T7. Los síntomas de la marchitez, se manifiestan en hojas, en tallo y en raíces. En las hojas, se caracterizan por la presencia de clorosis, que se inicia en el ápice y bordes y avanza, progresivamente, hacia el centro, hasta cubrir toda la hoja. Esta sintomatología coincide con la descripción manifestada por Lubbe *et al.* (2008), Moura & Rodrigues, (2001), Herrera *et al.* (2006). En la medida en que la enfermedad progresa, se presenta necrosis en las áreas afectadas

Tabla 2: Peso fresco de la parte aérea de plantas de *C. chinense* (Habanero criollo)

Tratamientos (parte aérea) en gr	
Control	FCHA 7
4.852	0.327
5.217	0.312
3.91	0.681
	1.449
	0.432
*0.674	*0.475

*Desviación estándar

En el peso húmedo y seco de la parte aérea de las plantas no presentan mucho cambio con el tratamiento FCHA-T7 mientras que los controles si se ve una diferencia de los pesos (Tabla 2 y 3). 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 de xilemas, 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 (Davey, 2014; Oelke y Bosland, 2001; Miller *et al.*; Oct. 2008; Michielse y Rep, 2009).

Tabla 3: Peso seco de la parte aérea de plantas de *C. chinense* (Habanero criollo)

Tratamientos (parte aérea) en gr	
Control	FCHA-T7
2.994	0.271
3.016	0.263
2.127	0.563
	0.993
	0.308
*0.507	*0.312

*Desviación estándar

Por lo tanto como dice la literatura el patógeno obstruye la toma de nutriente y agua por lo que la planta se marchita y pierde turgencia, con el paso del tiempo las plantas se van secando por eso no hay mucha diferencia del peso seco y húmedo de las plantas infectadas con *Fusarium*.

Tabla 4: Peso fresco del sistema radicular de plantas de *C. chinense* (Habanero criollo)

Tratamientos (raíz) en gr	
Control	FCHA-T7
1.879	0.049
1.983	0.077
1.435	0.167
	0.25
	0.134
*0.291	*0.070

*Desviación estándar

Las raíces de las plantas de Chile con el patógeno no se observa una diferencia con sus pesos húmedos y secos, en cambio los controles se nota un leve cambio de peso (Tabla 4 y 5). Conforme progresa la enfermedad, todo el sistema de raíces se torna café y con frecuencia se pudre la raíz primaria. Y al estar la planta ya completamente marchita las raíces no pierden una gran cantidad de agua significativamente.

Tabla 5: Peso seco del sistema radicular de plantas de *C. chinense* (Habanero criollo)

Tratamientos (raíz) en gr	
Control	FCHA-T7
0.284	0.0103
0.333	0.0264
0.233	0.021

	0.0425
	0.0147
*0.050	*0.012

*Desviación estándar

Las longitudes de la parte aérea de las plantas (Tabla 6) son más grandes los controles que las plantas infectadas por el patógeno FCHA-T7 esto se puede de ver a uno de los síntomas que causa este patógeno en casos menos severos la planta puede presentar enanismo. (Davey, 2014; Oelke y Bosland, 2001; Miller et al; Oct. 2008; Michielse y Rep, 2009). Y por lo tanto esto también se ve afectado en los pesos húmedos y secos tomados de la planta que se muestran en las tablas 2 y 3.

Tabla 6: Altura de la parte aérea del sistema radicular de plantas de *C. chinense* (Habanero criollo)

Tratamientos (parte aérea) en cm	
Control	FCHA -T7
19.2	10.3
23.3	9.1
20.1	12.4
	14.6
	11
*2.154	*2.113

*Desviación estándar

En la tabla 7 se presenta la longitud de las raíces de los controles y del FCHA -T7 en el cual se presenta una gran diferencia ya que los controles son más grandes que los que fueron infectadas con el patógeno y esto afecta a los pesos húmedos y secos de la raíz (Tabla 4 y 5) donde también se observan los cambio en esto, lo cual se debe a que cuando progresa la enfermedad las raíces se tornan café y se pudren las raíz primarias.

Tabla 7: Longitud del sistema radicular de plantas de *C. chinense* (Habanero criollo)

Tratamientos (raíz) en cm	
Control	FCHA-T7
28	5
31	6.1
25.3	6.6
	7.2
	5.3
*2.851	*0.907

*Desviación estándar

8.2.2. Inoculación de *Fusarium* en plantas de *C. annuum* (chile siete caldos) (estrategia 2).

Este ensayo tuvo una duración de 30 días y se usaron dos cepas: FCHA-T7 y F7C-4T que fue aislada de una planta infectada en Comitán. Este ensayo se tuvo que inocular dos veces ya que a los 20 días ninguno de los tratamientos presentaba una sintomatología más haya que la clorosis leve en las plantas; después de la segunda inoculación se presentaron más síntomas (Figura 15): el más grave fue marchites progresivo del follaje y turgencia y por ultimo clorosis. .



Figura 15: plantas de chile. A) plantas control. B) diferencias de las plantas infectadas con *Fusarium*.

Al finalizar en ensayo todas las plantas fueron retiradas del invernadero y se tomaron los datos de clorofila, peso húmedo (parte aérea y raíz), peso seco (parte aérea y raíz) y longitud (parte aérea y raíz) de cada planta y se hizo un análisis estadístico de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. (Tablas 8, 9, 10, 11, 12,13, y 14).

Una de las causas por el cual el chile presentara un poco de resistencia a los patógeno podría ser que durante la interacción planta y un patógeno pueda responder a dicha amenaza, las plantas han adquirido la habilidad de sintetizar moléculas que pueden percibir sustancias extrañas y activan consecuentemente la inmunidad innata. Este reconocimiento le permite a la planta identificar a un patógeno a través de receptores que pueden localizarse en las superficie celulares o en el citosol (Monaghan & Li, 2008). Estos receptores se activan después de la percepción directa o indirecta de estructuras propias o extrañas, actuando como interruptores moleculares que regulan vías de transducción de señales (Shen & Schulze-Lefert, 2007).

Tabla 8: Contenido de clorofila en hojas de *C. annuum* (chile siete caldos)

Tratamientos				
	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Erro Est. Individual
FCHA-T7	8	13.15	b	1.59715
F7C-4T	8	12.6417	b	0.929494
Control	9	20.1074	a	0.414318

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Las hojas de las plantas de chile presentaban un poco de clorosis causado por los patógenos utilizados. En la Tabla 8 se muestra como las cepas FCHA-T7 y F7C-4T no presentan una diferencia significativa entre ellas pero si hay diferencia con el control.

En la tabla 9 se muestra los pesos húmedos de los diferentes tratamientos en lo cual podemos observar que FCHA-T7 y F7C-4T no tienen diferencias, también la cepa 4 y el control no tienen diferencias significativa; en cambio el tratamiento de FCHA-T7 y el control si tienen diferencias significativas.

Tabla 9: Peso fresco de la parte aérea de plantas de *C. annuum* (chile siete caldos)

Tratamientos (parte aérea)				
	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Erro Est. Individual
FCHA 7	8	3.52925	b	0.405062
Cepa 4	8	4.38275	ba	0.679115
Control	9	5.673	a	4.94066

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

En la tabla 10 se muestra los pesos secos de los tratamientos en el cual se observa que FCHA-T7 y F7C-4T entre ellas no hay diferencia significativas, pero si hay diferencia con el control. Si comparamos la tabla 9 y 10 se observa que el que siempre presenta diferencia significativa con el control en ambas tablas es FCHA-T7.

Tabla 10: Peso seco de la parte aérea de plantas de *C. annuum* (chile siete caldos)

Tratamientos (parte aérea)				
	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Erro Est. Individual
FCHA-T7	8	0.970125	b	0.102933
F7C-4T	8	1.08162	b	0.0788529
Control	9	1.79133	a	0.045773

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

En la tabla 11 se presenta los pesos húmedos de las raíces de cada tratamiento y se puede observar que no hay diferencia significativa en ningún de los tratamientos, a esto se puede atribuir que la enfermedad no había llegado a puntos extremos ya que según Davey 2014 el

patógeno afecta a la toma de nutrientes y agua lo que causa deficiencias marchitamiento, pudrición del cuello y de raíces.

Tabla 11: Peso fresco del sistema radicular de plantas de *C. annuum* (chile siete caldos)

Tratamientos (raíz)				
	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Erro Est. Individual
FCHA-T7	8	0.337875	a	0.0377219
F7C-4T	8	0.41525	a	0.371138
Control	9	0.455444	a	0.38607

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

En la tabla 12 se presenta los pesos secos de las raíces y como en la tabla 11 no se presenta ninguna diferencia significativa en los tres tratamientos.

Tabla 12: Peso seco del sistema radicular de plantas de *C. annuum* (chile siete caldos)

Tratamientos (raíz)				
	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Erro Est. Individual
FCHA-T7	8	0.173375	a	0.0197484
F7C-4T	8	0.239125	a	0.0196854
Control	9	0.181111	a	0.0315605

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Las longitudes de la parte aérea de las plantas (Tabla 13) muestran una diferencia significativa en todos los tratamientos, se puede observar que el tratamiento que causó más daño fue el FCHA-T7 ya que causó un mayor enanismo que el de la F7C-4T y esto es uno de los síntomas menos severos por fusarium según Oelke y Bosland, 2001. Y por lo tanto esto se ve afectado a las tablas 9 y 10.

Tabla 13: Altura de la parte aérea del sistema radicular de plantas de *C. annuum* (chile siete caldos)

Tratamientos (parte aérea)				
	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Erro Est. Individual
FCHA-7	8	32.25	c	1.00463
F7C-4T	8	36.0625	b	1.42915
Control	9	39.3778	a	.505464

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Las longitudes de la raíz (Tabla 14) muestra que los tratamientos FCHA-T7 y F7C-4T no presentan diferencias significativas entre ambos pero si conforme al control y con esto no se ve afectado el peso de la raíces en las tablas 11 y 12 ya que no se presenta ninguna diferencia significativa en estas tablas.

Tabla 14: Longitud del sistema radicular de plantas de *C. annum* (chile siete caldos)

Tratamientos (raíz)				
	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Erro Est. Individual
FCHA-7	8	12.2875	b	1.50077
F7C-4T	8	13.0375	b	1.71484
Control	9	20.0222	a	.93554

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

8.3. Comprobación de patogenicidad de *Fusarium* en los tallos de *Capsicum*.

Los tallos se cortaron en pedazos de aproximadamente 5 mm y se observaron en un macroscópico, donde se puede observar en la figura 16 en la parte A) el xilema del control está completamente libre en cambio la parte B) se observa el patógeno en todo el xilema de la planta.

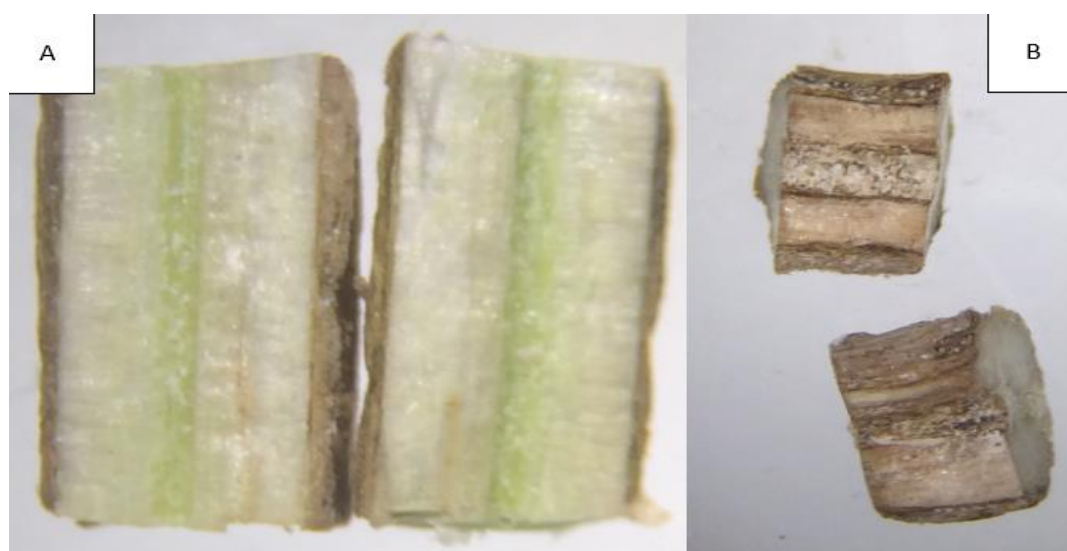


Figura 16: Tallos *Capsicum Chinense* vistos mediante microscopio óptico. A) Control. B) Inoculados con FCHAT-7.

Los tallos de capsicum annum se (Figura 17) observaron en un macroscópico donde se puede observar que la parte B) y C) se encuentra el xilema invalidado del patógeno inoculado en las plantas mientras que la parte A) se encuentra el control libre de patógeno.

Agrios 1996 dice que el ingreso del *Fusarium* spp. a la planta se ve facilitada cuando los propágulos presentan lesiones, o cuando las raíces se están elongando, se producen pequeñas heridas. Cuando el hongo entra en la raíz, comienza a producir micelio y microconidias que se van extendiendo en forma ascendente a través de los vasos xilemáticos de la planta.

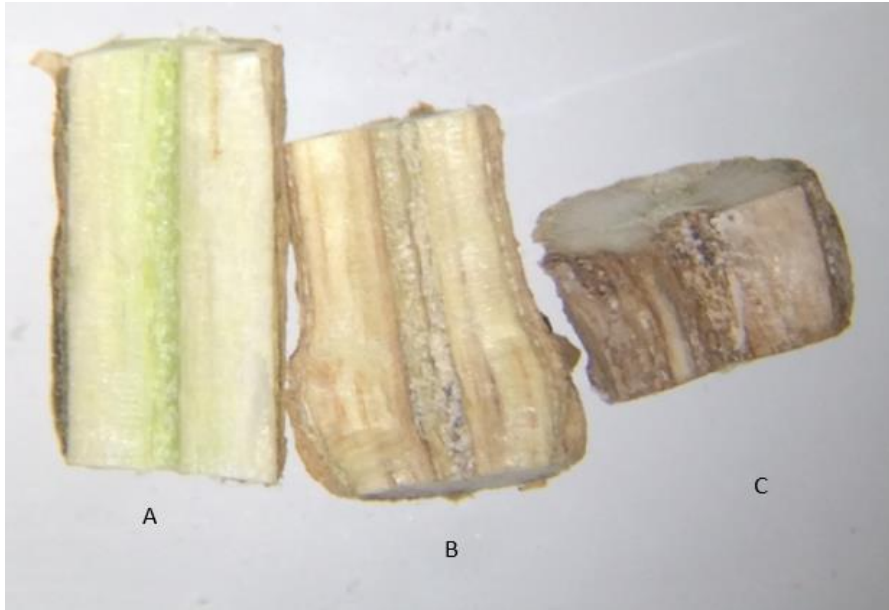


Figura 17: Tallos *Capsicum annum* vistos en microscopio óptico. A) Control. B) FCHA-T7. C) F7C-4T

Otro método para comprobar si el *Fusarium* spp estaba en las plantas de Chile fue sembrar pequeños trozos de tallos en medio PDA, en el cual se puede observar en la figura 18 en la parte B) que la caja Petri está creciendo *Fusarium* y otros microorganismos que contiene la planta y la parte A) está libre de *Fusarium*, si hay crecimiento de otros microorganismos que contiene el Chile.

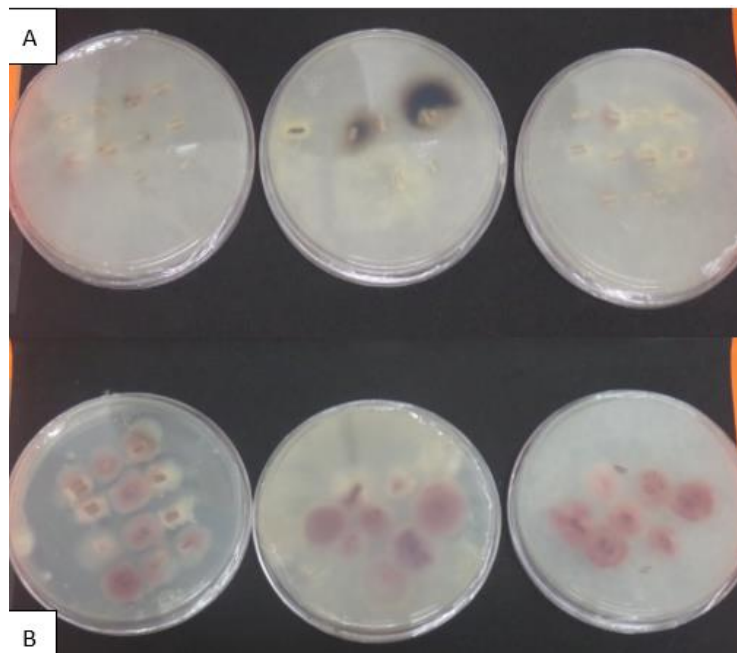


Figura 18: Cajas Petri con tallos de *Capsicum* spp. A) Control. B) *Fusarium*

9. Conclusiones.

Se pudo establecer el protocolo de inoculación y las condiciones para que se dé el proceso de infección de *Fusarium* en plantas de *Capsicum*. Se pudo observar que el chile siete caldos presenta mayor resistencia al patógeno; siendo el chile habanero el más susceptible a la infección por las dos cepas utilizadas.

Los resultados sugieren que las dos cepas de *Fusarium* utilizadas (FCHA-T7 y F7C-4T) la cepa FCHA-T7 es más patogénica que la F7C-4T.

Referencias

- A., M. A. (2017). *Biocontrol of certain soilborne diseases and promotion of growth of Capsicum annum using biofungicides.*
- AGRIOS, G. (1996). *Fitopatología.* México: Limusa. 2 ed.
- AGRIOS, G. (1997). *Plant Pathology.* San Diego, USA.: Academic. 4ta ed.
- AGRIOS, G. (2005). *Plant Pathology.* Amsterdam: Elsevier Academic Press quinta ed.
- Amaral DOJ, M. M. (2008). Differential gene expression induced by salicylic acid and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* infection in tomato. *Pesq Agrop Bras.*, 43(8): 1017-1023.
- ARMENTROUT, C. (1988). *Population assessment of Fusarium spp. in soil.* In: Minnesota, USA.: Baudin (ed.). *Laboratory Exercises in Plant Pathology:* an. Bosland., W. D. (2006). The gene of *Capsicum*. *HortScience*, 41(5):1169-1187.
- BUSHELMAN, S., CALLEN, J., ROTH, D., & COHEN, L. (1995). *Disseminated fusarium solani infection.* *Journal of the American Academy of Dermatology.*
- D., A. V. (2002). Le Ik: Los chiles en Guatemala. *Journal of Experimental Botany*, 4(388):1655-1664.
- Davey, C. C. (2014). Búsqueda de resistencia a la pudrición causada por *Fusarium* spp. en *Capsicum*. *Universidad Nacional de Colombia*, 89.
- DeWitt, D. a. (1997). *Peppers of the world: An identification guide.* USA, 240.
- Di Pietro, A., & Roncero, M. (2005). *Fusarium oxysporum: un modelo para el análisis de la patogenicidad fungica en plantas y humanos.* actualidad SEM.
- Díaz de Castro, F., & Restrepo, M. R. (2007). *Microbiología de las infecciones humanas.* Medellín, Colombia.
- Donoso M, Montealegre J. (2003). Control biológico de *Fusarium* spp. en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) . *Universidad de Chile.*
- Estrada A. B.; Ma. A. Bernal; F. Merino. . (2000). Maduración del Pimiento Padrón: Transformaciones Bioquímicas. *Universidad de Coruña, Servicios de Publicaciones.*, pp 1-18; 72-83 y 107-112.
- González E, Mesa LM, Rodríguez S, Arcaya N, Carmona I. (1998). Hongos Filamentosos y levaduras en uñas sanas . 17-26.
- González-Pérez, E.; Yáñez-Morales, M. J.; Santiago-Santiago, V. y Montero-Pineda, A. . (2004). Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados de José Mazo. El Verde, Puebla. Agrociencia. . *SciELO Mexico*, 38:653-661.
- Groenewald, S. (2006). *Biology, pathogenicity and diversity of Fusarium oxysporum f.sp cubense.*

- Guigón-López, C. y González-González. (2001). Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *SciELO Mexico*, 56.
- HERRERA, R.; OBREQUE, M.; VICO, V.; REBOLLEDO, P.; LOLAS, M.; SCHIAPPACASSE, F.; SANDOVAL, C. . (2006). HERRERA, R.; OBREQUE, M.; VICO, V.; REBOLLEDO, P.; LOLAS, M.; *S Fungi and bacteria affecting protea plantings in Chile.*, 716:107-110.
- INIFAP. (2008). Principales enfermidades del chile (*Capsicum annum* L.). *GOBIERNO FEDERAL*, 42.
- Ivonne González, Y. A. (2012). ASPECTOS GENERALES DE LA INTERACCIÓN *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*-TOMATE. *SciELO*.
- LUBBE, C.M.; LAMPRECHT, S.C.; VAN NIEKERK, J.M.; MOSTERT, L. (2008). LUBBE, C.M.; LAMPRECHT, S.C.; VAN NIEKE Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* causing wilt of proteaceae. 805:127-134.
- M., S. F., Trejo, A., Tun, J., & Saldívar., R. (2002). Paquete tecnológico para la producción de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *SEP. SEIT. Instituto Tecnológico Agropecuario de Conkal, Yucatán.*, Pág. 1-21.
- MESSIAEN, C, e. a. (1991). *Les maladies des plantes maraichères*. Paris. Francia.: INRA.
- Metored. (2019). *Histórico del clima en Tuxtla Gutierrez*. <https://www.meteored.mx/tuxtla-gutierrez/historico>.
- Michielse CB, R. M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. . *Mol Plant Pathol.*, 10:311-324.
- MICHIELSE, C. B. YREP, M. (2009.). Pathogen profile. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *MOLECULAR PLANT PATHOLOGY*, 311–324.
- MILLER, SALLY A.; ROWE, R.C.; RIEDEL, R.M. (1996). “*Fusarium and Verticillium Wilts of Tomato, Potato, Pepper, and Eggplant*”. *he Ohio State University*.
- Monaghan, J. a. (2008). R protein activation: another player revealed cell host and microbe. 9-10.
- Montes Hernández, S., López, P., Hernández Verduzco, S. & Ramírez Meraz, M. . (2018). Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México. . *CONABIO Consejo Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.* , 41 pp.
- MOURA, M.F.; RODRIGUES, P.F. . (2001). Fungal diseases on proteas identified in madeira island. 545:265-268.
- Muñoz, R. C. (2012). Caracterización de la población de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en la costa Noroeste de Cádiz y control mediante composts supresivos de las marchiteces vasculares. *UNIVERSIDAD DE SEVILLA Departamento de Microbiología y Parasitología*, 207.
- Nathalie Camacho Ramírez y Julie Andrea Gil Gómez. (2008). Evaluación preliminar de modelos de infección cruzada por *Fusarium* sp., aislado de procesos patológicos en plantas, animales y humanos. *pontificia universidad javeriana facultad de ciencias*.
- OELKE, L. M. (2001.). *Fusarium Disease of Capsicum*. *Capsicum & Eggplant Newsletter.*, 86-89.
- PAULITZ, T. y. (2001). *Biological control in greenhouse systems*. USA.
- R., H. (2005). Control biológico de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Fusarium solani* en tomate bajo invernadero. *Universidad de Chile* .
- SAGARPA. (2017). *Planeación agrícola Nacional 2017-2030 "jitomate Mexicano"*. México: Gobierno Federal.

- SAGARPA, INIFAP . (2011). *Enfermedad fungosas y bacterianas del cultivo de tomate en el estado de Nayarit* . Nayarit: Gobierno Federal .
- SARGAPA. (2017). *Planeación agrícola nacional 2017-2030 "Chiles y pimientos Mexicanos"*. México: Gobierno Federal.
- Schulze-Lefert, S. Q. (2007). Rumble in the nuclear jungle: compartmentalization, trafficking, and nuclear action of plant immune receptors. *The EMBO journal*, 4293-4301.
- SM., E. K. (2007). Induction and modulation of resistance in tomato plants against Fusarium wilt disease by bioagent fungi (arbuscular mycorrhiza) and/or hormonal elicitors (jasmonic acid & salicylic acid). *Aust J Basic & Appl Sci.*, 1(4): 691-705.
- Takken F, R. M. (2010). The arms race between tomato and Fusarium oxysporum. *Mol. Plant Pathol*, 11(2): 309-314.
- Trujillo, A., & Pérez, L. (2004). chile habanero capsicum chinese. *Diversidad varietal. CIRSE.CE Uxmal. folleto tecnico.*
- Tun D. J. de la C. . (2001). Chile Habanero: Características y tecnología de producción. *Centro de Investigación Regional del Sureste. Mocochoá, Yucatán,*, pág. 5-46.
- Vásquez-Ramírez, L.M.; Castaño-Zapata, J. (Diciembre 2017). MANEJO INTEGRADO DE LA MARCHITEZ VASCULAR DEL TOMATE [Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici . *SciELO*, 12.
- Velásquez, V. R.; Rincón, V. J. F. y López, F. L. C. (2000). Guía para controlar la pudrición de la raíz de chile en Aguascalientes y Zacatecas. *Folleto para Productores Num. 25. Campo Experimental Calera-INIFAP, SAGARPA.*, 16.
- Velázquez, V.; Medina, A. y Mena, C. (2002). Velázquez, V.; Medina, A. y Mena, C. 2002. Guía para identificar y manejar las principales enfermedades parasitarias del chile en Aguascalientes y Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.sagarpa. *SciELO Mexico*, 41.