



IDENTIFICATION OF *Fusarium oxysporum* STRAINS ISOLATED FROM  
 “SIETE CALDOS” CHILI (*Capsicum frutescens* L.) AND ITS  
 PATHOGENICITY IN *Capsicum chinense* JACQ. †

[IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE *Fusarium oxysporum* AISLADAS DE  
 CHILE “SIETE CALDOS” (*Capsicum frutescens* L.) Y SU PATOGENICIDAD  
 EN *Capsicum chinense* JACQ.]

Asunción Guadalupe Morales-Mendoza<sup>1</sup>, César Chacón<sup>1</sup>,  
 Reyna Zulemy Navarrete-Mapen<sup>2</sup>, Nancy Ruiz-Lau<sup>3\*</sup>,  
 José Ramón Pacheco-Arjona<sup>4</sup>, Rosa Isela Cruz-Rodríguez<sup>1</sup>;  
 Eduardo R. Garrido-Ramírez<sup>5</sup> and Víctor Manuel Ruíz-Valdiviezo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México/ I.T. Tuxtla Gutiérrez. Carretera Panamericana  
 Km. 1080, C.P. 29050, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. Email:  
[asuncion.morales@cinvestav.mx](mailto:asuncion.morales@cinvestav.mx); [ingecesarfigueroa10@hotmail.com](mailto:ingecesarfigueroa10@hotmail.com);  
[victor.rv@tuxtla.tecnm.mx](mailto:victor.rv@tuxtla.tecnm.mx); [rosa.cr@tuxtla.tecnm.mx](mailto:rosa.cr@tuxtla.tecnm.mx)

<sup>2</sup> Tecnológico Nacional de México/I.T. Conkal. Calle 10 S/N, C.P. 97345, Mérida,  
 Yucatán, México. Email: [rznavarrete@hotmail.com](mailto:rznavarrete@hotmail.com)

<sup>3</sup> SECITHI-Tecnológico Nacional de México/I.T. Tuxtla Gutiérrez. Carretera  
 Panamericana Km. 1080, C.P. 29050, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.  
 Email: [nruizla@secihti.mx](mailto:nruizla@secihti.mx)\*, [nancy.rl@tuxtla.tecnm.mx](mailto:nancy.rl@tuxtla.tecnm.mx)

<sup>4</sup> SECIHTI-Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y  
 Zootecnia. Carretera Mérida-Xmatkuil Km. 15.5, Mérida, Yucatán, México. Email:  
[ramon.pacheco@correo.uady.mx](mailto:ramon.pacheco@correo.uady.mx)

<sup>5</sup> Universidad Tecnológica de la Selva. Entronque Toniná, Carretera Ocosingo-  
 Altamirano Km. 0.5, C.P. 29950, Ocosingo, Chiapas, México. Email:  
[egarrido\\_ramirez@hotmail.com](mailto:egarrido_ramirez@hotmail.com)

\*Corresponding author

## SUMMARY

**Background.** Chili pepper (*Capsicum* spp.) cultivation extends throughout Mexico, hosting a wide variety worldwide. However, crop health is reduced by the incidence of pathogenic microorganisms such as those of the *Fusarium* genus, which is one of the main agents causing vascular wilt and mortality of plant species. The use of molecular tools allows for rapid and reliable identification of organisms at the species level and help characterize the symptoms and pathogenicity they cause in hosts, which is important for field management and control. **Objective.** To identify at the molecular level fungal strains isolated from Siete Caldos chili (*C. frutescens*) using ITS and evaluate their pathogenicity in *C. frutescens* and *C. chinense*. **Methodology.** Strains of *Fusarium* from Chile Siete Caldos plants (*C. frutescens* L.) were isolated and identified using traditional techniques (humid chamber and isolation in specific culture media) and molecular techniques (ITS1 and ITS4), and their pathogenicity in *C. chinense* Jacq. and *C. frutescens* was evaluated. **Results.** Seven strains were identified using taxonomic keys denoted as: 44hp, 45ta, 46ta, 46hp, 47hp, 45hpssc and 45hpmcsc. From the amplified regions, the phylogenetic tree was obtained using the maximum-likelihood method based on the comparison of ITS sequences. The fungal isolates were identified and grouped, which corresponded to *F. oxysporum* strains reported in the NCBI database. The pathogenicity test showed the presence of symptoms in *C. frutescens*, with strain 45ta being the most virulent (80 % incidence in inoculated plants). However, under the evaluation techniques used, *C. chinense* plants did not present wilting symptoms. **Implications.** The higher incidence of strain 45ta in *C. frutescens* could be due to the affinity of *F. oxysporum* for its host (Siete Caldos chili), while the absence of symptoms in *C. chinense* could be due to an asymptomatic infection. **Conclusions.** The isolated

† Submitted March 19, 2025 – Accepted May 6, 2025. <http://doi.org/10.56369/tsaes.6249>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = A.G. Morales-Mendoza: <https://orcid.org/0009-0004-1994-5167>; C. Chacón: <https://orcid.org/0000-0002-4919-8789>; R.Z. Navarrete Mapen: <https://orcid.org/0000-0002-2388-705X>; N. Ruiz-Lau: <https://orcid.org/0000-0002-5624-8561>; J.R. Pacheco Arjona: <https://orcid.org/0000-0001-9067-5316>; V.M. Ruiz-Valdiviezo: <https://orcid.org/0000-0003-0572-8845>; R.I. Cruz-Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0002-4743-9112>; E.R. Garrido-Ramírez: <https://orcid.org/0000-0002-3618-5014>

strains showed no variability in their molecular identification, but not all showed the same infective capacity in the pathogenicity test. Therefore, it is necessary to perform tests with greater specificity to determine whether subspecies of the studied isolates exist.

**Key words:** phytopathogens; fungi; pepper; *Capsicum*; symptoms.

## RESUMEN

**Antecedentes.** El cultivo de chile (*Capsicum* spp.) se extiende en todo el territorio mexicano albergando una gran variedad a nivel mundial. Sin embargo, la sanidad de los cultivos disminuye por la incidencia de microorganismos patógenos como los del género *Fusarium*, el cual es uno de los principales agentes causantes de marchitez vascular y mortalidad de las especies vegetales. El uso de herramientas moleculares permite una identificación rápida y fiable de los organismos a nivel especie, y ayuda a caracterizar la sintomatología y patogenicidad que ocasionan en los huéspedes, lo cual es importante para el manejo y control en campo. **Objetivo.** Identificar molecularmente cepas fúngicas aisladas de chile Siete Caldos (*C. frutescens*) mediante ITS y evaluar su patogenicidad en *C. frutescens* y *C. chinense*. **Metodología.** Se aislaron e identificaron mediante técnicas tradicionales (cámara húmeda y aislamiento en medios de cultivo específicos) y moleculares (ITS1 e ITS4) cepas de *Fusarium* de plantas de chile Siete Caldos (*C. frutescens* L.) y se evaluó su patogenicidad en *C. chinense* Jacq. y *C. frutescens*. **Resultados.** Se identificaron siete cepas mediante claves taxonómicas denotadas como: 44hp, 45ta, 46ta, 46hp, 47hp, 45hpssc y 45hpmcsc. A partir de las regiones amplificadas se obtuvo el árbol filogenético mediante el método maximum-likelihood basado en la comparación de secuencias ITS, se identificaron y agruparon los aislados fúngicos, los cuales correspondieron a cepas de *F. oxysporum* reportadas en la base de datos del NCBI. La prueba de patogenicidad evidenció la presencia de síntomas en *C. frutescens*, siendo la cepa 45ta la de mayor virulencia (80 % de incidencia en plantas inoculadas). Sin embargo, bajo las técnicas de evaluación empleadas, las plantas de *C. chinense* no presentaron síntomas de marchitez. **Implicaciones.** La mayor incidencia de la cepa 45ta en *C. frutescens* podría deberse a la afinidad de *F. oxysporum* por su hospedero (chile Siete Caldos), mientras que la ausencia de síntomas en *C. chinense* podría deberse a una infección asintomática. **Conclusiones.** Las cepas aisladas tuvieron nula variabilidad en su identificación molecular, pero no todas mostraron la misma capacidad infectiva en la prueba de patogenicidad. Por ello, es necesario realizar pruebas con mayor especificidad para determinar si existen subspecies de los aislados estudiados.

**Palabras clave:** fitopatógenos; hongos; *Capsicum*; chile; síntomas.

## INTRODUCCIÓN

*Capsicum* pertenece a la familia de las solanáceas, siendo la segunda hortaliza más cultivada en el mundo. Sus frutos son ricos en vitaminas, minerales y compuestos bioactivos con actividad antioxidante (Olszewska *et al.*, 2021; Pinar *et al.*, 2023). Este género comprende más de 40 especies, entre las más consumidas y cultivadas se encuentra *C. annuum*, junto con otras cuatro especies domesticadas: *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens* (Toppino *et al.*, 2021). Los cultivos de *Capsicum* se desarrollan en distintas regiones, siendo México el segundo productor a nivel mundial. Aproximadamente, el 67% de las áreas de cultivo de *Capsicum* en todo el mundo se encuentra en el continente asiático. La segunda región más importante en el cultivo de chile abarca México y Estados Unidos, representando alrededor del 7% del total plantado del continente (12.9%). El resto de las áreas cultivadas se encuentra en los países de Europa (10.2%), África (9.5%) y Oceanía (0.2%) (FAOSTAT, 2023).

Sin embargo, la sanidad de los cultivos ha ido disminuyendo por la influencia de factores abióticos y bióticos (Tembhurne *et al.*, 2017). Este último implica la presencia de microorganismos (Chowdhury *et al.*, 2020) del suelo como *Fusarium* spp. (Jamiolkowska y Kowalski, 2012) que causan reducción en el

rendimiento, producción y calidad de los cultivos de *Capsicum*. Las especies del género *Fusarium* han sido reportadas como uno de los principales agentes causantes de marchitez vascular y en casos severos la mortalidad de las especies vegetales (Cruz-Cerino *et al.*, 2020). Particularmente, *Fusarium oxysporum* ocupa el quinto lugar entre los patógenos con mayor letalidad (Girma, 2022) y posee amplia diversidad filogenética, mediante formas especiales específicas (Rahman *et al.*, 2021), dividiendo su letalidad en razas patógenas y no patógenas (Bertoldo *et al.*, 2014). Esta diversidad ha sido evidenciada por el gran número de especies hospederas que poseen, en las cuales puede llegar a causar marchitez. Al respecto, Altinok y Erdogan (2019) reportaron marchitez en plantas de pimientos (*C. annuum*) causada por *F. oxysporum*. Soyly *et al.* (2023) reportaron aislados de *F. incarnatum* (Desm.) Sacc. patógenos responsables de la podredumbre interna de frutos de pimientos. López-Benítez *et al.* (2022) inocularon a *F. oxysporum* en cinco líneas endogámicas de chile Habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con la finalidad de identificar genotipos resistentes al patógeno. Los resultados demostraron diferencias significativas entre los genotipos evaluados evidenciando la diferencia genética entre estos y la resistencia o susceptibilidad a *F. oxysporum*. La identificación de estas especies se ha logrado en gran medida mediante el uso de herramientas moleculares como la secuenciación de la

región espaciadora transcrita interna (ITS, Internal Transcribed Spacer). En este contexto, es importante la identificación de especies patógenas fúngicas en cultivos de interés comercial y caracterizar la sintomatología y la patogenicidad que ocasiona en los huéspedes. Por ende, el objetivo de este trabajo fue identificar molecularmente cepas fúngicas aisladas del chile nativo Siete Caldos (*C. frutescens*) mediante ITS y evaluar su patogenicidad en *C. frutescens* y *C. chinense*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colecta del material vegetal

La colecta de material fúngico se realizó en un cultivo de chile Siete Caldos (*C. frutescens*) que mostraba síntomas de infección causados por hongos fitopatógenos establecido en el poblado El Porvenir Agrarista del municipio de La Trinitaria, Chiapas, México y ubicado en las coordenadas geográficas 385°N (16°9'27"N 91°50'43"O); 341°N (16°9'27"N 91°50'43"O) y 357°N (16°10'4"N 91°50'59"O). Se colectaron plantas completas que presentaban marchitez, amarillamiento de hojas, pérdida de turgencia, escaso desarrollo vegetativo y sistema radicular poco desarrollado. Las plantas fueron almacenadas en bolsas de papel estraza cubiertas con plástico y mantenidas en refrigeración a 10 °C aproximadamente para su conservación.

### Aislamiento y purificación a partir de tejido infectado

Se realizaron cortes longitudinales y transversales de aproximadamente 5 mm del tallo que incluyeron la parte enferma y sana. Los explantes fueron desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 3 % (a partir de una solución comercial del 5 %) durante 1 minuto y lavados tres veces con agua destilada estéril por un minuto y se colocaron en papel estéril para eliminar residuos de humedad. Posteriormente, se sembraron en cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA) estéril (BD Bioxon®) dentro de una campana de flujo laminar, se sellaron e incubaron durante aproximadamente 15 días a una temperatura de 28 °C ± 2. Cuando presuntamente se verificó el crecimiento micelial de los patógenos, se realizó una resiembra en medio PDA para obtener cultivos aislados. Las resiembras sucesivas se realizaron hasta obtener un crecimiento homogéneo del micelio.

### Aislamiento por técnica de punta hifa

Mediante el uso de una jeringa estéril se tomó una sección de los aislados resembrados sucesivamente, se sembró en cajas Petri con medio PDA y se incubaron a 28 °C ± 2 durante 15 días. Posteriormente, se

recolectaron las esporas preparando una suspensión a una concentración de 2500 UFC/mL con agua destilada estéril y Tween 80 (Sigma-Aldrich®) al 1 %. A partir de esa suspensión se realizó una siembra en lámina con agar, la cual se incubó durante 2-3 días. De los subcultivos se hicieron dos resiembras sucesivas (punta hifa y disco micelial de 6 mm de diámetro) y se incubaron en las condiciones anteriormente descritas. Para corroborar la morfología de los aislados de los subcultivos a nivel género se empleó taxonomía tradicional utilizando claves dicotómicas (Barnett y Hunter, 1999). Se utilizó azul de lactofenol como colorante de investigación en las muestras y la observación de las estructuras fúngicas se realizaron empleando un microscopio compuesto (VELAB™). Posteriormente, la propagación y mantenimiento de las cepas aisladas se realizó en medio PDA a 28 °C ± 2.

### Secuenciación e identificación molecular de las cepas aisladas

La extracción del ADN genómico se realizó a partir del micelio de los hongos aislados siguiendo la metodología propuesta por Della Porta *et al.* (1983); su concentración y pureza se determinó en un espectrofotómetro UV-Vis (Nanodrop One, Thermo Scientific) a una longitud de onda de 260 nm y 280 nm. La amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo con el kit Top Taq master mix (Qiagen). Los oligos utilizados fueron ITS 1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS 4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). Las condiciones del termociclador fueron las siguientes: 1 ciclo a 95 °C por 2 min; 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 1 min y una extensión final a 72 °C por 10 min. Posteriormente, el tamaño y la integridad de los amplicones se determinaron por electroforesis en gel de agarosa (1 %) teñido con bromuro de etidio. La purificación de los amplicones y la secuenciación mediante el método Sanger fueron realizadas comercialmente por MacroGen, Inc., Corea ([www.macrogen.com](http://www.macrogen.com)) realizando una secuenciación bidireccional utilizando los mismos oligos empleados en la PCR como cebadores de secuenciación. Se secuenciaron dos muestras de cada cepa en ambas direcciones, con las correspondientes secuencias (sentido e inversa), se realizaron alineaciones globales por pares y se rasuraron los extremos de baja calidad con el plugin Geneious Aligment, generando un total de siete secuencias de consenso. La identificación genotípica de las cepas se realizó por comparación de secuencias por pares a través del programa BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), seleccionando la base de datos curada RefSeq de la región espaciadora transcrita interna (ITS) de hongos tipo (<https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/TargetedLoci/Fungi/fungi.ITS.fna.gz>) y el algoritmo Megablast

(secuencias altamente similares), seleccionando como mejor resultado la coincidencia con mayor puntaje de identidad y porcentaje de cobertura.

### **Análisis filogenético**

Se realizó una inferencia filogenética utilizando un conjunto de datos compuesto por 23 secuencias del espaciador transcrito interno (ITS), incluidas siete secuencias generadas en el presente estudio y 16 secuencias de referencia obtenidas de la base de datos RefSeq. Las secuencias se alinearon utilizando el algoritmo Geneious Alignment implementado en Geneious v8.1.9 (Biomatters Ltd.), lo que dio como resultado una matriz de alineación de secuencias múltiples de 499 pares de bases de longitud.

El árbol filogenético se construyó con FastTree v2.1.11 utilizando el modelo Generalized Time-Reversible (GTR) de sustitución de nucleótidos. El parámetro de heterogeneidad de la tasa distribuida gamma se optimizó durante la reconstrucción del árbol para tener más en cuenta la variación de la tasa evolutiva entre sitios. Todo el análisis, incluida la selección del modelo y la visualización del árbol, se llevó a cabo en el entorno Geneious v8.1.9.

### **Prueba de patogenicidad**

Las semillas de chile Siete Caldos (*C. frutescens*) y Habanero Criollo (*C. chinense*), fueron colectadas en El Porvenir Agrarista del municipio de La Trinitaria Chiapas y en el municipio de Conkal, Yucatán respectivamente. Se germinaron semillas de chile Siete Caldos y Habanero Criollo en semilleros de poliestireno utilizando peat moss y agrolita (3:1 v/v) como sustrato. Después de 30 días las plantas fueron trasplantadas a contenedores de poliestireno de 1 L, utilizando como sustrato composta y suelo (1:2 v/v). Las plantas fueron colocadas en una casa sombra para su aclimatación. Se utilizaron 10 plantas de chile Siete Caldos y para saber si la cepa patogénica puede infectar otra especie de Capsicum se utilizaron seis plantas de Habanero Criollo por cada tratamiento ya que no fue el hospedero de dónde se aisló el patógeno. Quince días después del trasplante (ddt) se llevó a cabo la inoculación de las plantas con las cepas fúngicas (44hp, 45ta, 46ta, 46hp, 47hp, 45hpssc y 45hpmcsc). La inoculación se realizó por herida colocando un disco de micelio de los aislados a una distancia de 1 cm aproximadamente de la base del tallo cubriéndolo con plástico para sostenerlo. Como control se utilizaron plantas inoculadas con un disco de agar sin micelio. Finalmente, las plantas fueron asperjadas con agua destilada estéril y cubiertas con una bolsa de poliestireno transparente durante 48 h para conservar la humedad. La patogenicidad se calculó mediante el

índice de gravedad de la enfermedad (IGE), asignando de acuerdo con la escala del CIAT (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987):

1. Sin síntomas visibles de la enfermedad.
3. Muy pocas hojas marchitas (1 a 3 hojas, que representan 10% o menos del follaje), síntoma acompañado de decoloración vascular limitada de los tejidos radicales y de la base del tallo.
5. Aproximadamente 25% de hojas y ramas presentan marchitamiento y clorosis.
7. Aproximadamente 50% de hojas y ramas presentan marchitamiento, clorosis y necrosis limitada. Las plantas manifiestan enanismo.
9. Aproximadamente 75% o más de las hojas y las ramas presentan marchitamiento, enanismo severo y necrosis con defoliación prematura que eventualmente ocasionan el deceso de la planta.

Dicha escala permite determinar si la planta es resistente (1-3), susceptible (4-6) o altamente susceptible (7-9) a la enfermedad. Asimismo, al finalizar el experimento se determinó el porcentaje de supervivencia, el índice de gravedad de la enfermedad y el porcentaje de incidencia. Las unidades experimentales (70 para chile Siete Caldos y 42 para Habanero Criollo) fueron distribuidas al azar en una casa sombra y regadas cada segundo día durante 30 días.

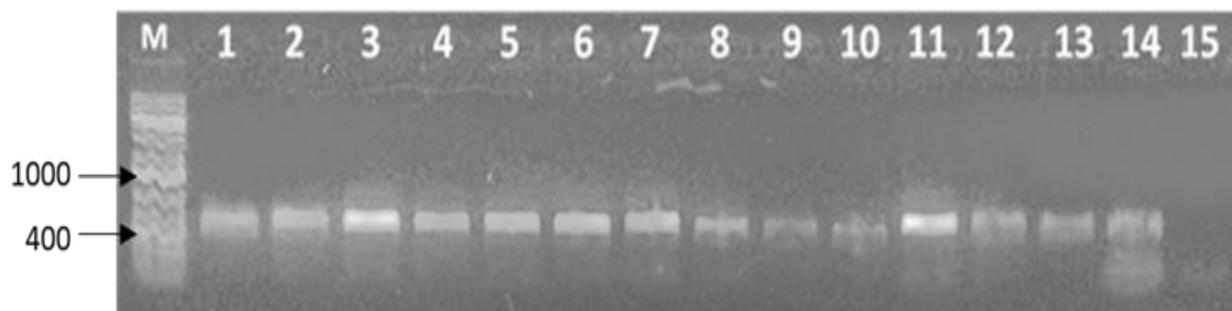
### **Diseño experimental y análisis estadístico**

Los resultados obtenidos de la prueba de patogenicidad se analizaron mediante una ANOVA,  $p \leq 0.05$ . En aquellas medias en las cuales existió una diferencia significativa se empleó la prueba LSD con un valor de confiabilidad del 95% empleando el software STATGRAPHICS V. XIX (Statgraphics technologies, Inc., Madrid, España).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Aislamiento e identificación taxonómica y molecular**

Se obtuvieron siete cepas de *Fusarium* denotadas bajo la siguiente nomenclatura: 44hp, 45ta, 46ta, 46hp, 47hp, 45hpssc y 45hpmcsc, las cuales presentaron crecimiento uniforme y homogéneo. Se observó la presencia de macroconidios con forma de “media luna” septados, así como el micelio pigmentado (entre café, rojo y violeta) característico de varias cepas de *F. oxysporum*. Con la amplificación mediante PCR se obtuvieron amplicones con un tamaño aproximado de 600 pb (Figura 1) correspondiente a lo reportado para el sitio ITS (ITS1/ITS4) (White *et al.*, 1990).



**Figura 1.** Electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Aislados fúngicos *46hp* (1 y 2), *45hpssc* (3 y 4), *47hp* (5 y 6), *45ta* (7 y 8), *45hpmcsc* (9), *46ta* (10 y 11), *44hp* (12 y 13), control positivo (14), control negativo (15), marcador de peso molecular 1 Kb (M).

Los amplicones con aproximadamente 480 pb fueron secuenciados y analizados obteniéndose una cobertura e identidad del 100% con cepas pertenecientes a las especies de *F. oxysporum* (Tabla 1). Estos presentaron similitud de cobertura e identidad con más de una cepa de *F. oxysporum* reportada en la base de datos del NCBI, cuyos aislamientos u orígenes son distintos entre sí. Por ello, es importante mencionar la posibilidad de que las especies identificadas presenten variabilidad fenotípica entre ellas.

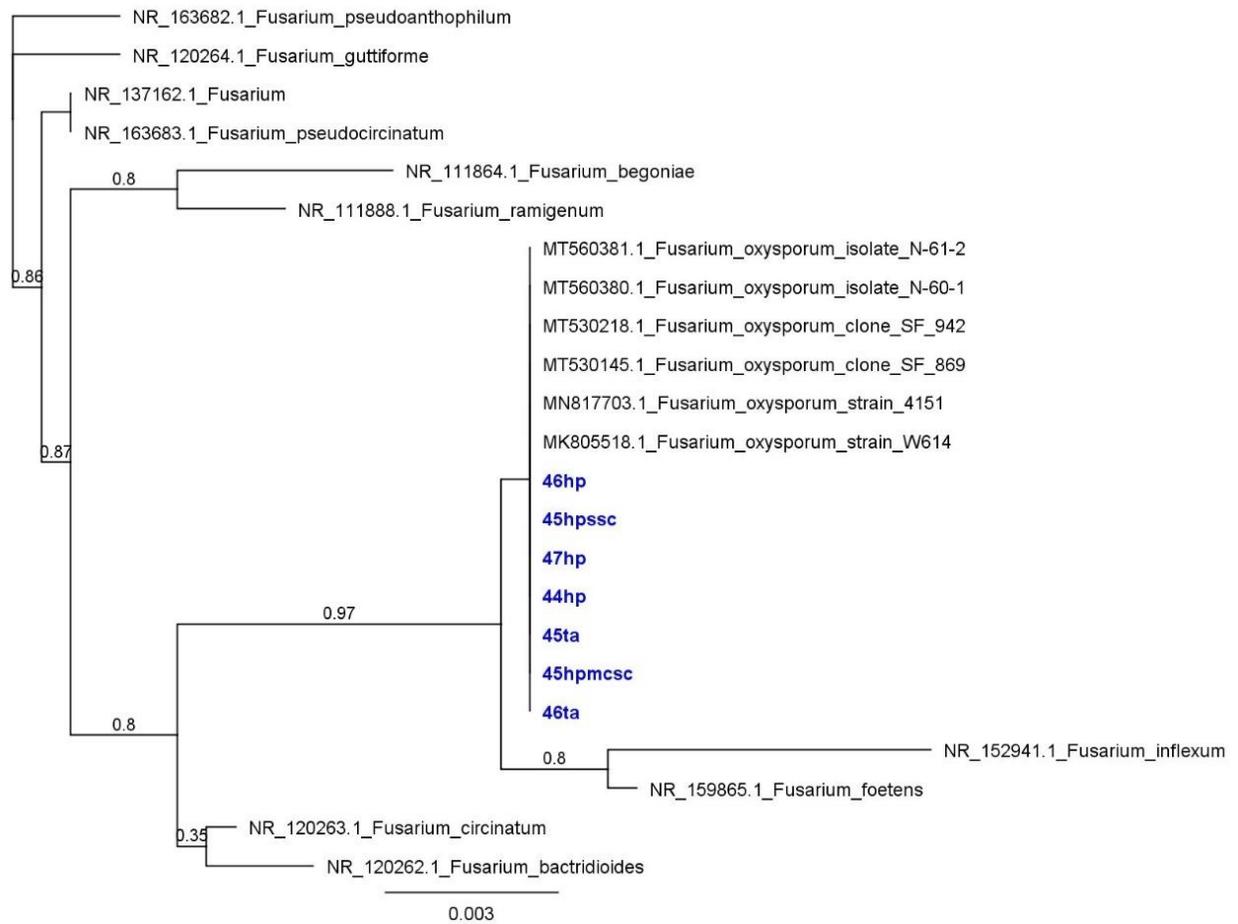
Las relaciones filogenéticas se muestran en la Figura 2. Los aislados fueron agrupados en el mismo clado que *F. oxysporum*. En los nodos se muestran los valores estimados de bootstrap y la escala representa el número de sustituciones por nucleótido. Existen reportes sobre la complejidad en la identificación de especies fúngicas como *Fusarium* debido a la variación intraespecífica que poseen (Hilário *et al.*, 2022). La nula variabilidad mostrada en la identificación (Figura 2) puede deberse a que los aislados fueron tomados del mismo sitio de cultivo y del mismo órgano de la planta infectada. Si bien, el uso de ITS es de lo más reportado para identificar especies fúngicas, realizar pruebas amplificando regiones alternas a la utilizada, ayudaría en gran medida a identificar subespecies entre los aislados.

### Prueba de patogenicidad

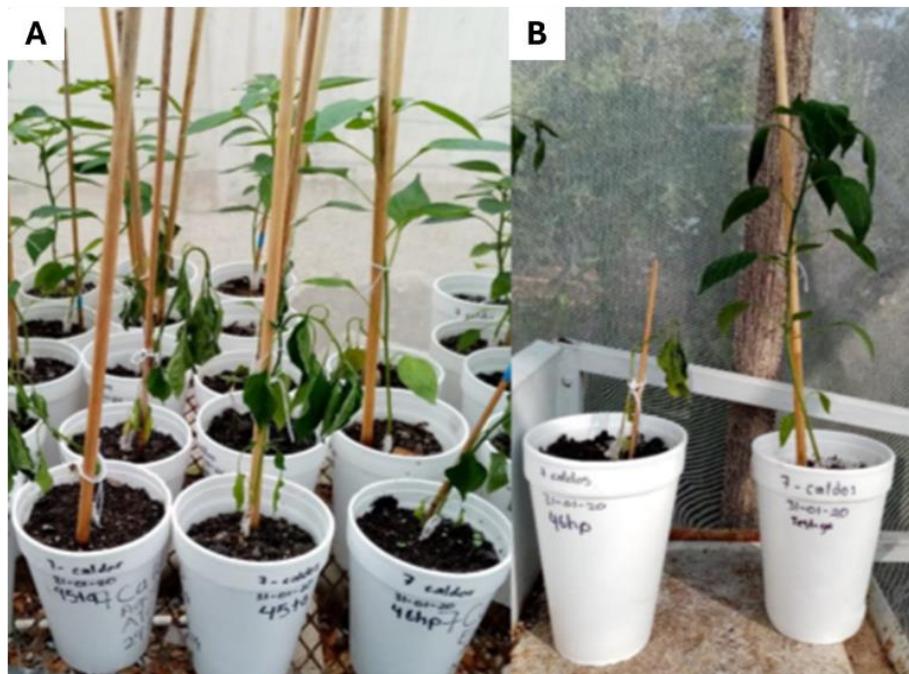
En *C. frutescens* (chile Siete Caldos) fueron observados síntomas relacionados con la marchitez fúngica como el amarillamiento de hojas, principalmente en plantas inoculadas con la cepa *45ta*. Asimismo, cada una de las cepas tuvo diferente efecto en las plantas (Tabla 2). Las plantas inoculadas con la cepa *45ta* mostraron síntomas severos, es decir, presentaron el mayor índice de gravedad de la enfermedad y 80% de incidencia de esta, en consecuencia, fueron “altamente susceptibles” (Figura 1). Por otra parte, las plantas inoculadas con las cepas *46ta* y *47hp* presentaron 20% de incidencia y 3.2 y 2.9 de IGE, respectivamente. Sin embargo, las plantas inoculadas con las cepas *44hp*, *45hpmcsc*, *45hpssc* y *47hp* no presentaron síntomas de la enfermedad bajo las condiciones estudiadas. Previamente, se ha reportado que *Fusarium* invade el sistema vascular provocando clorosis, marchitez y necrosis de las hojas. Los primeros síntomas se observan en las hojas basales como un amarillamiento unilateral, posteriormente las hojas se marchitan, se secan, pero en muchos casos permanecen adheridas a la planta (López-Benítez *et al.*, 2022).

**Tabla 1. Comparación de secuencias de las cepas aisladas con la base de datos de NCBI.**

Aislado	Nombre	Cobertura (%)	E (Valor)	Identidad (%)	No. de accesión
46hp	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	100	MT560381.1
45hpssc	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	100	MT560380.1
47hp	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	100	MT530218.1
45ta	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	100	MT530145.1
45hpmcsc	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	100	MN817703.1
46ta	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	100	MK805518.1
44hp	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	0	100	



**Figura 2.** Árbol filogenético. Construido empleando secuencias del sitio ITS. Se presentan las relaciones filogenéticas entre las siete cepas aisladas y las 16 secuencias guía recopiladas de la base de datos RefSeq de la región espaciadora transcrita interna (ITS) de hongos tipo.



**Figura 1.** A) Plantas de *Capsicum frutescens* inoculadas e infectadas con *Fusarium* spp. (cepas 45ta y 46hp). B) Planta de *C. frutescens* inoculada con la cepa 46hp y sin inocular (control).

**Tabla 2. Índice de gravedad de la enfermedad (IGE) y porcentaje de incidencia de la enfermedad en plantas de Chile Siete Caldos (*C. frutescens*) inoculadas con las cepas de *Fusarium* aisladas.**

Cepas de <i>Fusarium</i>	IGE	Respuesta	Plantas muertas	Incidencia (%)
44hp	1.2 <sup>ab</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
45ta	7.8 <sup>d</sup>	AS	8 <sup>c</sup>	80 <sup>c</sup>
45hpmcsc	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
45hpssc	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
46ta	3.2 <sup>c</sup>	R	2 <sup>b</sup>	20 <sup>b</sup>
46hp	2.9 <sup>bc</sup>	R	2 <sup>b</sup>	20 <sup>b</sup>
47hp	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>
Control	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
DMS	1.6602	-	-	-

\*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de LSD ( $p \leq 0.05$ ),  $n=10$ . Índice de gravedad de la enfermedad (IGE): (1) plantas sin síntomas visibles, (9) plantas con marchitez, clorosis, defoliación. Respuesta: resistente (R): 1-3; susceptible (S): 4-6; altamente susceptible (AS): 7-9 (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987).

Las plantas de *C. chinense* no mostraron síntomas visibles en las hojas (Tabla 3), por tanto, el IGE no superó el valor de 2 y no se registraron decesos, lo que implica una incidencia de la enfermedad nula, indicando con ello que *C. chinense* presentó cierta resistencia a las cepas de *Fusarium* bajo las condiciones evaluadas o las cepas podría ser avirulentas para este hospedero. Además, la especie *C. frutescens* mostró mayor susceptibilidad comparada con *C. chinense*. Particularmente, la cepa 45ta fue la que tuvo mayor incidencia infectiva, con un 20% de sobrevivencia, indicando que las plantas de Chile Siete Caldos son más susceptibles a la cepa *F. oxysporum* 45ta, lo que demuestra la afinidad por su hospedero.

Las diferencias entre la susceptibilidad dependerán del genotipo. En el trabajo de López-Benítez *et al.* (2022) inocularon *F. oxysporum* en cinco líneas de Chile Habanero (*C. chinense*) para identificar genotipos con posible resistencia a este patógeno. Observaron diferencias significativas en el índice de enfermedad y

en los genotipos evaluados, evidenciando la diferencia en la base genética de los genotipos y la resistencia y/o susceptibilidad a *F. oxysporum*. El deceso en las plantas de Chile Siete Caldos (*C. frutescens*) pone en evidencia la afinidad de las cepas sobre sus hospederos, mostrando baja o nula patogenicidad en plantas diferentes a las que fueron aisladas. Esta especificidad patogénica puede estar condicionada por distintos factores, entre los que se encuentran genes codificantes de factores de virulencia determinantes del huésped como proteínas secretadas (efectores) y algunas enzimas involucradas en la síntesis de toxinas específicas del huésped (Van der Does y Rep, 2007). Por ende, la infección y por consecuencia la sintomatología de las plantas se ve influenciada por la parte de la planta infectada, las condiciones ambientales o el tiempo de exposición a éstas (Guigón-López, 2019). De igual manera, la diversidad genética dentro de la misma especie permite que la respuesta pueda ser diferente.

**Tabla 3. Índice de gravedad y porcentaje de incidencia de la enfermedad en plantas de Chile Habanero Criollo (*C. chinense*) inoculadas con las cepas de *Fusarium* aisladas.**

Aislado	IGE	Respuesta	Plantas muertas	Incidencia (%)
44hp	1.5 <sup>bc</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
45ta	1.8 <sup>c</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
45hpmcsc	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
45hpssc	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
46ta	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
46hp	1.3 <sup>abc</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
47hp	1.2 <sup>ab</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Control	1 <sup>a</sup>	R	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
DMS	0.470381	-	-	-

\*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de LSD ( $p \leq 0.05$ ),  $n=6$ . Índice de gravedad de la enfermedad (IGE): (1) plantas sin síntomas visibles, (9) plantas con marchitez, clorosis, defoliación. Respuesta: resistente (R): 1-3 (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987).

Las moléculas de señalización en la planta le permiten transmitir y amplificar la señal de riesgo mediante especies reactivas de oxígeno, proteínas, reguladores de crecimiento e incluso factores de transcripción (Chávez y Zavaleta, 2019). Sin embargo, algunos patógenos han adquirido la habilidad de interrumpir o evadir las respuestas de defensa de la planta mientras que la resistencia de *Capsicum* puede asociarse a su naturaleza multigénica. Por otro lado, la intensidad y la velocidad de la respuesta defensiva varía entre las diferentes especies y variedades (Barchenger *et al.*, 2018). La prueba de patogenicidad demostró que no todas las cepas identificadas poseen la misma capacidad infectiva y que ésta puede variar dentro del mismo género dependiendo de la especie. Se han identificado hasta 25 formas especiales para *F. oxysporum* (incluso algunas se subdividen en razas), las cuales son definidas por la especialización a nivel de cultivar y en algunos casos por genes de resistencia (Edel-Hermann y Lecomte, 2019), por lo que las cepas de *Fusarium* aisladas podrían presentar diferentes grados de virulencia en el mismo y en diferentes hospederos.

### CONCLUSIONES

De acuerdo con la identificación molecular se corroboró la identidad de los aislados fúngicos (44hp, 45ta, 46ta, 46hp, 47hp, 45hpssc y 45hpmcsc) a nivel especie como *F. oxysporum*, agente causal de la marchitez. La prueba de patogenicidad evidenció la afinidad de *F. oxysporum* sobre su hospedero el chile Siete Caldos (*C. frutescens*). Por el contrario, en Chile Habanero Criollo (*C. chinense*) no se observaron hallazgos de sintomatología por *Fusarium*. Además, la capacidad infectiva fue diferente entre los aislados, siendo la cepa 45ta la más patógena bajo las condiciones evaluadas. A pesar de que las cepas aisladas mostraron una nula variabilidad en su identificación, no todas las cepas mostraron la misma capacidad infectiva en la prueba de patogenicidad. Teniendo en cuenta que las variedades nativas o criollas pueden ser más resistentes o susceptibles a ciertos hongos fitopatógenos, su identificación en este tipo de cultivos es importante para conocer la respuesta de las plantas a la infección y así desarrollar estrategias de control que sean más efectivas contribuyendo a la protección de la diversidad agrícola. Por ello, es necesario realizar técnicas de identificación con mayor especificidad molecular para determinar si existen subespecies de los aislados.

### Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (Secihti) por la beca otorgada para los estudios de posgrado de los autores A.G. Morales-Mendoza (998228) y C. Chacón (715167).

**Funding.** Does not apply

**Conflict of interest.** The authors declare there are no competing interests.

**Compliance with ethical standards.** This work does not require approval by a bioethical committee.

**Data availability.** The data are available from Nancy Ruiz-Lau, ([nruizla@secihti.mx](mailto:nruizla@secihti.mx); [nancy.rl@tuxtla.tecnm.mx](mailto:nancy.rl@tuxtla.tecnm.mx)) upon reasonable request.

**Author contribution statement (CRediT).** **A.G. Morales-Mendoza** – Methodology, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing – original draft. **C. Chacón** – Methodology, Formal analysis, Data curation, Writing – original draft. **R.Z. Navarrete-Mapen** – Methodology, Investigation, Writing – original draft, Writing – review and editing. **N. Ruiz-Lau** – Conceptualization, Methodology, Investigation, Resources, Data curation, Writing – original draft, Writing – review and editing, Supervision. **J.R. Pacheco-Arjona** – Writing – review and editing, Data curation. **R.I. Cruz-Rodríguez** – Data curation, Writing – review and editing, Supervision. **E.R. Garrido-Ramírez** – Resources, Writing – review, Supervision. **V.M. Ruiz-Valdiviezo** – Writing – review, Supervision.

### REFERENCES

- Altinok, H. and Erdogan, O., 2015. Determination of the *in vitro* effect of *Trichoderma harzianum* on phytopathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 43, pp. 494-500. <https://doi.org/10.15835/nbha4329788>
- Barchenger, D.W., Lamour, K.H. and Bosland, P.W., 2018. Challenges and strategies for breeding resistance in *Capsicum annuum* to the multifarious pathogen, *Phytophthora capsici*. *Frontiers in Plant Science*, 9, pp. 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00628>
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B., 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th Edition. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Bertoldo, C., Gilardi, G., Spadaro, D., Gullino, M.L. and Garibaldi, A., 2014. Genetic diversity and virulence of Italian strains of *Fusarium oxysporum* isolated from *Eustoma grandiflorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 141, pp. 83-97. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0526-2>
- Chávez-Díaz, I.F. and Zavaleta-Mejía, E., 2019. Molecular communication in the pathosystem *Capsicum* species *Phytophthora capsici*.

- Mexican Journal of Phytopathology*, 37, pp. 251-278.  
<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1901-3>
- Chowdhury, S.K., Majumdar, S. and Mandal, V., 2020. Application of *Bacillus* sp. LBF-01 in *Capsicum annuum* plant reduces the fungicide use against *Fusarium oxysporum*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, pp. 101714.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101714>
- Cruz-Cerino, P., Cristóbal-Alejo, J., Ruiz-Carrera, V., Carnevali, G., Vera-Ku, M., Martín, J., Reyes, F. and Gamboa-Angulo, M., 2020. Extracts from six native plants of the Yucatán peninsula hinder mycelial growth of *Fusarium equiseti* and *F. oxysporum*, Pathogens of *Capsicum chinense*. *Pathogens*, 9, pp. 827.  
<https://doi.org/10.3390/pathogens9100827>
- Dellaporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B., 1983. A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1, pp. 19-21.  
<https://doi.org/10.1007/BF02712670>
- Edel-Hermann, V. and Lecomte, C., 2019. Current Status of *Fusarium oxysporum* Formae Speciales and Races. *Phytopathology*, 109, pp. 512-530. <https://doi.org/10.1094/phyto-08-18-0320-rvw>
- FAOSTAT, n.d.-a. Retrieved April 20, 2023, from [https://www.fao.org/faostat/en/#data/OCLF\\_AOSTAT](https://www.fao.org/faostat/en/#data/OCLF_AOSTAT) (n.d.-b). Retrieved January 31, 2024, from [https://www.fao.org/faostat/es/#data/OCL/vi\\_sualize](https://www.fao.org/faostat/es/#data/OCL/vi_sualize)
- Girma, A., 2022. *In vitro* biocontrol evaluation of some selected *Trichoderma* strains against the root pathogen *Fusarium oxysporum* of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) in Bure Woreda, Ethiopia. *International Journal of Microbiology*, 16, pp. 1664-116.  
<https://doi.org/10.1155/2022/1664116>
- Guigón-López, C., 2019. Differential development of wilt and stem rot diseases in grafted bell pepper (*Capsicum annuum*, L.). *European Journal of Plant Pathology*, 154, pp. 347-357.  
<https://doi.org/10.1007/s10658-018-01660-4>
- Hilário, S., Santos, L., Phillips, A.J.L. and Alves, A., 2022. Caveats of the internal transcribed spacer region as a barcode to resolve species boundaries in *Diaporthe*. *Fungal Biology*, 126, pp. 54-74.  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.10.005>
- Jamiolkowska, A. and Kowalski, R., 2012. *In vitro* estimate of influence of *Silphium perfoliatum* L. leaves extract on some fungi colonizing the pepper plants. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 11, pp. 43-55.  
<https://czasopisma.up.lublin.pl/asphc/article/view/3079/2127>
- López-Benítez, A., Gayosso-Barragán, O., Ramírez-Meraz, M., Marroquín-Morales, J.A. and Vizcarra-López, M., 2022. Reaction of inbred lines of habanero hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) to inoculation of *Fusarium oxysporum*. *Agro Productividad*, 15, pp. 43-49.  
<https://doi.org/10.32854/agrop.v15i9.2081>
- Olszewska, D., Tomaszewska-Sowa, M., Witkowska, E. and Litewka, J., 2021. Functional characteristics and molecular identification of interspecific hybrids from genus *Capsicum*. *Agriculture*, 11, pp. 1198.  
<https://doi.org/10.3390/agriculture11121198>
- Pinar, H., Kaplan, M., Karaman, K. and Ciftci, B., 2023. Assessment of interspecies (*Capsicum annuum* X *Capsicum frutescens*) recombinant inbred lines (RIL) for fruit nutritional traits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, pp. 104848.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104848>
- Rahman, M.Z., Ahmad, K., Kutawa, A.B., Siddiqui, Y., Saad, N., Hun, T.G., Hata, E.M. and Hossain, I., 2021. Biology, Diversity, Detection and Management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing vascular wilt disease of watermelon (*Citrullus lanatus*): A Review. *Agronomy*, 11, pp. 1310.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy11071310>
- Schoonhoven, A.V. y Pastor-Corrales, M.A. 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). CO, Cali.
- Soylu, S., Atay, M., Kara, M., Uysal, A., Soylu, E.M. and Kurt, Ş., 2023. Morphological and molecular characterization of pepper fruit rot disease agent *Fusarium incarnatum*. *Journal of Phytopathology*, 171, pp. 688-699.  
<https://doi.org/10.1111/jph.13228>
- Tembhurne, B.V., Belabadevi, B., Kisan, B., Tilak, I., Ashwathanarayana, D., Varna, S., Gundi, N. and Naik, M.K., 2017. Molecular

- characterization and screening for *Fusarium* (*Fusarium solani*) resistance in chilli (*Capsicum annuum* L.) Genotypes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, pp. 1585-1597.  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.195>
- Toppino, L., Prohens, J., Rotino, G.L., Plazas, M., Parisi, M., Carizo García, C. and Tripodi, P., 2021. Pepper and Eggplant Genetic Resources. In: D. Carputo, R. Aversano and M.R. Ercolano, eds. *The Wild Solanums Genomes. Compendium of Plant Genomes*. Springer Cham, Switzerland. pp. 119-154.
- Van der Does, H.C. and Rep, M., 2007. Virulence genes and the evolution of host specificity in plant-pathogenic fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20, pp. 1175-1182.  
<https://doi.org/10.1094/MPMI-20-10-1175>
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White, eds. *PCR protocols: A guide to methods and applications (Vol. 2)*. Academic Press, Emeryville, California. pp. 315-322.