



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**Influencia del pH y calcio, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., aislados en cultivos agrícolas de importancia en la región San Martín.**

**Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo**

**AUTOR:**

**Gilberth Hugo Coz Torres**

**ASESOR:**

**Ing. Agr. Eybis José Flores García**

**CO-ASESOR:**

**Ing. Dr. Juan Carlos Guerrero Abad**

**Tarapoto – Perú**

**2019**

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

## FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

### ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**Influencia del pH y calcio, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., aislados en cultivos agrícolas de importancia en la región San Martín.**

**AUTOR:**

**Gilberth Hugo Coz Torres**

**Sustentada y aprobada el día 12 de junio del 2019, ante el honorable jurado:**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Winston Franz Ríos Ruíz

**Presidente**

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Yoni Meni Rodríguez Espejo

**Secretaria**

  
\_\_\_\_\_  
Blgo. M. Sc. César D. Quesquén López

**Miembro**

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Agr. Eybis José Flores García

**Asesor**

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Dr. Juan Carlos Guerrero Abad

**Co – Asesor**

## Declaratoria de Autenticidad

**Gilberth Hugo Coz Torres**, con DNI N° 45811732, egresado de la Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Agronomía de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto, con la tesis titulada: **Influencia del pH y calcio, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium spp.*, aislados en cultivos agrícolas de importancia en la región San Martín.**

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiado, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se construirán en aportes a la realidad investigativa.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio, (al presentar otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto.

Tarapoto, 12 de junio del 2019



.....  
**Gilberth Hugo Coz Torres**  
DNI N° 45811732



**Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis**

**1. Datos del autor:**

Apellidos y nombres:	COZ TORRES GILBERTH HUGO
Código de alumno :	101109
Correo electrónico :	ghct29@gmail.com
Teléfono:	975 280 173
DNI:	45811732

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

**2. Datos Académicos**

Facultad de:	Ciencias Agrarias
Escuela Profesional de:	AGRONOMIA

**3. Tipo de trabajo de investigación**

Tesis	( x )	Trabajo de investigación	( )
Trabajo de suficiencia profesional	( )		

**4. Datos de trabajo de investigación**

Título:	« INFLUENCIA DEL pH y Calcio, sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium spp.</i> , aislados en cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín »
Año de publicación:	

**5. Tipo de Acceso al documento**

Acceso público *	( x )	Embargo	( )
Acceso restringido **	( )		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indiquen el sustento correspondiente:


**6. Originalidad del archivo digital**

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el Título Profesional o Grado Académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el jurado.

## 7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el Inciso 12.2, del Artículo 12° del Reglamento Nacional de Trabajos de Investigaciones para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales –RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.



.....  
Firma del Autor

## 8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM-T.

Fecha de recepción del documento:

19 / 08 / 2019



.....  
Firma del Responsable de Repositorio  
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso  
Abierto de la UNSM-T.

\***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

\*\***Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## **Dedicatoria**

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño a mi querida madrecita, “*Ludith Torres Vela*”, por el apoyo incondicional y la confianza que siempre me ha brindado en todo este tiempo, a pesar de las circunstancias, siempre estuvo ahí para sacarme adelante como hijo y amiga; así mismo a mis hermanos: “*Isabel Cristina, Diego Enrique y Juan Arturo*”; a mis adorados abuelitos “*Miguel y Isabel*”; tíos (as): *Ángel, Miguel, Tito y Milagritos*; primos (as), que siempre han estado a mi lado en las buenas y en las malas; me inspiraron a cumplir mis metas del cual me siento muy orgulloso. Muchas gracias familia querida.

***Gilberth Hugo Coz Torres.***

## **Agradecimiento**

Agradezco infinitamente a mi Asesor de Tesis al Ing. *Eybis José Flores García* y Co-asesor al Ing. Dr. *Juan Carlos Guerrero Abad*; por brindarme la confianza, el apoyo ético y profesional, para poder lograr mis metas trazadas en este proyecto emprendido, gracias mil gracias a cada uno de Uds., como también agradezco a mis amigos y conocidos, para todos aquellos que formaron parte de mi formación, brindándome sus enseñanzas y su apoyo moral.

A todo el equipo Técnico que conforman el *Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la FCA - UNSM - T*; y al PNIA, quien facilitó el financiamiento de mi Tesis (con contrato N° 024 – 2016 – INIA-PNIA/UPSMI/IE); por la confianza que me brindaron, para poder llevar a cabo la ejecución del trabajo de Tesis de Pregrado; y al mismo tiempo, me dejaron ser parte de esta gran familia de investigadores, un gesto enorme del cual yo siempre les estaré agradecido, infinitamente por sus enseñanzas día a día; el cual me ayudara mucho como amigo del campo y de los agricultores, a encajar y ser de éxito, para la sociedad en su conjunto.

***Gilberth Hugo Coz Torres.***



## Índice general

	Página
<b>Dedicatoria .....</b>	<b>vi</b>
<b>Agradecimiento .....</b>	<b>vii</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>xix</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>xx</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Antecedentes de la investigación .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Principales problemas fitosanitarios reportados por ataque del género</b>	
<i>Fusarium sp.</i> , en los principales cultivos agrícolas. ....	4
1.2.1. Antecedentes de los cultivos. ....	4
<b>1.3. Hongos fitopatógenos.....</b>	<b>12</b>
1.3.1. Mecanismos de infección en los hongos fitopatógenos. ....	13
1.3.2. Ecología.....	13
1.3.3. Morfología.....	13
1.3.4. Clasificación taxonómica del género <i>Fusarium sp.</i> .....	14
<b>1.4. Generalidades del género <i>Fusarium</i>. ....</b>	<b>15</b>
1.4.1. Identificación morfológica .....	15
1.4.2. Interacción <i>Fusarium</i> -planta .....	16
<b>1.5. <i>Fusarium sp.</i>.....</b>	<b>17</b>
1.5.1. <i>Fusarium solani</i> .....	17
1.5.2. <i>Fusarium moniliforme</i> . ....	19
1.5.3. <i>Fusarium equiseti</i> . ....	20
1.5.4. <i>Fusarium tricinctum</i> . ....	22
1.5.5. <i>Fusarium lateritium</i> . ....	23
<b>1.6. Agentes tampones y quelantes.....</b>	<b>25</b>
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
<b>2.1. Tipo de investigación.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2. Nivel de investigación.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3. Diseño de investigación .....</b>	<b>27</b>
<b>2.4. Población y Muestra.....</b>	<b>27</b>
2.4.1. Población. ....	27
2.4.2. Muestra. ....	27
<b>2.5. Sistema de hipótesis .....</b>	<b>28</b>
2.5.1. Modulación de pH. ....	28

2.5.2. Secuestro de Ca <sup>++</sup> .....	28
<b>2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos</b> .....	<b>28</b>
2.6.1. Técnicas.....	28
2.1.1. Instrumentos.....	28
<b>2.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos</b> .....	<b>28</b>
<b>2.8. Descripción de los experimentos</b> .....	<b>29</b>
2.8.1. Evaluación del efecto del pH, sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium</i> sp. ....	29
2.8.2. Evaluación del efecto de calcio sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium</i> sp. ....	30
<b>2.9. Metodología</b> .....	<b>31</b>
2.9.1. Localización del experimento. ....	31
2.9.2. Ubicación Política. ....	32
2.9.3. Ubicación Geográfica.....	32
2.9.4. Zonas de colecta de muestras biológicas.....	32
2.9.5. Fases de ejecución del proyecto. ....	33
2.9.6. Sistema de Time lapse. ....	41
<b>2.10. Variables evaluadas</b> .....	<b>42</b>
2.10.1. Caracterización de cepas <i>Fusarium</i> .....	42
2.10.2. Efecto del pH, sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium</i> sp.....	43
2.10.3. Efecto de calcio sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium</i> sp.....	43
<b>CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>44</b>
<b>3.1. Proceso de caracterización morfológica de <i>Fusarium</i> spp.</b> .....	<b>45</b>
3.1.1. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Cacao ( <i>Theobroma</i> <i>cacao</i> L.).....	45
3.1.2. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Sacha inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.).....	47
3.1.3. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Ají dulce ( <i>Capsicum</i> spp.).....	49
3.1.4. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Arroz ( <i>Oryza sativa</i> ).....	51
3.1.5. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Café ( <i>Coffea arabica</i> L.).....	53
3.1.6. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Plátano ( <i>Musa</i> spp.).....	55
3.1.7. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Frijol Huasca Poroto ( <i>Phaseolus</i> sp.).....	57

3.1.8. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de cultivo de Maíz amarillo duro en grano ( <i>Zea mays</i> L.).....	59
3.1.9. Cepas <i>Fusarium</i> obtenidas de tejidos vegetativos de Culantro castilla ( <i>Coriandrum sativum</i> L.).....	61
3.1.10. Discusión:.....	63
Caracterización morfológica de <i>Fusarium</i> spp. ....	63
<b>3.2. Evaluación del crecimiento micelial de 18 especies de <i>Fusarium</i> sobre diferentes condiciones de pH. ....</b>	<b>65</b>
3.2.1. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	65
3.2.2. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Sacha inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.).....	67
3.2.3. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Ají dulce ( <i>Capsicum</i> spp.).....	69
3.2.4. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.).....	71
3.2.5. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Café ( <i>Coffea arabica</i> L.).....	73
3.2.6. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Plátano ( <i>Musa</i> spp.).....	75
3.2.7. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Frijol Huasca Poroto ( <i>Phaseolus</i> sp.).....	77
3.2.8. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Maíz amarillo duro en grano ( <i>Zea mays</i> L.).....	79
3.2.9. Prueba de pH con especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Culantro castilla ( <i>Coriandrum sativum</i> L.).....	81
3.2.10. Discusión:.....	83
<b>3.3. Pruebas de secuestro de calcio extracelular monitoreado en el crecimiento micelial de 7 especies <i>Fusarium</i> encontradas en 9 cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín. ....</b>	<b>86</b>
3.3.1. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	86
3.3.2. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Sacha inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.).....	88

3.3.3. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Ají dulce ( <i>Capsicum</i> spp.).....	90
3.3.4. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Arroz ( <i>Oryza sativa</i> ).....	92
3.3.5. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Café ( <i>Coffea arabica</i> L.).....	94
3.3.6. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Plátano ( <i>Musa</i> spp.).....	96
3.3.7. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Frijol Huasca Poroto ( <i>Phaseolus</i> sp.).....	98
3.3.8. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Maíz amarillo duro en grano ( <i>Zea mays</i> L.).....	100
3.3.9. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies <i>Fusarium</i> obtenidas del cultivo de Culantro castilla ( <i>Coriandrum sativum</i> L.).....	102
3.3.10. Discusión:.....	104
<b>Conclusiones.....</b>	<b>107</b>
<b>Recomendaciones.....</b>	<b>108</b>
<b>Referencias bibliográficas.....</b>	<b>109</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>116</b>

## Índice de tablas

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1:</b> Distribución de tratamientos para el estudio de modulación de pH en 18 aislamientos provenientes de nueve Cultivos Agrícolas. ....	30
<b>Tabla 2:</b> Distribución de tratamientos para estudio de secuestro de calcio en 18 aislamientos provenientes de nueve Cultivos Agrícolas. ....	31
<b>Tabla 3:</b> Identificación de especies <i>Fusarium</i> spp., obtenidos en nueve cultivos agrícolas recolectados en cinco provincias en la Región San Martín. ....	44

## Índice de figuras

	<b>Página</b>
<b>Figura 1:</b> <i>Fusarium solani</i> .....	18
<b>Figura 2:</b> <i>Fusarium equiseti</i> .....	20
<b>Figura 3:</b> <i>Fusarium tricinctum</i> .....	22
<b>Figura 4:</b> <i>Fusarium lateritium</i> .....	23
<b>Figura 5:</b> Ambientes del trabajo de investigación .....	32
<b>Figura 6:</b> Mapa de Región San Martín, indicando las zonas en donde se muestrearon los nueve sistemas agrícolas para identificar especies del género <i>Fusarium</i> spp. ....	33
<b>Figura 7:</b> Colecta, de material vegetativo con sintomatología de <i>Fusarium</i> sp. ....	34
<b>Figura 8:</b> Proceso de Esterilización de materiales y equipos de laboratorio .....	35
<b>Figura 9:</b> Desinfección de material vegetativo recolectado en sistemas agrícolas .....	36
<b>Figura 10:</b> Proceso de Aislamiento y obtención de cultivos puros .....	37
<b>Figura 11:</b> Proceso de Identificación del género <i>Fusarium</i> sp .....	38
<b>Figura 12:</b> Proceso de conservación de cepas de <i>Fusarium</i> sp .....	39
<b>Figura 13:</b> Materiales y equipos para la prueba de pH.....	40
<b>Figura 14:</b> Proceso de preparación de medio de cultivo, para la prueba de calcio .....	41
<b>Figura 15:</b> <i>Fusarium equiseti</i> , obtenidas en el cultivo de cacao .....	45
<b>Figura 16:</b> <i>Fusarium solani</i> , obtenida en el cultivo cacao .....	46
<b>Figura 17:</b> <i>Fusarium solani</i> obtenida en el cultivo de sacha inchi.....	47
<b>Figura 18:</b> <i>Fusarium moniliforme</i> , obtenida en cultivo de Sacha inchi .....	48
<b>Figura 19:</b> <i>Fusarium solani</i> , obtenida en cultivo de Ají dulce.....	49
<b>Figura 20:</b> <i>Fusarium moniliforme</i> , obtenida en cultivo de Ají dulce .....	50
<b>Figura 21:</b> <i>Fusarium lateritium</i> , obtenida en cultivo de Arroz - var. Esperanza .....	51
<b>Figura 22:</b> <i>Fusarium lateritium</i> , obtenida en cultivo de arroz var. Feron .....	52
<b>Figura 23:</b> <i>Fusarium solani</i> , obtenida en cultivo de café.....	53
<b>Figura 24:</b> <i>Fusarium solani</i> , obtenida en cultivo de café.....	54
<b>Figura 25:</b> <i>Fusarium moniliforme</i> , obtenida en cultivo de Plátano.....	55
<b>Figura 26:</b> <i>Fusarium solani</i> , obtenida en cultivo de Plátano.....	56
<b>Figura 27:</b> <i>Fusarium moniliforme</i> , obtenida en cultivo de Frijol huasca poroto.....	57
<b>Figura 28:</b> <i>Fusarium moniliforme</i> , obtenida en cultivo de Frijol Huasca poroto.....	58
<b>Figura 29:</b> <i>Fusarium solani</i> , obtenida en cultivo de Maíz amarillo duro en grano.....	59

<b>Figura 30:</b> <i>Fusarium rigidiuscula</i> , obtenida en cultivo de Maíz amarillo duro en grano ..	60
<b>Figura 31:</b> <i>Fusarium tricinctum</i> , obtenida en cultivo de Culantro castilla.....	61
<b>Figura 32:</b> <i>Fusarium episphaeria.</i> , obtenida en cultivo de Culantro castilla.....	62
<b>Figura 33:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado.....	65
<b>Figura 34:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	65
<b>Figura 35:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	66
<b>Figura 36:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	66
<b>Figura 37:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	67
<b>Figura 38:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	67
<b>Figura 39:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	68
<b>Figura 40:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	68
<b>Figura 41:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	69
<b>Figura 42:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	69
<b>Figura 43:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	70
<b>Figura 44:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	70
<b>Figura 45:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	71
<b>Figura 46:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	71
<b>Figura 47:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	72

<b>Figura 48:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	72
<b>Figura 49:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	73
<b>Figura 50:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	73
<b>Figura 51:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	74
<b>Figura 52:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	74
<b>Figura 53:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	75
<b>Figura 54:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	75
<b>Figura 55:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	76
<b>Figura 56:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	76
<b>Figura 57:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	77
<b>Figura 58:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	77
<b>Figura 59:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	78
<b>Figura 60:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	78
<b>Figura 61:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	79
<b>Figura 62:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	79
<b>Figura 63:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 ho ras antes de ser monitoreado .....	80
<b>Figura 64:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	80



<b>Figura 65:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	81
<b>Figura 66:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	81
<b>Figura 67:</b> Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado .....	82
<b>Figura 68:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH .....	82
<b>Figura 69:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	86
<b>Figura 70:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	86
<b>Figura 71:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	87
<b>Figura 72:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	87
<b>Figura 73:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	88
<b>Figura 74:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	88
<b>Figura 75:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	89
<b>Figura 76:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	89
<b>Figura 77:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	90
<b>Figura 78:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	90
<b>Figura 79:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	91
<b>Figura 80:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	91
<b>Figura 81:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	92
<b>Figura 82:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	92
<b>Figura 83:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	93
<b>Figura 84:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	93
<b>Figura 85:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	94

<b>Figura 86:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	94
<b>Figura 87:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	95
<b>Figura 88:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	95
<b>Figura 89:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	96
<b>Figura 90:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	96
<b>Figura 91:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	97
<b>Figura 92:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	97
<b>Figura 93:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	98
<b>Figura 94:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	98
<b>Figura 95:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	99
<b>Figura 96:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	99
<b>Figura 97:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	100
<b>Figura 98:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	100
<b>Figura 99:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	101
<b>Figura 100:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	101
<b>Figura 101:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	102
<b>Figura 102:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	102
<b>Figura 103:</b> Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA.....	103
<b>Figura 104:</b> Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA .....	103

## Lista de siglas y abreviaturas

APG	: Agar papa glucosado.
Aprox.	: Aproximado
CIAT	: Centro Internacional de Agricultura Tropical
cm <sup>3</sup>	: Centímetro cúbico
EDTA	: Ácido etilendiaminotetraacético.
FCA	: Facultad de Ciencias Agrarias
g	: gramo
Has	: Hectáreas
INIA	: Instituto Nacional de Investigación Agraria
KOH	: Hidróxido de Potasio
LBGM	: Laboratorio de Biología y Genética Molecular
MES	: Acido 2-etanosulfónico
MINAGRI	: Ministerio de Agricultura y Riego
PDA	: Papa dextrosa agar
pH	: Potencial de Hidrógeno
mM	: Milimolar.
Saprófito	: Microorganismo dependiente de materia orgánica muerta o en descomposición
sp.	: Abreviación utilizada para una especie no identificada.
spp.	: Abreviación utilizada para varias especies no identificadas.
UNSM-T	: Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto

## Resumen

El trabajo de investigación buscó determinar la influencia de tres condiciones de pH (5; 6 y 7) y la disponibilidad de calcio extracelular modulado por EDTA (1mM, 10mM, 20mM y 100mM) sobre el crecimiento micelial por intervalos de 5 hasta 30 minutos de evaluación (utilizando un sistema “*time-lapse*”) en dieciocho cepas *Fusarium*, aislados de tejidos vasculares de nueve cultivos de la región San Martín, como: Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), Cacao (*Theobroma cacao* L.), Arroz (*Oryza sativa*), Frijol Huasca poroto (*Phaseolus* sp.), Ají dulce (*Capsicum* sp.), Café (*Coffea arabica*), Maíz amarillo duro (*Zea mays*), Plátano (*Mussa* sp.) y Culantro castilla (*Coriandrum sativum* L). Primeramente, se caracterizó e identificó morfológicamente cada aislamiento, obteniendo dos cepas por cultivo, como son: *Fusarium equiseti* y *F. solani* (cacao), *F. moniliforme* y *F. solani* (ají dulce), dos cepa *F. solani* (café), *F. solani* y *F. moniliforme* (plátano), dos cepa *F. moniliforme* (Frijol huasca poroto), *F. rigidiuscula* y *F. solani* (maíz), *F. tricinctum* y *F. episphaeria* (culantro castilla), *F. solani* y *F. moniliforme* (sacha inchi) y dos cepa *F. lateritium* (arroz). Todas estas especies fueron sometidos a un ensayo de sensibilidad de pH y disponibilidad de calcio extracelular, los resultados en las pruebas de pH, demostraron que las dieciocho cepas tuvieron un crecimiento micelial dependiente a la alcalinización del medio (pH 7), en contraste a la disponibilidad de calcio extracelular que fue secuestrado por un agente químico quelante (EDTA), disminuyó drásticamente el crecimiento micelial, siendo más significativo para algunas especies y más resistente en otras.

**Palabras clave:** *Fusarium.*, hongo, pH, calcio, marchitez vascular, daño de raíz, Perú.

## Abstract

The purpose of this research was determine the influence of three conditions of pH (5; 6 and 7) and the availability of extracellular calcium regulated by EDTA (1 mM, 10 mM, 20 mM and 100 mM) on mycelial growth monitored between 5 and 30 minutes (using a time-lapse system) in 18 *Fusarium* strains, isolated of vascular tissues of nine crops of San Martín Region, such as: Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), Cacao (*Theobroma cacao* L.), Arroz (*Oryza sativa*), Frijol Huasca poroto (*Phaseolus* sp.), Ají dulce (*Capsicum* sp.), Café (*Coffea arabica*), Maíz amarillo duro (*Zea mays*), Plátano (*Mussa* sp.) y Culantro castilla (*Coriandrum sativum* L). Firstly, *Fusarium* strains were characterized and identified morphologically for each isolated strain, getting two strains by each crop, such as: *Fusarium equiseti* y *F. solani* (Cacao), *F. moniliforme* y *F. solani* (Sweet pepper), two strains of *F. solani* (Coffee), *F. solani* y *F. moniliforme* (Banana), two strains of *F. moniliforme* (Huasca poroto bean), *F. rigidiuscula* y *F. solani* (Maize), *F. tricinctum* y *F. episphaeria* (Castilla coriander), *F. solani* y *F. moniliforme* (Sacha inchi) y two strains of *F. lateritium* (Rice). All these *Fusarium* species were subjected to sensibility assay of pH and availability of extracellular calcium, the results of pH assay shown that all the 18 *Fusarium* species have mycelial growth dependent of the alkalization (pH 7) in the medium, on the other hand, the availability of extracellular calcium sequestered by a chelating agent (EDTA), decrease the mycelial growth in all the *Fusarium* species, some species are more drastically affected tan.

**Key words:** *Fusarium*, fungus, pH, calcium, vascular wilt, root damage, Peru.



## Introducción

El género *Fusarium* posee un número extenso de hongos del suelo, que pueden ser encontrados en cualquier lugar del mundo. La mayoría de las especies son consideradas como saprófitos (Asociado con materia orgánica muerta o en descomposición), con miembros relativamente abundantes de la comunidad microbiana del suelo. Las esporas de estos hongos son fácilmente reconocibles al microscopio, por su forma de media luna o de canoa. Son llamados hongos de campo (Sumalan et al., 2013), por causar múltiples enfermedades en cada uno de los sistemas agrícolas. Los daños que desencadenan en el hospedante son de carácter irreversible, originando cuantiosas pérdidas económicas. Enfatizar que algunas especies de *Fusarium* son comunes en el suelo y es raro encontrar una raíz necrótica de una planta en la mayoría de los suelos agrícolas que no esté colonizada por al menos una especie *Fusarium*, en algunos casos los aislamientos no están directamente relacionados a la enfermedad, más si pueden ser considerados como saprófitos oportunistas (Nelson, 1983).

Los hongos fitopatógenos causan pérdidas devastadoras de rendimiento en todo el mundo y contaminan los alimentos con micotoxinas dañinas. Muchos patógenos fúngicos inducen un cambio ascendente o descendente en el pH extracelular de las células del tejido huésped. Esta característica fisiológica hace posible que existan patógenos alcalinizantes y/o acidificantes. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, es un hongo hemibiotrófico alcalinizante asociado a la producción, secreción y reconocimiento de su péptido homólogo F-RALF sobre la maquinaria celular de plantas. La alcalinización extracelular promovida por este patógeno beneficia su crecimiento sobre la superficie celular del tejido huésped. Al igual que pH, calcio también podría estar asociado al crecimiento de este patógeno, debido a que estas proteínas RALF facilitan el movimiento de calcio extracelular (pared celular) en plantas, aún no descifrado en especies *Fusarium*.

Basada en las premisas mencionadas anteriormente, y considerando que es necesario explorar mecanismos que regulan el crecimiento de especies diferentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, fue desarrollado el proyecto de investigación “influencia del pH y calcio, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., aislados en cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín”. Nuestras preguntas de investigación antes de

iniciar el proyecto fueron; ¿i) Será que existe la presencia de especies *Fusarium* en cultivos agrícolas importantes en la región San Martín? ¿Y cuáles serían estas especies?, de la misma manera las siguientes preguntas fueron ii) Será que las especies *Fusarium* identificadas en los cultivos agrícolas poseen dependencia de pH para su crecimiento? y el calcio como estaría involucrado en su crecimiento? Los resultados del trabajo de investigación posibilitaron confirmar que en nueve cultivos agrícolas importantes en la región San Martín, existe la presencia de al menos una especie *Fusarium* que podría estar ocasionando daño a la planta, asimismo, su crecimiento sería dependiente de la condición de pH y disponibilidad de calcio extracelular.

El trabajo de investigación fue Financiado por el Programa de Innovación Agraria (PNIA), dentro del marco del proyecto “Caracterización biológica de péptidos producidos y secretados por especies patógenas del género *Fusarium*, sobre diferentes órganos en plantas” convenio: N° 024 – 2016.

# CAPÍTULO I

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Antecedentes de la investigación

Existe poca información sobre el trabajo de fisiología sobre el parasitismo y bioquímica del parasitismo.

La infección micótica de las plantas se asocia a menudo con cambios en el pH extracelular del tejido huésped (Prusky et al., 2001, Prusky; Yakoby, 2003). Masachis et al., determinaron que la alcalinización extracelular aumenta la virulencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* hacia las plantas de tomate. Este aumento del pH conduce a la activación de una proteína quinasa (MAPK) activada por mitógenos fúngicos conservados, denominada Fmk1, que se requiere para patogenicidad fúngica. Esto los llevó a identificar el desencadenante de esta alcalinización impulsada por hongos. Inesperadamente, observaron que en el genoma de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue encontrado un péptido con similitud a la secuencia de la hormona peptídica vegetal RALF (del inglés *Rapid Alkalinization Factor*), el mismo que promueve una alcalinización extracelular (Pearce et al 2001). Los análisis genéticos indicaron que F-RALF es importante para la colonización de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de tomate, promoviendo alcalinización extracelular vía el receptor FERONIA (FER), encontrado únicamente en plantas.

López et al., (2004), investigaron la influencia del pH sobre el crecimiento micelial de las especies *F. solani*, *F. moniliforme* y *F. oxysporum*, obtuvieron como resultado que las tres especies probadas a pH 3 tuvieron un crecimiento micelial significativamente menor, además los valores óptimos de crecimiento oscilaron en un rango de pH desde 5 hasta 9 para la mayoría de las especies. Así mismo diversos estudios similares realizados por, Booth & Johnston, (1983) mencionan que, en pH ácido o muy básico, el crecimiento de la especie es significativamente menor. *Fusarium moniliforme* mantiene un crecimiento micelial óptimo entre 5-9 sin diferencias significativas a los 11 días de incubación, aun cuando entre los valores de pH 6 y 7 fue ligeramente mayor el crecimiento. En cambio, *Fusarium oxysporum*, a diferencia del resto de las especies probadas, mostró valores de crecimiento a un pH 5.



Calcio es un elemento esencial para todas las plantas, su permanencia intracelular en la célula vegetal está relacionada a mantener la integridad de membranas y pared celular, además de actuar como un segundo mensajero durante la señalización y comunicación inter e intracelularmente (Boumaaza et al., 2015). Poco se conoce sobre el papel fisiológico de calcio durante el crecimiento de especies *Fusarium*. Algunos trabajos sugieren que la baja disponibilidad de calcio provoca una mayor ramificación de los micelios, así como la presencia de deformaciones en su pared celular (Robson et al., 1991).

## **1.2. Principales problemas fitosanitarios reportados por ataque del género *Fusarium* sp., en los principales cultivos agrícolas.**

### **1.2.1. Antecedentes de los cultivos.**

#### **a) Cultivo de arroz (*Oryza sativa*).**

La producción nacional de arroz alcanzó en el año 2016, los 3'147,200.00 toneladas (TM), lo cual representó un incremento de aproximadamente 0,6%, respecto a lo registrado en el 2015, informó el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI, 2016). Este aumento se explicaría por un avance del 0,3% en la superficie sembrada y en el rendimiento promedio nacional las regiones que reportaron un mayor incremento de áreas sembradas entre agosto 2015 y junio 2016 fueron San Martín (13,6%) y Loreto (8,2%).

El arroz es uno de los principales cultivos alimenticios en el país, como la papa y el maíz y es también uno de los productos que más aporta al PBI agropecuario (9.5 %), el que más fuentes de trabajo genera (25 millones de jornales / año), el de más alto crecimiento en superficie agrícola (15,000 Has. / Año (DRASAM, 2016).

En San Martín, el arroz ha tenido una evolución desde su cultivo en forma tradicional bajo condiciones de secano, hasta la década del 70 donde se adopta el cultivo bajo riego. Ampliándose áreas de cultivos infraestructura de irrigación, desarrollo de la investigación hasta constituirse en una importante Región productora y con perspectivas a constituirse en la mayor del país. De igual manera para la región constituye el principal cultivo alimenticio, al que se dedican unos catorce mil quinientos productores, que cultivan entre 64,000 a 84,000 Has / año de arroz,

generando trabajo permanente para unos 5'796,000 jornales de los que dependen unas setecientas mil familias.

Se estima que la Región San Martín posee cuatro zonas altamente productoras de arroz, las cuales en orden de mayor a menor área sembrada las podemos ordenar de la siguiente manera: Alto Mayo, Huallaga Central, Bajo Mayo, y Alto Huallaga (Tocache), según la (DRASAM, 2016).

Las plantas de arroz pueden ser afectadas por enfermedades desde la germinación de las semillas. Un comportamiento que no es ajeno a otros países distintos al Perú. Poco se ha reportado enfermedades causadas por *Fusarium* a nivel radicular, sin embargo, existe la presencia de manchado de granos como una sintomatología asociada a *Fusarium fujikuroi*, es un hongo patógeno de plantas descubierto por Eishii Kurosawa en 1926. Este hongo causa la enfermedad bakanae en las plántulas de arroz, que consiste en la sobreproducción de la fitohormona giberelina, dando lugar a un fenotipo en la planta alto y delgado.

#### **b) Cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.)**

El cacao (*Theobroma cacao* L) es una planta que se encuentra de forma natural en los bosques de América del Sur, en las regiones del Amazonas y Orinoco. Según Linneo, (1735), la clasificó por primera vez con el nombre de *Theobroma cacao*, que significa fruto de los dioses, este nombre se conserva hasta nuestros días.

El cacao es un cultivo que se encuentra en la parte baja de la vertiente occidental de los andes, pero se ha desarrollado básicamente en la selva peruana entre los 300 y 900 m.s.n.m. La producción del cacao hace algunos años (1993 aprox.) presentó una etapa improductiva, era deficiente. Un estimado de la producción en la zona de Quillabamba arrojaba rendimientos de 500 Kg. /Ha. La producción promedio para Tingo María era de 300 Kg. /Ha. En la actualidad el promedio nacional de parcelas bien manejadas está superando los 800 Kg/Ha (DRASAM, 2016). Con 6 mil toneladas de cacao, San Martín es el segundo productor nacional después de Cusco que produce 7,8 mil toneladas. Hasta antes de 1998 en la región San Martín existían aproximadamente 600 hectáreas, la mayoría de ellas trabajadas con sistemas antiguos, sembradas con semilla de baja calidad genética y sin ningún tipo de aplicación de prácticas agronómicas eficientes. Hoy esa situación ha cambiado y se cosechan entre

12 y 17 mil hectáreas, principalmente en tres provincias, Tocache, Mariscal Cáceres y Huallaga, que concentran el 76 % de la producción en la Región San Martín.

La producción de cacao, posee varios factores limitantes en cuanto a la producción masiva como son: las condiciones climáticas, las plagas y enfermedades, entre otros (Batista, 2009). Se estima que, en el Perú, la enfermedad más importante es la Mazorca negra causada por *Phytophthora* spp.

González, (2011), menciona que las enfermedades fungosas que suelen atacar a las plantaciones cacaoteras son: Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), el Mal del machete (*Ceratocystis fimbriata*), el Mal de hilacha (*Pellicularia koleroga*), la Mancha parda del fruto (*Diplodia theobromae*), la Mancha foliar (*Alternaria* sp., *Cercospora* sp.), la pudrición radicular (*Fusarium* sp.), *Botryodiplodia theobromae*, *Roselinia* o Pudrición de la raíz (*Rosellinia* spp.), y la Buba o agalla (*Fusarium decemcellulare*). Según Galán, (2001), la Buba del cacao, es una enfermedad que se manifiesta en forma de tumoraciones en las plantas afectando los cojines florales. Puede presentarse como puntos verdes, floral, abanico, perilla, lobular y disco. Los árboles afectados pueden tornarse improductivos.

### c) Cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

El maíz es el cereal de mayor distribuido a nivel mundial, y es por eso que ocupa la tercera posición en producción, seguido por el trigo y el arroz. Según Saicon, (2007), los principales países productores de maíz en Europa son Rumania, con una producción de 8.9 millones de toneladas. Italia con 8.8 millones de toneladas y Hungría con 5.8 millones de toneladas de grano. Seguido de América Latina. Argentina es uno de los principales productores de maíz con el 8.7 % de la producción latinoamericana.

El maíz amarillo duro producido en San Martín, posee un alto valor proteico y buena concentración de caroteno a diferencia del maíz amarillo duro importado, por lo que es apreciado por las principales empresas dedicadas a la industria avícola, que minimizan el uso de harina de marigold en la alimentación de sus aves para la producción de carne y huevos. El maíz amarillo al igual que el cultivo de arroz es un cultivo promisorio que se siembra en la Región con grandes extensiones cultivadas y es de importancia económica porque tiene una relevancia fundamental debido a que

forma parte de la cadena de maíz amarillo duro, avicultura, porcicultura. En San Martín la producción de maíz en el año 2014 fue de 125,930 TM, la mayor producción lo obtuvo Picota con 46,633 TM seguida de Bellavista con 43,864 TM (DRASAM, 2016).

En el maíz *Fusarium* spp., ocasiona marchitez desde plántulas hasta planta adulta, causando generalmente pudriciones en los órganos vegetativos como hojas, tallo y raíz. Según Hernández et al., (2007). Las semillas de maíz son importantes fuentes de inóculo de innumerables patógenos, entre ellos de varias especies *Fusarium*. Para el cultivo de maíz, las especies de *Fusarium* más importantes en semilla son: *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans* (los 3 denominados previamente como *F. moniliforme*), y en cuanto a *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. equiseti.*, de todos ellos *F. verticillioides* y *F. graminearum* son los más frecuentes. La incidencia de *F. verticillioides*, es alta (mayor al 20% y hasta 100%), en cambio la incidencia de *F. graminearum* es baja. En general *F. graminearum* presente en un lote de semillas produce tizón de plántulas, las semillas infectadas son eliminadas durante la limpieza.

#### **d) Cultivo de café (*Coffea arabica* L.)**

En la región San Martín, el cultivo de café se desarrolla bajo sistemas agroforestales como una forma de agricultura sostenible, diversificada y en armonía con el medio ambiente.

Durante el año 2015 San Martín, fue primero en la producción de café a nivel nacional (24,6 %); la producción de café fue de 58,4 mil toneladas volumen mayor en 2,7 % con respecto al año anterior. Por su lado, las siembras de café en el periodo agosto-diciembre de la campaña 2015-2016 totalizaron 793 hectáreas inferior en 9,4 por ciento respecto al periodo de la campaña 2014-2015. La mayor producción se debe a la recuperación de los efectos de la plaga de la roya amarilla. Las zonas de producción son las provincias de Moyobamba, Rioja, Lamas, El Dorado, San Martín, Picota, Bellavista, Huallaga, Mariscal Cáceres y Tocache, donde se comercializa el grano del café pergamino en diferentes calidades, desde el tipo convencional hasta el de mejor calidad (orgánico). Las variedades son arábicas: Típica, Caturra y Catimor. (DRASAM, 2016). Actualmente según el Diario Oficial del Bicentenario (El

Peruano, 2018) [en línea], El café es el principal producto de agroexportación del Perú y, más allá de las cifras frías, vale recordar que su producción involucra a agricultores de más de 380 distritos en 17 regiones del país. Se trata de una actividad económica a la que se dedican más de 220,000 productores en 330,000 hectáreas en nuestra inmensa geografía, principalmente en la selva central.

**e) Cultivo de Plátano (*Musa spp*).**

El banano se cultiva en todas las regiones tropicales y tiene una importancia fundamental para las economías de muchos países en desarrollo. En términos de valor bruto de producción, el banano es el cuarto cultivo alimentario más importante del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz. El banano es un alimento básico y un producto de exportación. Como alimento básico, los bananos, incluidos los plátanos y otros tipos de bananos de cocción, contribuyen a la seguridad alimentaria de millones de personas en gran parte del mundo en desarrollo y, dada su comercialización en mercados locales, proporcionan ingresos y empleo a las poblaciones rurales. Como producto de exportación, el banano contribuye de forma decisiva a las economías de muchos países de bajos ingresos y con déficit de alimentos, entre los que figuran Ecuador, Honduras, Guatemala, Camerún, Costa de Marfil y Filipinas. Es la fruta fresca más exportada del mundo en cuanto a volumen y valor.

En el año 2015 San Martín ocupó el primer lugar en producción de plátano (21,8 %). Ese año la producción fue de 465 mil toneladas, registrando un de 0,3 por ciento respecto al año 2014. Por su lado, las siembras de plátano en el periodo agosto-diciembre de la campaña 2015-2016 totalizaron 1,3 mil hectáreas, mayores en 7,4 por ciento frente a similar periodo de la campaña 2014-2015.

• **Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* Raza 4).**

Esta es una de las enfermedades más agresivas que suele atacar a la familia de las musáceas (Batlle & Pérez, 2009). Se desarrolla favorablemente en las regiones tropicales (Moore et al., 1995), se estima que puede sobrevivir en residuos vegetales y formar clamidosporas, para luego permanecer latentes en el suelo, en residuos vegetales o en raíces de hospederos alternantes, hasta por 30 años y más del 80% de los bananos y plátanos producidos en el mundo son susceptibles a *Fusarium oxysporum*, f. sp. *Cubense* Raza 4, (Oirsa, 2009). Este hongo produce potentes

toxinas que ocasionan marchitez vascular, pudrición en semillas, pudrición de raíces, tallos, cormos y tubérculos (Belalcázar, 1991).

**f) Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L).**

Gillespie, (1993) menciona que el género *Plukenetia* comprende 17 especies de distribución pantropical, 12 en América, 03 en África, 01 en Madagascar y 01 en Asia. Así mismo el cultivo de Sacha inchi, es una planta que pertenece a la familia Euphorbiaceae que comúnmente se lo conoce como maní del monte, o maní del inca. En el Perú se encuentra en estado silvestre en diversos lugares de San Martín, Ucayali, Huánuco, Cuzco, Amazonas, Loreto y Madre de Dios. La región San Martín se encuentra en toda la cuenca del Huallaga. Se estima que este cultivo crece en suelos desde los 100 hasta los 2000 m.s.n.m.m. según (Céspedes, 2016). Fue cultivado también en la costa peruana en la época prehispánica y se han encontrado semillas y representaciones.

En cuanto al problema fitosanitario Manco, (2006) manifiesta que el INIA mantiene la colección más importante de sachá inchi, en donde se concentra una amplia variabilidad de ecotipos (47 entradas), habiéndose identificado materiales genéticos promisorios por sus altos contenidos de aceite; sin embargo, tienen bajos rendimientos y son altamente susceptibles a *Meloidogyne* sp. “nematodo del nudo de la raíz”, principal problema fitosanitario, que ocasiona elevada mortandad de plantas al segundo año de producción, también se reportan daños considerables por *Fusarium* spp., en estado de plántula y en plantas adultas asociados a daños por *Meloidogyne* sp.

**g) Ají dulce (*Capsicum* spp.)**

El Perú es el país con más diversidad nativa de *Capsicum* cultivado en el mundo. En los mercados locales no es raro encontrar variedades de las cinco especies domesticadas como son: (*C. annum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* L., *C. frutescens* L., y *C. pubescens*), mientras que en otros países comúnmente se encuentran variedades de dos o tres especies cultivadas.

Posee ciertos atributos, como son: *capsaicinoides*: es responsable para el grado de picor de una accesión o variedad de ají (Luo et al., 2011); Flavonoides (suma de

quercetina, luteolina kaempferol y apigenina): específicamente la quercetina, que es uno de los compuestos antioxidantes más potentes que se encuentran actualmente es muy apreciado en la industria farmacéutica (Materska M., 2008). Capacidad antioxidante (TEAC). Protección al organismo de la acción de los radicales libres (Medina-Juárez et al., 2012); Vitamina E (suma de tocoferoles,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ). Tiene propiedades antioxidantes con usos en la industria farmacéutica, cosmética, alimenticia (Luo et al., 2011); Grasa, producción de aceite para el mercado culinario y aplicaciones industriales (Matthäus, 2009); Azúcares (suma, fructosa, glucosa, sacarosa): La sensación más o menos dulce en los ajíes contribuye a las características del sabor y a los valores nutricionales (Jarret et al., 2009).

#### **h) Culantro castilla (*Coriandrum sativum* L.)**

El cilantro es una planta aromática usada en algunos países como planta medicinal por lo que es cultivado intensivamente en países del Sur de Asia, Europa Central y los países del mediterráneo. El principal productor de cilantro es la India (Andhra Pradesh, Rajastán, Madhya Pradesh, Karnataka, Tamil Nadu y Uttar Pradesh). Además de la India, el cilantro también se cultiva comercialmente en Marruecos, Rumania, Bulgaria, Francia, España, Italia, Países Bajos, Myanmar, Pakistán, Turquía, México, Canadá, Argentina y Australia y, hasta cierto punto, en el Reino Unido y EE.UU. La India es el principal exportador mundial de semillas de cilantro con un 35.9% del total de las exportaciones mundiales en 2011. Es seguido por Bulgaria con 27.9%, Marruecos (6.8%) y Canadá (4.7%). En el continente americano, México ocupa el segundo lugar detrás de Guatemala, según (Sharma, 2012).

Pérez, (2017), menciona que la germinación de este cultivo es epigea con raíces finas que generan muchas ramificaciones a partir de la raíz primaria. Tiene hojas alternas mientras que su tallo es casi erecto y simpodial, y su inflorescencia es cimosa, donde el eje principal por lo general produce una sola rama, pero en algunas ocasiones genera varias ramas laterales en el nudo basal. Cada rama de la planta termina en una inflorescencia. El color del tallo es verde y puede tornarse rojo o violeta durante el período de floración. El tallo de la planta madura es hueco y sus partes basales pueden alcanzar un diámetro de hasta 2 cm. Así mismo el cilantro pertenece a la familia Umbelliferae; la siembra suele hacerse en forma directa, a

chorro continuo y en hileras distanciadas a 20 cm, para facilitar su manejo y la cosecha, dado que se comercializa como planta completa, además, se puede sembrar durante todo el año.

Las enfermedades que atacan a este cultivo son pocas, entre las más comunes se puede mencionar la pudrición de raíces causada por *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp., y *Phyitium* sp. Estas enfermedades suelen desarrollarse en condiciones de alta densidad de siembra, humedad relativa alta y suelos con mal drenaje; como también se podría considerar como un factor importante, es a causa del monocultivo ya que la falta de rotación cultural favorece la permanencia del problema. Según (Instituto de Investigaciones Agropecuarias- INIA, 2014).

#### **i) Frijol Huasca poroto (*Phaseolus* sp).**

Esta variedad es la especie más conocida del género *Phaseolus* en la familia *fabaceae*. Es una especie anual nativa de Mesoamérica y Sudamérica, y sus numerosas variedades se cultivan en todo el mundo para el consumo, tanto de sus vainas verdes como de sus semillas frescas o secas. Las legumbres son una fuente esencial de proteínas y aminoácidos de origen vegetal y su consumo contribuye a una dieta saludable, así como a la prevención y control de enfermedades como la diabetes, las afecciones coronarias y el cáncer. Otra de sus grandes ventajas es la propiedad que tienen de fijar el nitrógeno en el suelo, lo cual contribuye a aumentar su fertilidad con efectos positivos para el medio ambiente. Debe recordarse que el Perú es centro de origen del Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), Pallar (*Phaseolus lunatus* L.) y Tarwi (*Lupinus mutabilis*) concentrando, además, las principales legumbres que se cultivan en Sudamérica, según (Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI, 2016).

#### **Las principales enfermedades que atacan a este cultivo son:**

- La Pudrición de la raíz; es influenciada por muchos factores bióticos y abióticos que interaccionan durante su ciclo de crecimiento. Las enfermedades son uno de los mayores factores bióticos que afectan la producción de frijol. Muchos de los organismos que causan estas enfermedades son portados por las semillas derivadas de la contaminación externa o por las propias semillas. La utilización de semillas portadoras de enfermedades resulta en una germinación pobre, poco vigor de las plantas, bajas producciones y baja calidad de las semillas. Algunas



plagas de insectos también afectan la calidad de las semillas y la germinación de las plantas debido al daño que causan en la semilla en campo y el almacenamiento. A continuación, según (Centro Internacional de Agricultura Tropical-Colombia-CIAT, 2015). Como también dan a conocer que los síntomas iniciales suelen aparecer como lesiones de color café rojizo, angostas y longitudinales o rayas sobre los hipocótilos y raíz primaria a la primera y segunda semana después de la emergencia de la plántula. A medida que la infección se expande, las lesiones se juntan, se tornan de color café y extienden por la superficie del suelo. Las lesiones pueden ser acompañadas por fisuras o grietas longitudinales. Las raíces primarias y laterales frecuentemente son separadas y mueren. La muerte de las raíces primarias resulta en la formación hueca de la parte inferior del tallo.

- Marchitamiento, esta es otra enfermedad muy común en los cultivos de Frijoles y principalmente suele ser favorecida, por humedad relativa baja y altas temperaturas durante períodos de sequías, así también, cuando las plantas están afectadas. Los síntomas; son fácilmente confundidos con los de la pudrición de la raíz que ocasiona *Fusarium* sp., sin embargo, en plántulas, la infección causa enanismo, marchitamiento y muerte. El hongo puede también causar lesiones de agua en las vainas. El patógeno penetra el tejido vascular de la raíz e hipocótilos, produciendo una decoloración rojiza a lo largo de la raíz, tallo, peciolos y pedúnculos. La infección causa el amarillamiento de las hojas bajas y puede progresar hacia las de la parte superior, causando defoliación prematura, según (Centro Internacional de Agricultura Tropical-Colombia).

### **1.3. Hongos fitopatógenos**

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares con contenido de quitina, celulosa o ambos componentes y se alimentan de organismos fotosintéticos (Agrios, 2005).

Cerca de dos tercios de las enfermedades de las plantas son causados por hongos. Se estima que cerca de 10 000 especies, de las cuales la mayoría son saprófitos obligados, pero cerca de 8 000 son fitoparásitos. Para que suceda una enfermedad, es necesario una

completa interacción de tres componentes: patógeno, huésped y condiciones ambientales favorables (Agrios, 2006).

Se considera que los hongos fitopatógenos, son de naturaleza variada e incluyen virus, bacterias, hongos, algas, plantas superiores y nematodos. Capaces de penetrar y establecer una directa y compleja relación parasitaria con su hospedero, considerada como transmisores de enfermedades.

### **1.3.1. Mecanismos de infección en los hongos fitopatógenos.**

Según Jiménez, (2010), afirma que los hongos patógenos muestran una especificidad hacia el órgano al cual se unen de forma que, normalmente no atacan a todas las partes de la planta hospedera; algunos colonizan partes aéreas mientras que otros infectan raíces. Justos estos hongos patógenos emplean diferentes mecanismos para unirse a la superficie de la planta hospedera.

En cualquier caso, la penetración de hifas en la planta necesita del contacto y la adherencia de las esporas y/o de la primera hifa que resulta de su germinación a la superficie vegetal. Es por ello que los mecanismos por los cuales este proceso se consigue han sido poco estudiados. Un posible mecanismo consiste en la segregación de enzimas tales como cutinasas y esterases que alteran la superficie vegetal facilitando la adherencia.

### **1.3.2. Ecología**

Una de las características principales que *Fusarium* posee, es que pertenece a un género de hongos de distribución mundial, ubicuos y con gran importancia económica ya que son habituales fitopatógenos. Su amplia distribución se atribuye a su capacidad para crecer en gran número de sustratos y a su eficaz mecanismo de distribución; el viento y la lluvia juegan un importante papel en su deseminación. Se ha demostrado que las esporas alcanzan una desaminación hasta 400 km de distancia (Agrios, 2005).

### **1.3.3. Morfología**

Para llevar a cabo la clasificación morfológica del género *Fusarium*, hay que tener en cuenta las características macro y microscópicas del microorganismo. El tipo de micelio aéreo, pigmentación y tasa de crecimiento de la colonia, así como la ausencia o

presencia de esporodoquios, esclerocios o estroma en diferentes medios son características básicas de identificación. Se estima que el color que desarrollan depende de la especie y puede variar desde blanco, crema, rojo, púrpura, etc. El micelio aéreo suele ser abundante, que crece en agar papa glucosado (APG), utilizado en la observación de estructuras (Figuerola et al., 2010).

Se dice que las especies de este género pueden producir tres tipos de esporas asexuales llamadas macroconidias, microconidias y clamidosporas. El macroconidio es la espora principal en la caracterización.

#### 1.3.4. Clasificación taxonómica del género *Fusarium* sp.

Clasificación taxonómica del género *Fusarium* según (Hoog et al., 2000.) y (Leslie & Summerell, 2006).

<b>División</b>	: Ascomycota
<b>Subdivisión</b>	: Pezizomycotina
<b>Clase</b>	: Sordariomycetes.
<b>Subclases</b>	: Hypocreomycetidae
<b>Orden</b>	: Hypocreales
<b>Familia</b>	: Hypocreaceae
<b>Género</b>	: <i>Fusarium</i>
<b>Especies</b>	: <i>Fusarium oxysporum</i> : <i>Fusarium solani</i>  : <i>Fusarium verticillioides</i> .  : <i>Fusarium brachygibbosum</i> , etc.

El género *Fusarium*, fue descrito por primera vez por Link en 1809, con el término de esporas pluriseptadas fusiformes que crecen sobre estromas. Años después, en 1821 el género fue validado por Fríes, quien lo incluyó en el orden Tuberculariae. Después Wollenweber & Reinking en 1935, publicaron un trabajo sobre *Fusarium*. En este trabajo estudiaron 1000 cepas de *Fusarium* y las organizaron en 16 secciones que se

contenían en aquel entonces 65 especies, 55 variedades y 22 formas especiales. (Pardo & Duran, 1999; Summerell et al., 2001).

#### **1.4. Generalidades del género *Fusarium*.**

El género *Fusarium* tiene una amplia distribución en el mundo y una gran importancia desde el punto de vista agrícola y económico. El género *Fusarium* tiene 70 especies descritas hasta la fecha y que al mismo tiempo están agrupadas en 12 secciones. Cada sección es única, con un conjunto de especies relacionadas entre sí. Casi en su totalidad estas especies son parásitos de plantas y entre ellas se encuentran algunas de las más agresivas como agente patógeno cuando atacan a los diversos cultivos agrícolas por todo el mundo, generando así cuantiosas pérdidas económicas según (Leslie & Summerell, 2006).

Agrios, (2005), sostiene que el género *Fusarium* es un hongo ascomycota (imperfecto), patógeno causante del marchitamiento vascular principalmente en vegetales y flores, además recientemente se ha visto que es responsable de micosis en animales y humanos.

*Fusarium* ocasiona la marchitez y pudrición de la raíz de muchas plantas anuales, así como la cancrisis en árboles forestales; como también el marchitamiento vascular ataca principalmente a una gran variedad de cultivos como (ajo, algodón, arveja, banano, brócoli, calabaza, cebolla, chile, fresa, linaza, melón, ornamentales- clavel, crisantemos, gladiolos, tulipanes, repollo, tomate, etc.), económicamente importantes alrededor de todo el mundo (Orteneda et al., 2004).

Agrios, (2005), menciona que *Fusarium* sp., presenta especies fitopatógenas muy bien definidas como: *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium roseum*, *Fusarium lateritium* y *Fusarium oxysporum*. La mayor cantidad de casos reportados por marchitamiento vascular, son causados por este género y son producidos por especies relacionados al género *Fusarium oxysporum*; diferentes huéspedes son atacados por diferentes formas especiales y/o especies de este hongo.

##### **1.4.1. Identificación morfológica**

Para poder trabajar con conceptos morfológicos de hongos, hay que tener en cuenta la plasticidad fenotípica, la ocurrencia de especies crípticas (especies que no pueden ser distinguidas por caracteres morfológicos) y en formas patogénicas razas las cuales requieren estudios adicionales. Del mismo modo las mutaciones genéticas pueden

alterar características morfológicas (Leslie & Summerell, 2006). Para algunas de las especies de *Fusarium* es posible la identificación por medio de caracteres morfológicos y en otras se requiere de información adicional biológica y filogenética para la precisión de las identificaciones (Leslie & Summerell, 2006). La identificación se realizó en base a las claves taxonómicas de Bernet H.L. & Hunder B., (1998), Nelson et al., (1983), Snyder, Wc., Hansen H.N (1940).

#### **1.4.2. Interacción *Fusarium*-planta**

Al igual que otros fitopatógenos este hongo emplea diversas estrategias de infección para algunos casos patrones moleculares de infección. *Fusarium* tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo como micelio o como esporas en ausencia de sus hospedante si se encuentra cerca de una planta hospedante la infección puede iniciar en las raíces (Ma, et al., 2013). Durante la fase invasiva muchos patógenos generan ambientes alcalinos o acidificantes como una condición favorable para su crecimiento, siendo algunos organismos acidificadores y otros alcalinizadores (Prusky, 2003). La acidificación a través de la secreción de ácidos orgánicos es una característica de patógenos necrotróficos que provocan la muerte celular de forma rápida y extensa, traduciéndose en una necrosis del tejido (Cessna, 2000). Contrariamente, la alcalinización extracelular se ha reportado para los organismos hemi-biotróficos como un evento fundamental durante su primera etapa de infección (Prusky D. e., 2001).

Recientemente Masachis et al., (2016) demostraron que la alcalinización extracelular es fundamental para la colonización satisfactoria de *Fusarium oxysporum*, el mismo que produce y secreta un péptido homólogo a los péptidos RALF (del inglés Rapid Alkalinization Factor) encontrado primeramente en extractos proteicos de hojas de tabaco (Pearce, 2001 a; Pearce, 2001 b) y en otras especies vegetales (Wu, 2007; Germain, 2005; Mingossi, 2010; Morato do Canto, 2014).

El papel biológico de péptidos RALF en plantas está asociado a una fuerte y rápida alcalinización extracelular, aumento de ondas de calcio citosólico. (Pearce, 2001 a; Haruta et al., 2008; Haruta et al., 2014) regulación negativa de la expansión celular (Covey, 2010; Mingossi, 2010; Matos, 2008; Srivastava, 2009) y crosstalk con ácido abscísico (Chen, 2016). Haruta et al 2014; utilizando experimentos de fosfoproteoma identificaron y descubrieron una proteína de membrana FERONIA como receptor del

péptido RALF en plantas. La activación del complejo RALF-FERONIA lleva a la fosforilación de otras proteínas, entre ellas una bomba de protones AHA2, la misma que es inhibida durante su fosforilación aumentando el pH extracelular. Plantas con pérdida de función de la proteína FERONIA en *Arabidopsis* (*fer4*) mantiene un pH extracelular más ácido en células de raíz, donde las bombas de protones AHA2 siempre están activas y de forma interesante estas plantas son resistentes a la invasión de *Fusarium oxysporum*.

### **1.5. *Fusarium* sp.**

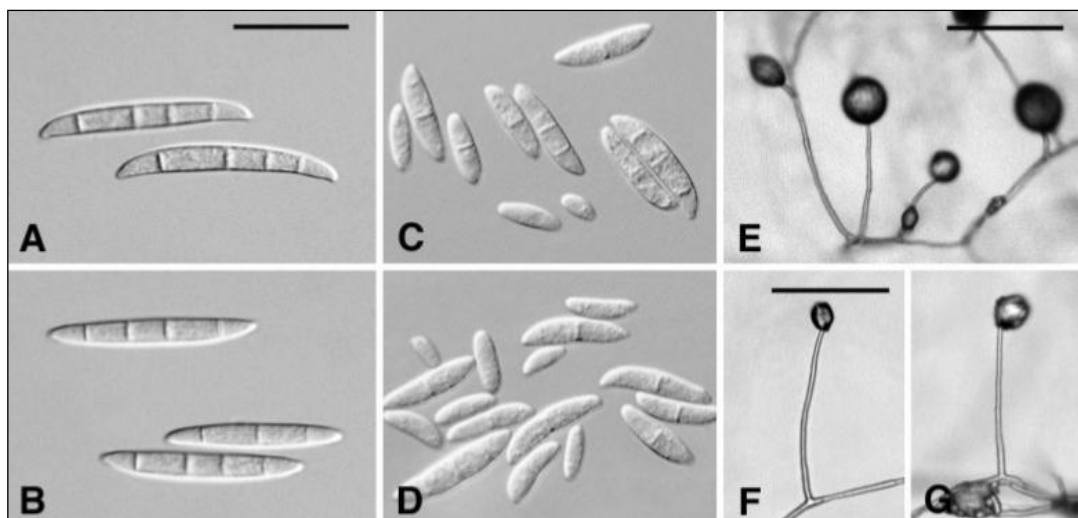
Es un hongo habitante del suelo que infecta a las plantas a través de las raíces, penetrando en forma directa o por heridas, su micelio asciende a través de los vasos xilemáticos. Es un organismo saprófito que puede permanecer en el suelo por tiempo indefinido; se propaga principalmente como micelio, esporas o clamidosporas; puede ser dispersado a través del agua de riego, equipo agrícola, estructuras vegetativas y semillas de algunas plantas (Agrios, 2005).

Hasta la fecha no se conoce el origen espontáneo de nuevas razas de *Fusarium* sp., en la naturaleza, salvo que surgen irregulares e impredeciblemente, como también sabemos que pueden producirse por mutagénesis, así lo afirma (Booth, 1984). La “Forma *specialis*” (*f. sp.*) como las razas fisiológicas no son reconocibles morfológicamente, solo la inoculación y su comportamiento frente al hospedador permiten a este, su posible identificación. A pesar que raza fisiológica y “forma *specialis*” no están incluidos en ningún código internacional de nomenclatura. Esto contribuye a identificar el grado de especificidad en la relación Hospedero – Patógeno. (Taylor et al., 1999). Crece rápidamente en agar papa dextrosa a 25°C, produciendo un micelio algodonoso e incoloro al principio, pero conforme adquiere una madurez se torna de color crema o amarillo pálido y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido, rojo o purpura (Díaz de Castro et al., 2007).

#### **1.5.1. *Fusarium solani*.**

##### **Distribución geográfica.**

Regularmente aislado de los suelos en una variedad de ambientes. Un patógeno de una gran cantidad de especies de plantas, especialmente árboles.



**Figura 1:** *Fusarium solani*. A-D: Macroconidia; C-D: Microconidia in situ en CLA. A-D, Scala bar = 25 μm; E, scale bar = 100μm; F – G, scale bar = 50 μm. (Fuente: Leslie & Summerell, 2006).

### Morfología de la colonia en PDA.

Los cultivos de *Fusarium solani* generalmente son de color blanco a crema con micelio escaso. Las esporas a menudo se producen en abundancia y pueden ser de color crema, azul o verde. Muchos aislamientos no producen pigmentos en el agar, aunque se pueden observar algunos pigmentos violetas o marrones.

### Macroconidia.

- Esporodoquios: varían desde crema, azul o verde son comunes en los trozos de hojas de clavel y en el agar contienen numerosos macroconidia (los esporodoquios en crema generalmente contienen más macroconidia que los azules o verdes).
- Morfología general: Relativamente ancha, recta y robusta.
- Morfología celular apical: roma y redondeado.
- Morfología de células basales: puede tener una forma de pie distinta o estar poco desarrollada, de forma recta a casi cilíndrica, generalmente con un extremo con muescas o redondeado.
- Número de septos: 5 a 7 septados.
- Abundancia: suele ser abundante en esporodoquios.

### **Microconidios.**

- Forma/septación: Oval, elipsoide, reniforme y usiforme con 0 o 1 a ocasionalmente 2 septos.
- Presentación del micelio aéreo: Falsas cabezas.
- Células conidiogénicas: monofialidas, a menudo bastante largas.
- Abundancia: Abundante en los micelios aéreos.

### **Clamidosporas.**

- Abundancia / Velocidad de formación: Comúnmente se forma abundante y rápidamente, generalmente dentro de 2-4 semanas en CLA.
- Ubicación: Puede ser intercalar en las hifas o formarse terminalmente en las ramas laterales cortas, generalmente solos o en pares, pero ocasionalmente en cadenas cortas.
- Aspecto: puede ser de forma ovalada u ovalada y de pared lisa o rugosa.

#### **1.5.2. *Fusarium moniliforme*.**

##### **Distribución geográfica.**

Es una especie cosmopolita, se caracteriza por ser predominante en zonas tropicales y subtropicales. Su amplia distribución geográfica y rango de hospedante son importantes económicamente en cultivos como: caña de azúcar, maíz, cebada, higo, esparrago, pino y trigo. Se caracteriza por producir síntomas como: marchitez, pudrición de raíz, pudrición del tallo, pudrición de granos y mazorcas (Desjardins, 2006; Leslie & Summerell, 2006).

##### **Morfología de colonias en PDA.**

*Fusarium moniliforme* forma micelio floccoso blanco que puede volverse violeta grisáceo o magenta grisáceo con la edad. Los esporodoquios normalmente están ausentes, pero, si están presentes, son pálidos, el rango es bastante variable, variando desde la ausencia de pigmentación en el agar es muy variable, desde la no pigmentación o naranja grisáceo en algunos aislados hasta el violeta oscuro, violeta oscuro o magenta oscuro (casi negro) en otros.



### Macroconidia.

Los macroconidios se producen a partir de monofialidos en conidióforos ramificados en la esporodocio y raramente, de monofialidos en hifas. Según Agrios, (2005), las macroconidias están presentes, pero son escasas, y varían levemente de su forma curva a casi rectas, de paredes delgadas. Las clamidiosporas están ausentes

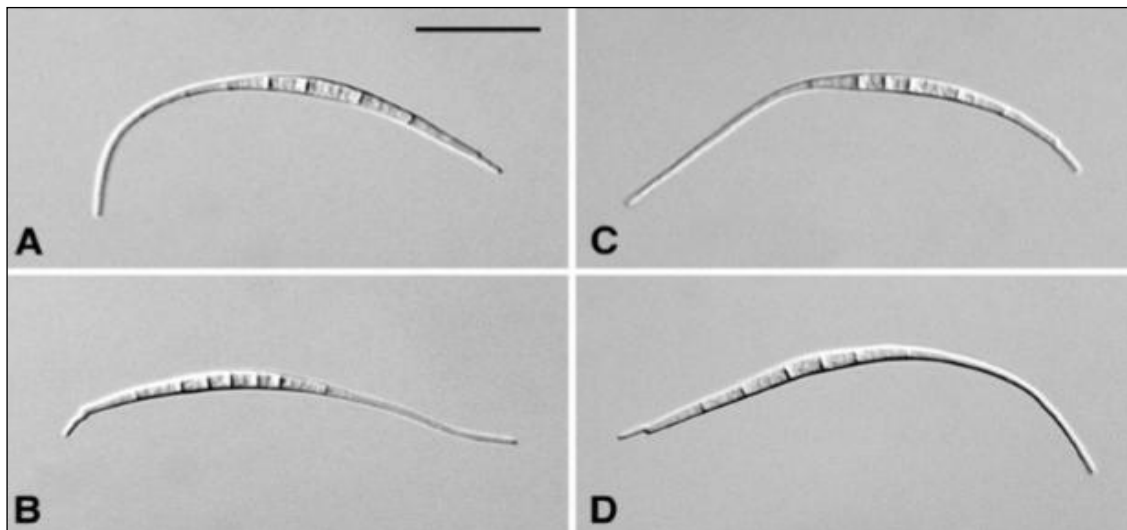
### Microconidia.

Los microconidia se forman abundantemente en cadenas de monofialidas en conidióforos unidos o de monofialidas formadas directamente en las hifas. Los microconidia son claviformes, usualmente unicelulares y tienen una base aplanada. Los microconidia también se forman, pero con menos frecuencia, en flase-heads en monofialides.

### Clamidiosporas.

Las clamidiosporas están ausentes. Tenga en cuenta que las células a veces se forman por *F. moniliforme* y se confunden con las clamidiosporas.

#### 1.5.3. *Fusarium equiseti*.



**Figura 2:** *Fusarium equiseti*. A-D: Macroconidia. Scala bar = 25  $\mu$ m. (Fuente: Leslie & Summerell, 2006).

### **Distribución geográfica.**

Cosmopolita en áreas que van desde frías y templadas hasta cálidas y áridas, principalmente como saprófitos o invasores secundarios.

### **Morfología de la colonia en PDA.**

Abundante micelio que inicialmente es blanco, pero se vuelve marrón con la edad. Las esporas se pueden formar en una masa de esporas centrales, pero pueden no ser obvias, ya que pueden ser ocultadas por el micelio. La masa de esporas puede ser de color naranja pálido a marrón oscuro y pueden desarrollarse zonas en respuesta a un ciclo de luz a oscuridad. Esta especie forma un pigmento de color marrón pálido a marrón oscuro donde la colonia se pone en contacto con el agar. Las manchas de color marrón oscuro o manchas de pigmento generalmente se forman en el agar.

### **Macroconidia.**

- Esporodoquios: color naranja. Encontrado en piezas de hoja de clavel en Carnation leaf agar (CLA). Los macroconidios de los esporodoquios a suelen ser uniformes en forma y tamaño y deben utilizarse con fines de identificación para este hongo.
- Morfología general: larga a muy larga y delgada. Los macroconidios tienen una curvatura dorsiventral típica de las especies en la sección Gibbosum.
- Morfología de la célula apical: cónica y alargada o incluso látigo.
- Morfología de células basales: forma prominente del pie que puede tener una apariencia alargada.
- Número de septos: generalmente de 5 a 7 septados.
- Abundancia: suele ser abundante en esporodoquios.

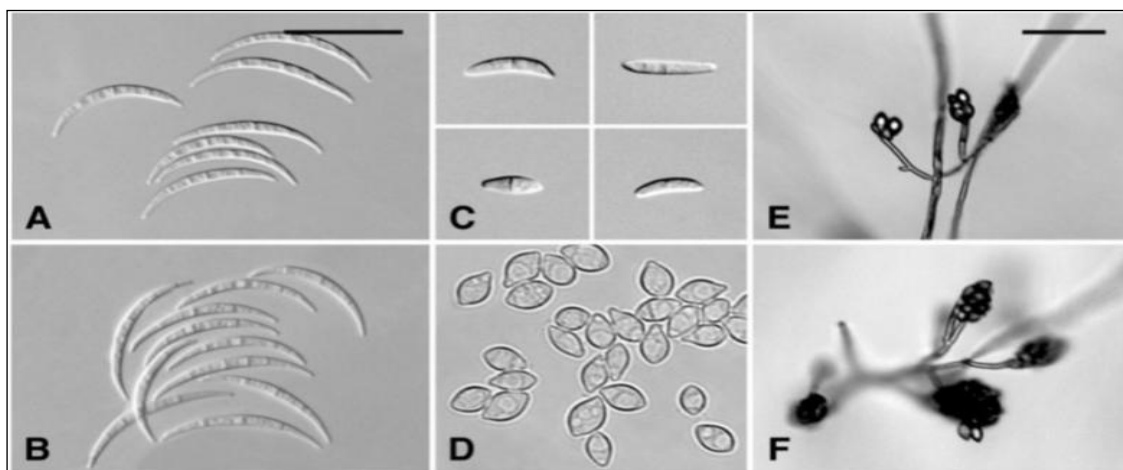
### **Microconidia.**

(Nelson et al. 1983) notaron que algunos aislamientos de *F. equiseti* producen microconidia; al igual que (Gerlach, 1982), incluyeron a *F. scirpi* en su definición de *F. equiseti*. Mencionan que *F. equiseti* como *F. scirpi* y en su descripción del estado de *F. equiseti*, solo se forman macroconidia.

### Clamidosporas.

- Abundancia / velocidad de formación: por lo general, abundante después de 2-6 semanas con Carnation leaf agar (CLA).
- Ubicación: En hifas aéreas e hifas en el agar.
- Apariencia: Se puede encontrar solo, en cadenas o en grupos. Aparece con el tiempo un pigmento pardo y gruesas paredes verrugosas.

#### 1.5.4. *Fusarium tricinctum*.



**Figura 3:** *Fusarium tricinctum*. A-D: Macroconidia. Scala bar = 25  $\mu$ m. (Fuente: Leslie & Summerell, 2006).

### Distribución geográfica.

Se ha aislado de diversos sustratos en muchas partes del mundo. Parece ser más común en las partes templadas del mundo. *Fusarium tricinctum* crece rápidamente y forma abundantes micelios densos que inicialmente son blancos, pero que se vuelven de color rosa, rojo o púrpura con la edad. Forma pigmentos rojos en el agar.

### Macroconidia.

- Esporas: color naranja pálido.
- Morfología general: relativamente delgada y falcada a casi lunada.
- Morfología de células apicales: curvadas y decrecientes.
- Morfología de células basales: forma del pie bien desarrollada.
- Número de septos: Predominantemente 3 pero ocasionalmente 4 a 5 septados.
- Abundancia: Relativamente abundante.

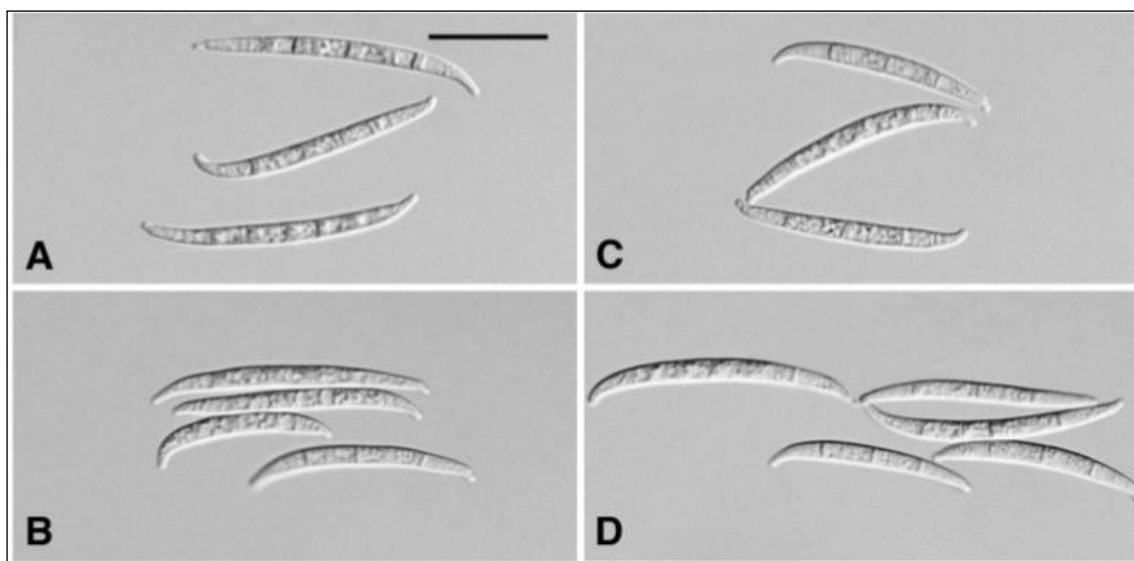
### Microconidios.

- Forma / septación: napiforme, oval, piriforme y ocasionalmente citriforme, generalmente con 0 pero ocasionalmente 1 septa. Algunos microconidios pueden tener papila en la base del microconidio.
- Presentación de micelio aéreo: cabezas falsas pequeñas con algunos microconidia que pueden agruparse y aparecer como un racimo de uvas.
- Células conidiogénicas: monofialidas.
- Abundancia: Abundante en los micelios aéreos.

### Clamidosporas.

- Abundancia / Velocidad de formación: se forma sólo ocasionalmente por algunos aislamientos, y cuando se forma no es útil como carácter de diagnóstico. Las cepas que forman clamidosporas a menudo lo hacen muy lentamente, por lo general requieren seis o más semanas de incubación en CLA.
- Ubicación: Puede ser intercalar, terminal o en ramas laterales cortas. Por lo general, en hifas, ya sea individualmente o en cadenas.
- Apariencia: Globosa con una pared exterior lisa que se vuelve marrón con la edad.

#### 1.5.5. *Fusarium lateritium*.



**Figura 4:** *Fusarium lateritium*. A-D: Macroconidia. Scala bar = 25  $\mu$ m. (Fuente: Leslie & Summerell, 2006).

Se entiende que *Fusarium lateritium*, es un complejo de especies y que probablemente con tiene varios taxones que deben resolverse y caracterizarse. Al mismo tiempo, *F. denticulatum* y *F. circinatum* se clasificaron como *F. lateritium* varios investigadores han descrito varias especies y formas especiales, pero la nomenclatura sigue sin resolverse y las relaciones filogenéticas en general no están bien exploradas.

*Fusarium lateritium* tiene una enzima de cianuro hidratasa, que puede ser útil para la biorremediación de sitios contaminados con cianuro o nitrilos según (Brown, 1995) y (Nolan, 2003). También tiene actividad de dimetilsulfoniopropionato liasa que podría permitirle degradar la hojarasca en las marismas de agua salada (Bacic, 1998) y una actividad pectinasa suficiente para ser potencialmente útil en la retención de lino (Henriksson, 1997).

### **Morfología de las colonias en PDA.**

*Fusarium lateritium* es una especie de crecimiento lento que presenta una considerable variación. Se acepta aquí como una especie compleja según (Snyder & Hansen, 2006). En los cultivos forma micelio blanco muy disperso, naranja pálido o rosa pálido. Se producen abundantes macroconidios en esporodochia confluyente de color naranja pálido, naranja rojizo o rosa pálido sobre la superficie interna de la colonia. Algunos aislamientos producen un pigmento anaranjado rojizo en el agar, mientras que otros no están pigmentados.

### **Macroconidia.**

- Esporas: abundan esporas de color naranja pálido cerca de los trozos de hojas de clavel en CLA (Carnation leaf agar). En algunos cultivos, la espora puede ser casi confluyente a través de la superficie del agar, lo que le confiere un aspecto viscoso.
- Morfología general: media-larga, delgada y relativamente recta a suavemente curvada con paredes paralelas para la mayor parte de la longitud de la espora.
- Morfología celular apical: anzuelo o pico característico.
- Morfología de células basales: forma de pie o muesca.
- Número de septos: varía de 4 a 7 septados, pero predominantemente de 5 septados.

- Abundancia: Abundante en esporodochia.

### **Microconidios.**

- Forma / septación: Elipsoide, huso o en forma de palo. 0 a 3 septados.
- Presentación del micelio aéreo: individualmente.
- Células conidiogénicas: monofialidas.
- Abundancia: Generalmente ausente, pero en algunos casos puede estar presente en abundancia.

### **Clamidosporas.**

- Abundancia / Velocidad de formación: generalmente presente, pero no es un rasgo taxonómicamente útil. La velocidad con que se forman las clamidosporas varía según la tensión; algunos pueden ser bastante rápidos (2-3 semanas) y otros pueden ser bastante lentos (6 semanas) con el CLA.
- Ubicación: Intercalar en hifas sumergidas y aéreas.
- Apariencia: individualmente o en cadenas.

## **1.6. Agentes tampones y quelantes.**

### **A. Agentes tampones:**

Solución tampón, es una mezcla en concentraciones relativamente elevadas de un ácido y su base conjugada, es decir, sales hidrolíticamente activas. Tienen la propiedad de mantener estable el pH de una disolución frente a la adición de cantidades relativamente pequeñas de ácidos o bases fuertes. Este hecho es de vital importancia en diversos contextos en donde es necesario mantener el pH en un umbral estrecho, por ejemplo, con un leve cambio en la concentración de hidrogeniones en la célula se puede producir un paro en la actividad de las enzimas.

Se puede entender esta propiedad como consecuencia del efecto ion común y las diferentes constantes de acidez o basicidad: una pequeña cantidad de ácido o base desplaza levemente el equilibrio ácido-base débil, lo cual tiene una consecuencia menor sobre el pH.

Cada sistema *buffer* tiene su propio rango efectivo de pH, el cual dependerá de la constante de equilibrio del ácido o base empleado. Son importantes en el laboratorio y en la industria, y también en la química de la vida. Tampones típicos son el par amoníaco-cación amonio, ácido acético-anión acetato, anión carbonato-anión bicarbonato, ácido cítrico-anión citrato o alguno de los pares en la disociación del ácido fosfórico.

## **B. Agentes quelantes:**

Los agentes quelantes, también conocidos como antagonistas o secuestradores de iones, son sustancias que tienden a constituir sustancias complejas junto a iones metálicos de metales pesados. A dichos compuestos complejos se les denomina quelatos, un término procedente del griego *chele*, cuyo significado es garra, pues es precisamente la forma que adoptan estas sustancias, una forma de garra que atrapa el metal. Quizás la aplicación más relevante de los agentes quelantes es conseguir librar de la toxicidad a los metales pesados para los organismos vivos.

Un ejemplo de esta solución quelante tenemos: El ácido etilendiaminotetraacético, también denominado EDTA o con menor frecuencia AEDT, es una sustancia utilizada como agente quelante que puede crear complejos con un metal que tenga una estructura de coordinación octaédrica. Coordina a metales pesados de forma reversible por cuatro posiciones acetato y dos amino, lo que lo convierte en un ligando hexadentado, y el más importante de los ligandos quelatos. Fórmula:  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ ; Peso mol: 292,24; Solubilidad en agua: Soluble en medio básico y Densidad: 0,86 g/cm<sup>3</sup>.

## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1. Tipo de investigación**

La investigación es de tipo paramétrica y descriptiva (Investigación Básica).

#### **2.2. Nivel de investigación**

El nivel de investigación es Descriptiva – Explicativa, ya que se describe y explica el efecto de *Fusarium* spp., y su interacción sobre la disponibilidad de pH y calcio extracelular en condiciones de laboratorio, dentro del tipo, biotecnología, protección de cultivos, bioprospección y recursos genéticos.

#### **2.3. Diseño de investigación**

El diseño de la investigación es experimental, realizado en condiciones de campo y laboratorio, estableciendo experimentos independientes para el estudio de cepas *Fusarium* con la disponibilidad de pH y calcio extracelular, además de un diseño experimental para cada estudio.

#### **2.4. Población y Muestra**

##### **2.4.1. Población.**

La población para el muestreo de plantas con tejidos enfermos de los cultivos de: sacha inchi, cacao, café, plátano, ají dulce, arroz, maíz amarillo duro en grano, frijol huasca poroto, culantro castilla y entre otros cultivos, fue considerada toda el área de los sistemas agrícolas de las provincias de San Martín (localidad: Morales-el sector Bijao), Bellavista (localidad: Vainilla, Limón y Utcubamba), Picota (localidad: San Hilarión) Lamas (localidad: Aucaloma y Pachilla) y El Dorado (localidad: San Juan de Talliquihui, Shucshuyacu y Leticia).

##### **2.4.2. Muestra.**

En los ensayos de caracterización, pH y calcio, se utilizó 18 especies *Fusarium* que fueron identificadas mediante claves taxonómicas, siguiendo un protocolo de purificación y obtención de cultivos puros. Lo cual es un estimado del 10% de la población afectada en los cultivos de: Sacha inchi, cacao, café, plátano, culantro, ají dulce, maíz, frijol huasca poroto y arroz, presentes en los ecosistemas agrícolas de las provincias mencionadas anteriormente.



## 2.5. Sistema de hipótesis

### 2.5.1. Modulación de pH.

H<sub>a</sub>: Al menos una condición de pH afecta el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., aislados en cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín”

H<sub>0</sub>: No existe influencia del pH en el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., aislados en cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín”.

### 2.5.2. Secuestro de Ca<sup>++</sup>.

H<sub>a</sub>: Al menos una condición de EDTA afecta el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., aislados en cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín”

H<sub>0</sub>: No existe influencia de EDTA en el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., aislados en cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín”.

## 2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los datos fueron obtenidos de fuentes primarias y para conseguirlos se utilizaron las siguientes técnicas e instrumentos:

### 2.6.1. Técnicas.

- Obtención y análisis de datos campo, como: producción agrícola de las principales provincias de la región, enfocada en nueve cultivos de importancia, como, cacao, café, sacha inchi, arroz, plátano, maíz, culantro castilla, frejol y ají dulce, georreferenciación de cada lugar de muestreo.
- Observacional, como: identificación del lugar de las parcelas de colecta sembradas por los agricultores, la cual sirvieron como muestreo.

### 2.1.1. Instrumentos.

- Ficha de diagnóstico situacional de cada provincia.
- Cuaderno de notas.
- Archivo de datos.

## 2.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Para la identificación de especies *Fusarium*, se empleó un análisis descriptivo de observación morfológica auxiliado por claves taxonómicas sugeridas por (Leslie y Summerell et al., 2006); Bernet H.L. & Hunder B., (1998), y Nelson et al., (1983), y

Snyder, Wc., Hansen H.N (1940). Para los experimentos de modulación iónica del pH y  $\text{Ca}^{++}$  en el medio, se empleó un diseño completamente al azar (DCA), con tres tratamientos ( $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$ ) para la prueba de pH y cinco tratamientos para la prueba de disponibilidad de calcio extracelular ( $T_0$ ,  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  y  $T_4$ ). Cada especie *Fusarium* fue sometido a estos tratamientos descritos anteriormente. Para obtener una mejor validez en la obtención de datos, fueron realizados tres experimentos independientes a cada estudio con 20 repeticiones (1 repetición = 1 micelio). Los promedios de cada experimento independiente (3 promedios/tratamiento), fueron tabulados en hojas de cálculo Excel, siendo procesados y analizados mediante un test de comparación de medias (Tukey,  $P < 0,01$ ). Para realizar este análisis se utilizó el paquete estadístico InfoStat (version 2012e; Córdoba, Argentina).

## 2.8. Descripción de los experimentos

### 2.8.1. Evaluación del efecto del pH, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* sp.

Para evaluar el efecto del pH sobre el crecimiento micelial de los aislamientos puros de *Fusarium* spp., se tuvo que realizar experimentos de crecimiento micelial sobre un sistema de *time lapse* adaptándolo a un estereomicroscopio. Discos de inóculo a partir de cepas puras reactivadas fueron transferidos a medio semisólido de PDA (papa, dextrosa y agar) tamponado a diferentes valores de pH (5; 6 y 7) e incubados por 36 horas. Enseguida fueron llevados a observación al estereomicroscopio y una vez localizados los micelios a monitorear, estos fueron evaluados en un sistema de registro automático de imágenes secuenciales (*time-lapse*) por 0; 5; 10; 15; 20; 25 y 30 minutos. Las imágenes fueron adquiridas en formato *tif* y trabajadas en una computadora estacionaria de alta gama usando el software de libre acceso *imageJ* (<https://fiji.sc/>). La permanencia del pH ante cualquier eventualidad de cambio iónico fue garantizada mediante el tamponamiento del medio PDA con “ácido 2- (N- morfolino) etanosulfónico” (MES) a 1 mM. Este proceso de evaluación se puede apreciar desde la (Figura 33, hasta la Figura 68) (Tabla 1).

**Tabla 1:**

*Distribución de tratamientos para el estudio de modulación de pH en 18 aislamientos provenientes de nueve Cultivos Agrícolas.*

CULTIVOS	ESPECIES	TRATAMIENTOS		
		T <sub>1</sub> =pH5	T <sub>2</sub> =pH6	T <sub>3</sub> =pH7
Cacao -CCN51	Especie 1	X	X	X
	Especie 2	X	X	X
Sacha inchi	Especie 3	X	X	X
	Especie 4	X	X	X
Ají dulce	Especie 5	X	X	X
	Especie 6	X	X	X
Arroz: Esperanza y Conquista	Especie 7	X	X	X
	Especie 8	X	X	X
Café	Especie 9	X	X	X
	Especie 10	X	X	X
Plátano	Especie 11	X	X	X
	Especie 12	X	X	X
Frijol Huasca poroto	Especie 13	X	X	X
	Especie 14	X	X	X
Maíz amarillo duro en grano	Especie 15	X	X	X
	Especie 16	X	X	X
Culantro castilla	Especie 17	X	X	X
	Especie 18	X	X	X

*Fuente:* Elaboración propia.

### **2.8.2. Evaluación del efecto de calcio sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* sp.**

Para evaluar el efecto del Ca<sup>++</sup> sobre el crecimiento micelial de los aislamientos puros de *Fusarium* spp., fueron realizados experimentos de crecimiento micelial sobre un sistema de *time lapse* adaptado a un estereomicroscopio. Discos de inóculo a partir de cepas puras reactivadas fueron transferidos a medio semisólido de PDA (papa, dextrosa y agar), es aquí donde se realiza el secuestro del calcio extracelular del medio PDA sin tamponar, esto fue posible mediante la adición de diferentes concentraciones del agente quelante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Las concentraciones empleadas de EDTA fueron a razón de 0; 1; 10; 20 y 100 mM respectivamente e incubados por 36 horas. Enseguida fueron llevados a observación al estereomicroscopio y una vez localizados los micelios a monitorear, estos fueron evaluados en un sistema de registro automático de imágenes secuenciales (*time-lapse*) por 0; 5; 10; 15; 20; 25 y 30 minutos. Las imágenes fueron adquiridas en formato *tif* y trabajadas en una computadora estacionaria de alta gama usando el software de libre acceso *imageJ*

(<https://fiji.sc/>). Este proceso de evaluación se puede apreciar desde la (Figura 69, hasta la Figura 104) (Tabla 2).

**Tabla 2:**

*Distribución de tratamientos para estudio de secuestro de calcio en 18 aislamientos provenientes de nueve Cultivos Agrícolas.*

CULTIVOS	ESPECIES	TRATAMIENTOS				
		T <sub>0</sub> = PDA	T <sub>1</sub> =PDA+ 1mM EDTA	T <sub>2</sub> =PDA+ 10mM EDTA	T <sub>3</sub> =PDA+ 20mM EDTA	T <sub>4</sub> =PDA+ 100mM EDTA
Cacao	Especie 1	X	X	X	X	X
	Especie 2	X	X	X	X	X
Sacha inchi	Especie 3	X	X	X	X	X
	Especie 4	X	X	X	X	X
Ají dulce	Especie 5	X	X	X	X	X
	Especie 6	X	X	X	X	X
Arroz, variedad: Esperanza y Conquista	Especie 7	X	X	X	X	X
	Especie 8	X	X	X	X	X
Café	Especie 9	X	X	X	X	X
	Especie 10	X	X	X	X	X
Plátano	Especie 11	X	X	X	X	X
	Especie 12	X	X	X	X	X
Frijol huasca poroto	Especie 13	X	X	X	X	X
	Especie 14	X	X	X	X	X
Maíz amarillo	Especie 15	X	X	X	X	X
	Especie 16	X	X	X	X	X
Culantro castillas	Especie 17	X	X	X	X	X
	Especie 18	X	X	X	X	X

*Fuente:* Elaboración propia.

## 2.9. Metodología

### 2.9.1. Localización del experimento.

El trabajo de investigación se desarrolló en el “Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM)”, ubicado en la “Facultad de Ciencias Agrarias” de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto (UNSM-T). Fue establecido bajo condiciones controladas en laboratorio; con temperatura mínima 25°C y máxima de 27°C.



**Figura 5:** Ambientes del trabajo de investigación. **A)** Cabina de flujo laminar en donde se realizan las siembras con las cepas puras de *Fusarium* sp., en diferentes medios de cultivos como papa dextrosa agar (PDA), pruebas de pH y calcio; **B)** Ambientes del Laboratorio de Biología y Genética Molecular. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

### 2.9.2. Ubicación Política.

Distrito : Morales  
 Provincia : San Martín  
 Departamento : San Martín

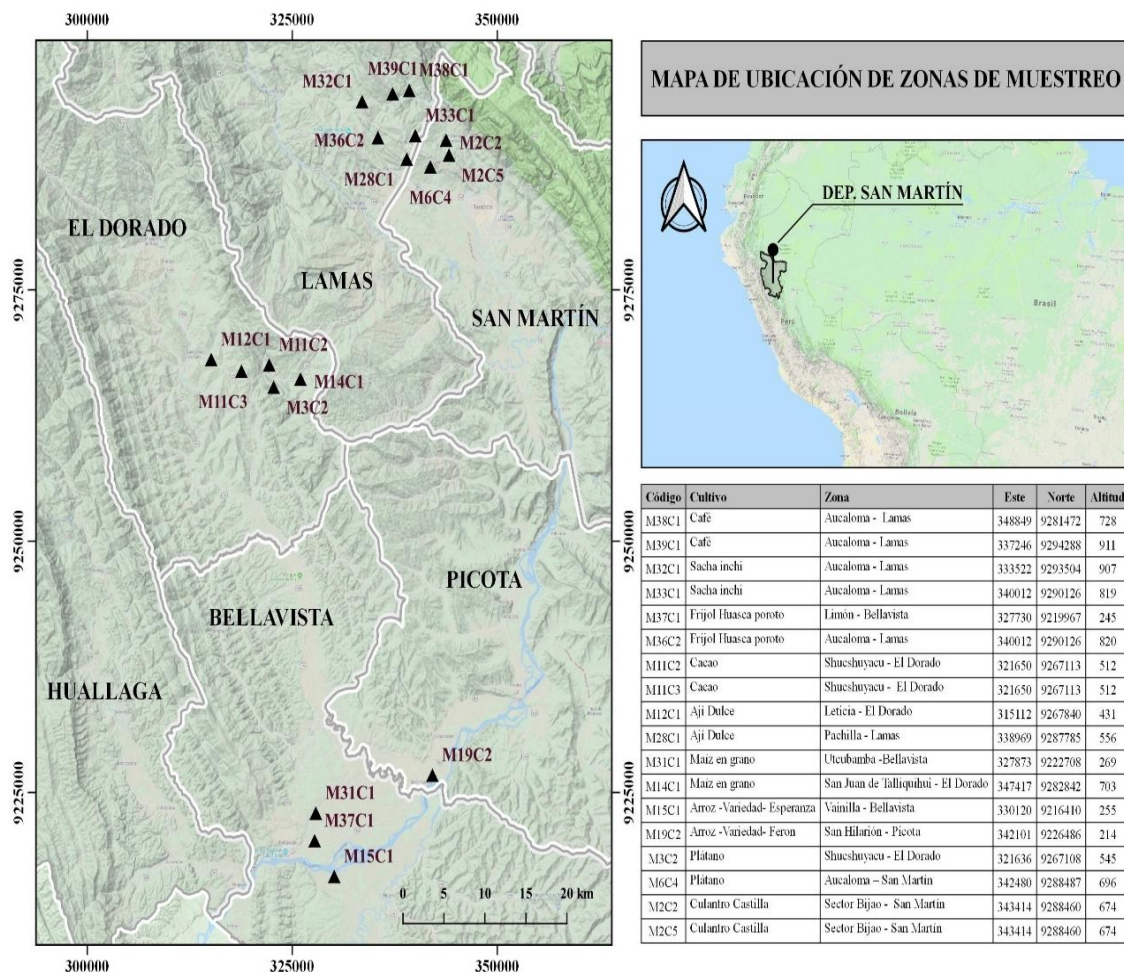
### 2.9.3. Ubicación Geográfica.

Latitud Sur : 06°35'28"  
 Longitud Oeste : 76°18'47"  
 Altitud : 230 m.s.n.m.m

### 2.9.4. Zonas de colecta de muestras biológicas.

Se ubicaron sistemas agrícolas al azar en localidades de la Región San Martín; tan solo en 5 provincias se logró localizar la mayor incidencia de ataque por *Fusarium* spp., dichas muestras extraídas de material vegetal infestado; fueron procedentes de las provincias de: Picota (localidad: San Hilarión), San Martín (localidad: Morales-el sector Bijao), Bellavista (localidad: Vainilla, Limón y Utcubamba), Lamas (localidad: Aucaloma y Pachilla) y El Dorado (localidad: San Juan de Talliquihui, Shuchshuyacu y Leticia). Todas las muestras y los experimentos fueron trabajados en las instalaciones del Laboratorio de Biología y Genética Molecular – Facultad de Ciencias Agrarias de la

Universidad Nacional de San Martín - T, en el Distrito de Morales, Provincia San Martín, Departamento de San Martín.



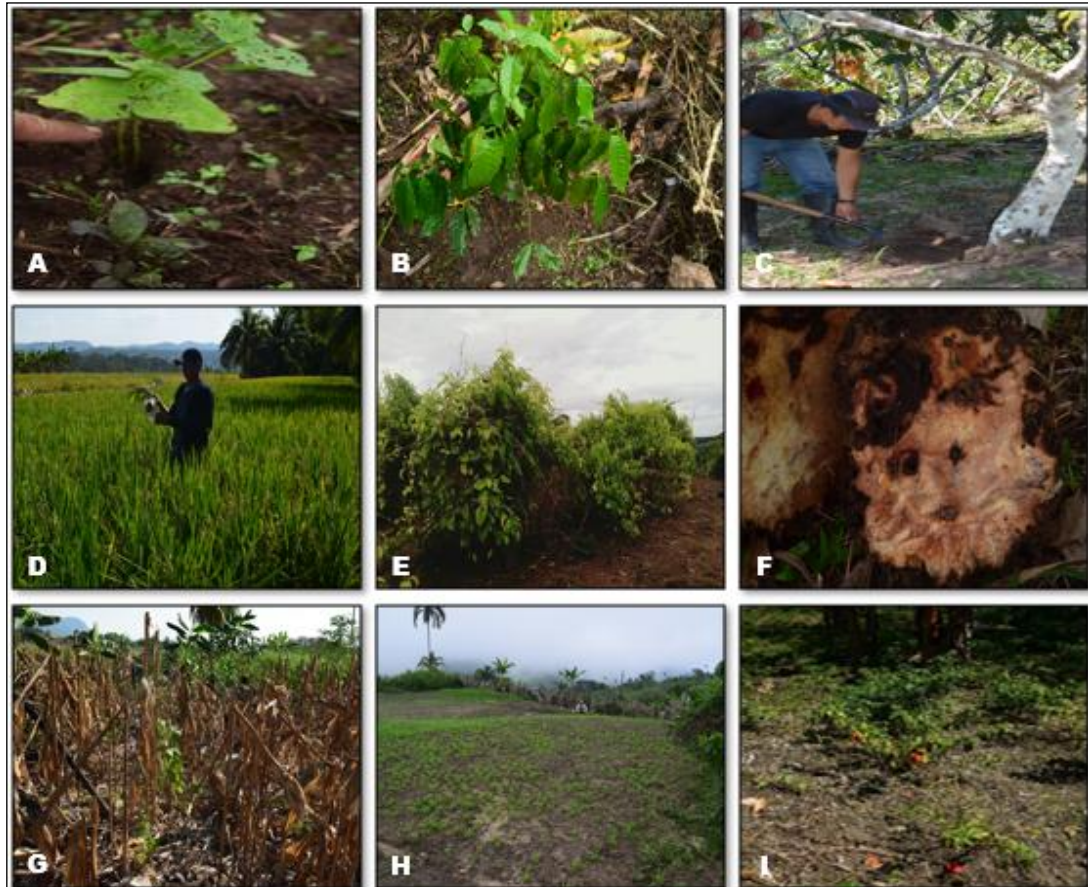
**Figura 6:** Mapa de Región San Martín, indicando las zonas en donde se muestrearon los nueve sistemas agrícolas para identificar especies del género *Fusarium* spp. (Fuente: Laboratorio de Biología y Genética Molecular).

## 2.9.5. Fases de ejecución del proyecto.

### A. Fase de campo.

Para nuestro estudio fueron considerados los cultivos de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), Cacao (*Theobroma cacao* L.), Arroz (*Oryza sativa*), Frijol Huasca poroto (*Phaseolus* sp.), Ají dulce (*Capsicum* sp.), Café (*Coffea arabica*), Maíz amarillo duro (*Zea mays*), Plátano (*Mussa* sp.) y Culantro castilla (*Coriandrum sativum*). Como hospederos potenciales para especies *Fusarium*, además de ser considerados como importantes en la región San Martín. Antes de iniciar la colecta de muestras se tuvo en cuenta las siguientes consideraciones: **A)** Explorar la información necesaria sobre diversas especies *Fusarium* spp., y su sintomatología

fenotípica en diversos cultivos; **B)** Realizar la colecta de muestras de material vegetativo sintomatológico en: raíces, tallos, pseudotallos y granos, todos estos con aparente sintomatología por ataque de *Fusarium* spp., **C)** Realizar la georreferenciación de cada punto de colecta. Tal como se muestra en la figura 7.



**Figura 7:** Proceso de colecta, de material vegetativo con sintomatología de *Fusarium* spp. **A)** Plantas de frijol huasca; **B)** Planta de café; **C)** Planta de cacao; **D)** Campo de arroz; **E)** Cultivo de sacha inchi; **F)** Pseudotallo de plátano; **G)** Cultivo de maíz; **H)** Cultivo de culantro castilla; **I)** Cultivo de ají dulce. Material recolectado de las 5 provincias. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

## **B. Fase laboratorio.**

- **Esterilización de materiales y equipos de laboratorio.**

Medios de cultivo como PDA (Papa Dextrosa Agar), materiales de metal y vidrio fueron esterilizados en una autoclave por 20 minutos a una temperatura de 121°C y a una presión de 15 psi.



**Figura 8:** Proceso de Esterilización de materiales y equipos de laboratorio. **A)** PDA dentro de las rejillas listas para autoclavar; **B)** Autoclavado de material y equipos. (Fuente: fotos de Hugo Coz)

- **Desinfección de material vegetal recolectado de campo.**

Muestras de cultivos agrícolas con sintomatologías, fueron desinfectadas superficialmente por inmersión en hipoclorito de sodio al 1% por un tiempo de 2 a 3 minutos, posterior a ello se procedió a colocar la muestra vegetativa en alcohol al 70% por 30 segundos, según (Sykes, 1969) con modificación. Para calcular dicha concentración, se empleó el siguiente cálculo matemático:  $C_1V_1 = C_2V_2$ ; con esta fórmula se calcula el volumen deseado con el que se desea trabajar. Según (Leslie y Summerel, 2006).

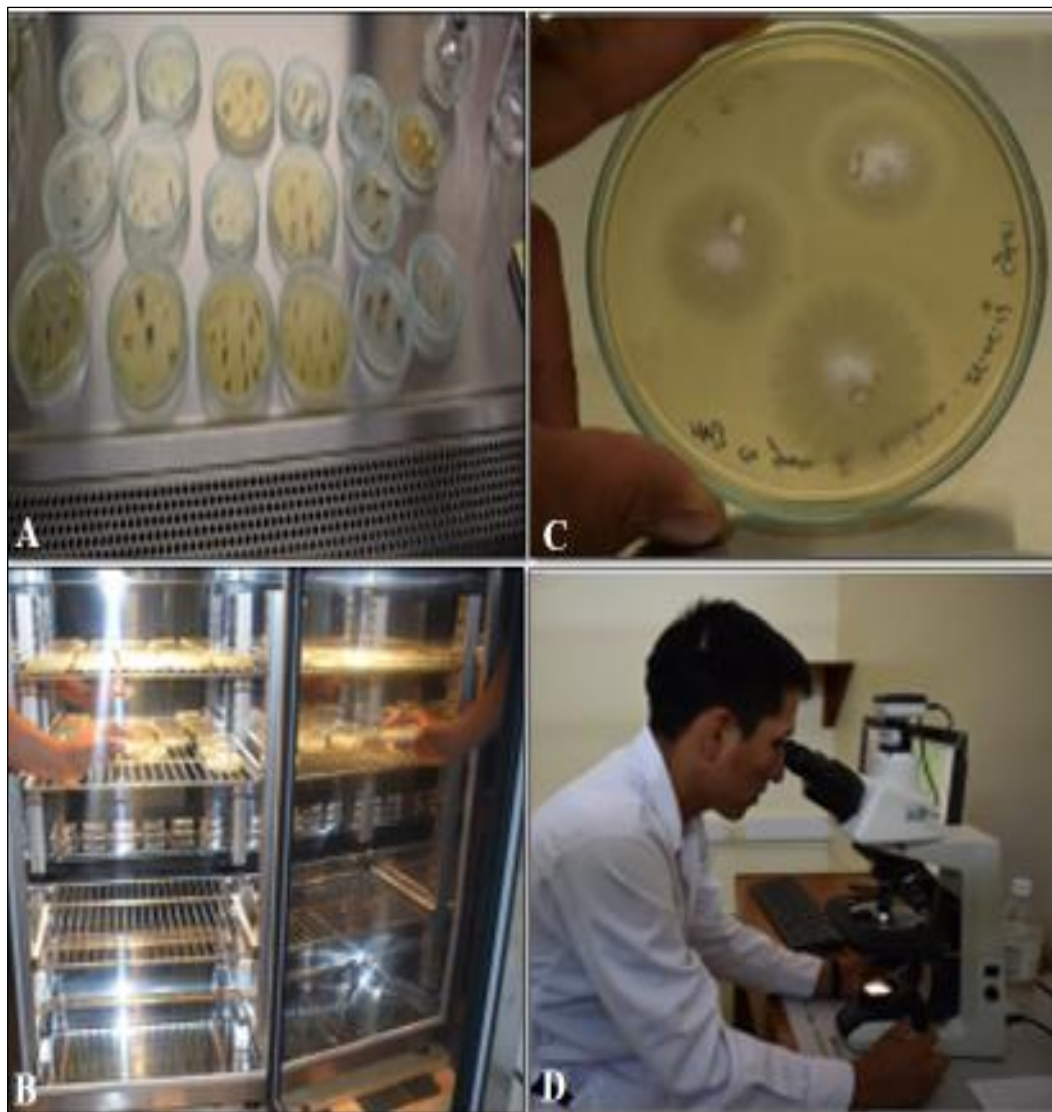




**Figura 9:** Proceso de desinfección de material vegetal recolectado en sistemas agrícolas. **A)** Material vegetal recolectado de sistemas agrícolas; **B)** Material vegetal lavados y colocados en placas de plástico; **C)** Llenado de alcohol al 70% en placas de plástico; **D)** Columnas repartidas listas para realizar desinfección con: Hipoclorito de sodio. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

- **Aislamiento y obtención de cultivos puros.**

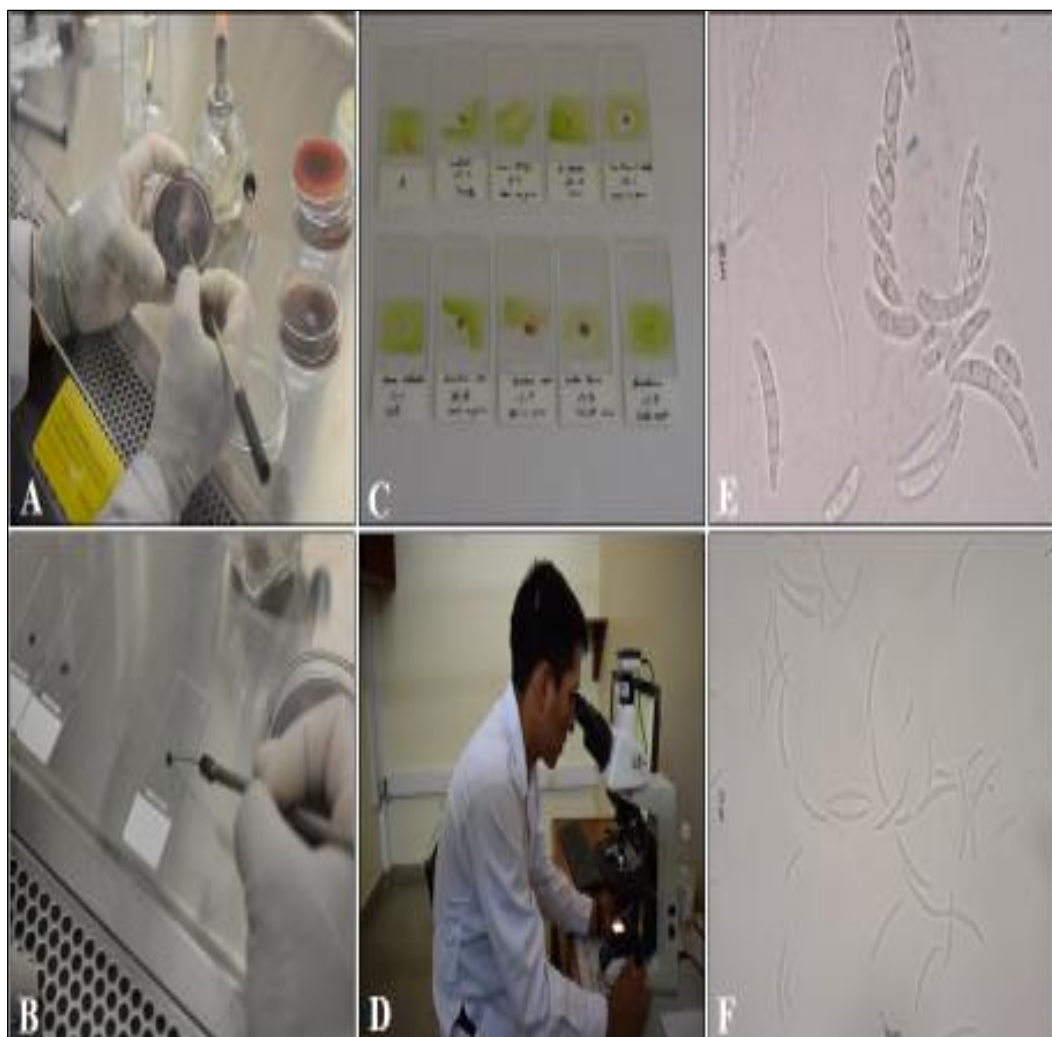
Fueron procesadas un total de 40 muestras obtenidos en los nueve cultivos agrícolas citados anteriormente. Muestras de tejidos desinfectados superficialmente fueron colocados en placas de Petri conteniendo el medio semi-sólido PDA e incubados a temperatura ambiente. Luego de tres a cuatro días de incubación, fueron realizados aislamientos monospóricos para su purificación y caracterización.



**Figura 10:** Proceso de Aislamiento y obtención de cultivos puros. A) Siembra de muestras infestadas en PDA; B) Conservación de placas en la incubadora BOD; C) Cepas puras de *Fusarium* sp., obtenidas de material vegetal infestado en campo; D) Identificación de *Fusarium* spp. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

- **Identificación de género y especies.**

Aislamientos puros fueron caracterizados morfológicamente utilizando un microscopio compuesto Eclipse Nikon con aumentos de 10X, 40X y 100X. Características de micelio, ornamentaciones, conidióforos, microconidias y macroconidias fueron contrastadas con las claves taxonómicas sugeridas por (Barnett y Hunter, 1998), (Snyder y Hansen, 1940), así como la de Nelson P. Toussoun T. Marasas W, (1983); durante esta etapa se contó con la ayuda de una experta en la identificación de especies (Blgo. Karina Rivas).



**Figura 11:** Proceso de Identificación del género *Fusarium* sp. **A)** Extracción micelial de *Fusarium*; **B)** Laminas porta objetos con micelio de *Fusarium*; **C)** Laminas porta y cubre objetos con micelio de *Fusarium* sp.; **D)** Observando las láminas; **E-F)** Macroconidias y microconidias de *Fusarium* sp., Observadas en aumento 40x. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

- **Conservación de cepas puras de *Fusarium* sp., a  $-32^{\circ}\text{C}$ , en medio líquido dentro de tubos criogénicos.**

Cepas puras fueron conservadas a  $-32^{\circ}\text{C}$ , para posteriores estudios. Cepas puras e independientes fueron cultivadas en agitación por 48 horas en medio PDA líquido, después de haber obtenido el cultivo, 1 mL del mismo fue combinado con 1 mL de glicerol al 30%, mezclados homogéneamente y colocados en conservación a  $-32^{\circ}\text{C}$ . (Borges et al., 2009).



**Figura 12:** Proceso de conservación de cepas de *Fusarium* sp. **A)** Shaker; **B)** Materiales para conservar *Fusarium* sp., en medio líquido: glicerol al 30%, frascos criogénicos de 2ml, Pipeta, mechero de alcohol, piseta, alcohol al 70%, Frasco porta criogénicos ; **C)** Matrazes Erlenmeyer de 250 ml con PDL; **D)** Extracción de medio líquido PDL más *Fusarium* sp., **E)** Introduciendo una gota de medio líquido PDL más *Fusarium* sp., dentro del frasco criogénico; **F)** PDL extraído del shaker; **G)** Porta frascos criogénicos, **H)** Descarte de microtubos contaminados con *Fusarium* sp., en hipoclorito de sodio al 1%; **I)** Frascos criogénicos listos para ser guardados dentro del refrigeración a -32 °C. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

- **Preparación del medio de cultivo, para las pruebas de pH.**

Para la preparación de medio se siguió básicamente el mismo protocolo establecido en laboratorio, propuesto por (Mondico, 2009) con modificación; que consiste en: para un litro de medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) se necesitó: 250g de papa variedad Huayro, 20g de dextrosa anhidra grado microbiológico, 15g de agar bacteriológico, vasos de precipitación, agua destilada estéril (ADE), recipiente de plástico, colador, cuchara, cuchillo, frascos de vidrio de 1000 ml y un horno microondas. Con la diferencia que se estandarizó pH: 5; 6

y 7, con tampón MES (ácido 2-etanosulfónico; para que se mantenga fijo el pH) y luego se esterilizó.

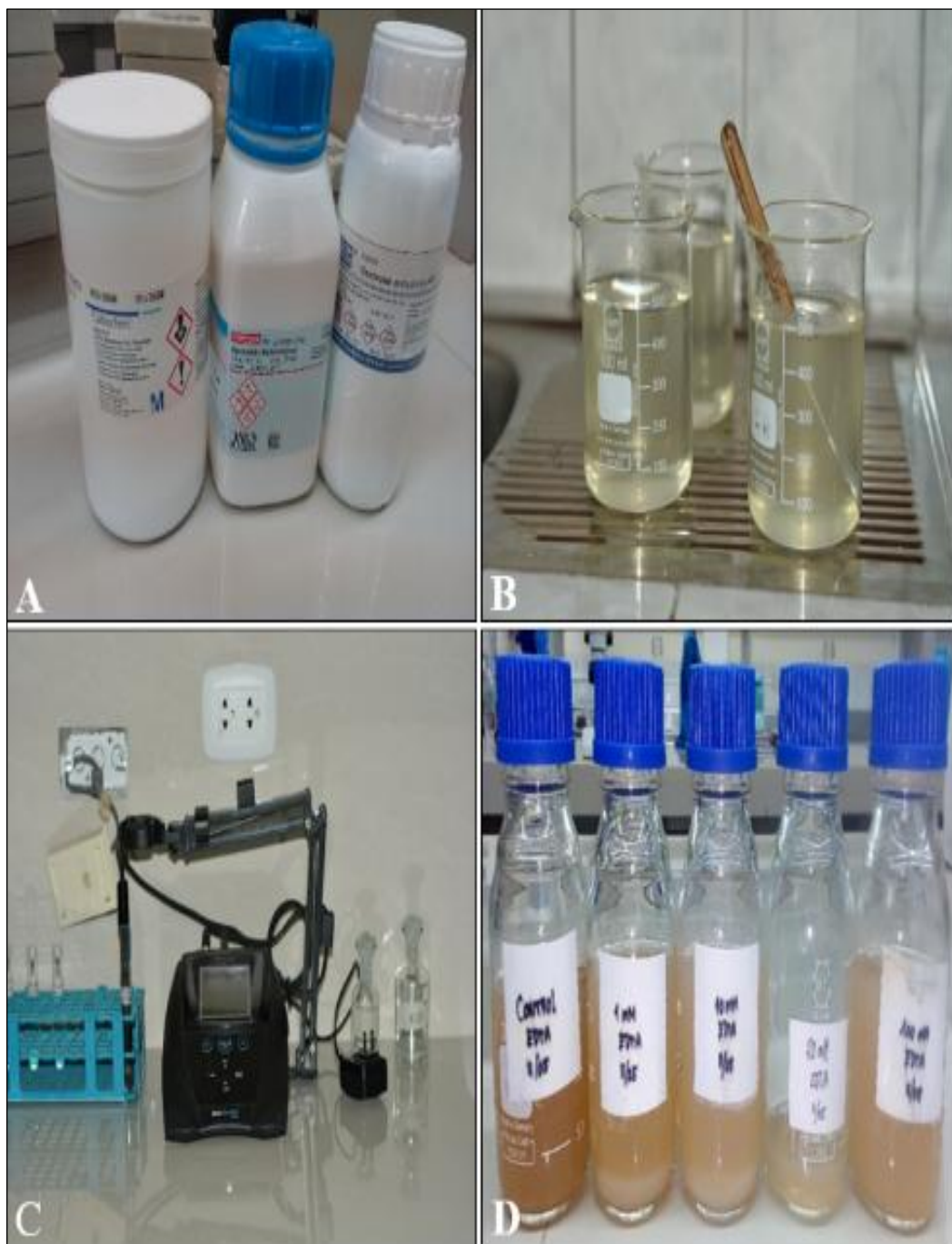


**Figura 13:** Materiales y equipos para la prueba de pH. **A)** Frascos de vidrios de 500 mL Agar 7.5 g, dextrosa 10g, MES o tampón 0.097g., balanza analítica, **B)** Vasos de vidrio más caldo de papa; **C)** Potenciómetro, agitador magnético, Lector de pH, reactivos para bajar o subir el pH (HCl y NaOH); **D)** PDA tamponado, con diferentes rangos de pH (5, 6 y 7). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

- **Preparación de medio de cultivo, para las pruebas de Test de calcio.**

Para la preparación de medio también se siguió el mismo protocolo establecido en laboratorio, descrito en el ítem anterior con la diferencia que se estandarizó a

pH: 6,3, y se agregó un agente quelante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) además de un control sin quelante posterior a ello se esterilizó. Según (Leslie y Summerel, 2006); con modificación.



**Figura 14:** Proceso de preparación de medio de cultivo, para la prueba de calcio; **A)** EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), Agar y Dextrosa; **B)** Frascos de vidrio con caldo de papa; **C)** Peachimetro o medidor de pH; **D)** PDA + EDTA, con diferentes dosis (1mM, 10mM, 20mM, 100mM y el control). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

### 2.9.6. Sistema de Time-lapse.

El time-lapse es una técnica fotográfica que consiste en crear vídeos a partir de una serie de fotografías realizadas a unos intervalos de tiempo determinados. De esta

manera, se puede apreciar mejor la evolución que se produce en determinados procesos muy lentos e imperceptibles al ojo humano, ya que permite visualizarlos más rápidamente y en su totalidad.

En estos sistemas, las muestras biológicas se cultivan directamente en un dispositivo que captura imágenes a intervalos de tiempo preprogramados, las cuales serán posteriormente procesadas y transformadas en una secuencia de vídeo, a partir de la cual se podrán extraer datos morfológicos, dinámicos y cuantitativos (Wong et al., 2013).

La configuración de la plataforma para el registro de imágenes fue configurada de la siguiente manera.

- Se obtuvo el *Script* libre de la siguiente dirección: <https://www.autoitscript.com/site/autoit/>. Después de instalarlo fue realizada la programación del tiempo en 300 000 milisegundos, equivalente a 5 minutos), *de igual manera en el mismo script se colocó el nombre del software con quien podría tener la conexión (para nuestro caso vinculamos al software ZEN.*
- La computadora que contenía el script configurado fue acoplada a la cámara del estereomicroscopio *Carls Zeis* modelo *Stemi 508*.
- Enseguida fue ejecutado el *software ZEN* (propio del estereomicroscopio), hasta conseguir visualizar en el computador los micelios presentes en el campo de observación. El campo seleccionado fue modulado hasta obtener un buen foco.
- Obtenido un buen enfoque de la imagen, fue ejecutado el *script* para el registro de imágenes a cada cinco minutos. Todas las imágenes adquiridas en formato *tif* fueron almacenadas en un disco externo, previa configuración en el mismo *software ZEN.*

## 2.10. Variables evaluadas

### 2.10.1. Caracterización de cepas *Fusarium*.

Se caracterizaron 18 cepas *Fusarium*, las cuales previamente fueron identificadas a nivel de especie. La caracterización consistió en reactivar en medio de cultivo PDA cada cepa identificada (que se encontraba en conservación), y poner a incubación en 25 °C en una cámara de crecimiento, durante un lapso de 4 a 15 días (dependiendo de la especie), posteriormente se tomaron fotografías de la placa Petri, conteniendo el cultivo

desarrollado, luego se tomaron fotografías de las estructuras reproductivas, como: hifas, macro y micro conidias y clamidosporas (si hubieran) de cada cepa, todo esto con la ayuda de un microscopio trinocular con cámara incorporada.

### **2.10.2. Efecto del pH, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium sp.***

Para este experimento, se consideró en evaluar el crecimiento micelial en tres condiciones diferentes de pH (5, 6 y 7) los mismos que fueron inducidas en medio PDA y estabilizada por el agente tampón MES (ácido 2-etanosulfónico). Las evaluaciones se llevaron a cabo a las 36 horas, después de haber realizado la incubación de las cepas puras, en los diferentes rangos de pH, posterior a ello se programó las tomas fotografías automáticas cada 5 minutos hasta cumplir los 30 minutos previstos por tiempo de evaluación, para cada muestra; mediante la manipulación de un *script* "Autoit" en un estéreo microscopio con cámara incorporado a una laptop. Al final se tuvieron 7 fotografías por tiempo de evaluación, en la cual una hifa representó una repetición, obteniendo gran cantidad de hifas que fueron secuenciales en su desarrollo. Al final se registró el crecimiento en  $\mu\text{m}$  por cada cepa estudiada.

### **2.10.3. Efecto de calcio sobre el crecimiento micelial de *Fusarium sp.***

Para determinar el efecto del Calcio, se consideró fundamental en evaluar el crecimiento micelial en cuatro condiciones diferentes de calcio, aplicando agente quelante EDTA a razón de (1; 10; 20 y 100 mM) más un control sin quelante, la cual fue inducida en medio PDA. Las evaluaciones se llevaron a cabo a las 36 horas después haber transcurrido la incubación de las cepas puras, en las diferentes concentraciones de EDTA, tomando fotografías automáticas cada 5 minutos hasta cumplir los 30 minutos previstos por tiempo de evaluación para cada muestra; mediante la manipulación de un *script* "Autoit" en un estéreo microscopio con cámara incorporado a una laptop. Al final se tuvieron 7 fotografías por tiempo de evaluación, en la cual una hifa representó una repetición, obteniendo gran cantidad de hifas que fueron secuenciales en su desarrollo. Al final se registró el crecimiento en  $\mu\text{m}$  por cada cepa estudiada.



## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cepas puras de *Fusarium* sp., obtenidas a través de cultivos monospóricos fueron caracterizados morfológicamente hasta conseguir su identificación como especies, mediante el uso de claves taxonómicas (Leslie y Summerell et al., 2006); Bernet H.L. y Hunder B., (1998); Nelson et al., (1983); Snyder, Wc., Hansen H.N (1940); a fin de identificar especies. En su totalidad se ha conseguido la identificación de 7 especies *Fusarium* aislados de nueve cultivos agrícolas importantes en la Región San Martín, detallados a continuación.

**Tabla 3:**

*Identificación de especies Fusarium spp., obtenidos en nueve cultivos agrícolas recolectados en cinco provincias en la Región San Martín.*

Código de micoteca	Cultivos	Material vegetal extraído	Especies	Lugar de colecta
M11C2	Cacao	Tallo y raíz	<i>Fusarium equiseti</i>	Shucshuyacu – El Dorado
M11C3		Tallo y raíz	<i>Fusarium solani</i>	Shucshuyacu – El Dorado
M33C1	Sacha inchi	Raíz	<i>Fusarium moniliforme</i>	Aucaloma – Lamas
M32C1		Tallo y raíz	<i>Fusarium solani</i>	Aucaloma – Lamas
M28C1		Raíz	<i>Fusarium solani</i>	Pachilla – Lamas
M12C1	Ají dulce	Raíz	<i>Fusarium moniliforme</i>	Leticia – El Dorado
M15C1	Arroz	Granos	<i>Fusarium lateritium</i>	Vainilla - Bellavista
M19C2		Granos	<i>Fusarium lateritium</i>	San Hilarión- Picota
M38C1	Café	Raíz	<i>Fusarium solani</i>	Aucaloma – Lamas
M39C1		Raíz	<i>Fusarium solani</i>	Aucaloma – Lamas
M3C2		Pseudotallo	<i>Fusarium moniliforme</i>	Aucaloma – Lamas
M6C4	Plátano	Raíz	<i>Fusarium solani</i>	Shucshuyacu – El Dorado
M37C1	Frejol	Hipocótilo	<i>Fusarium moniliforme</i>	Limón - Bellavista
M36C1		Hipocótilo	<i>Fusarium moniliforme</i>	Aucaloma – Lamas
M31C1	Maíz	Granos	<i>Fusarium solani</i>	Utcubamba – Bellavista
M14C1		Granos	<i>Fusarium rigidiuscula</i>	San Juan de Talliquihui - El Dorado.
M2C5	Culantro	Hipocótilo y Raíz	<i>Fusarium tricinctum</i>	Sector: Bijao - San Martín
M2C2		Hipocótilo y Raíz	<i>Fusarium episphaeria</i>	Sector: Bijao - San Martín

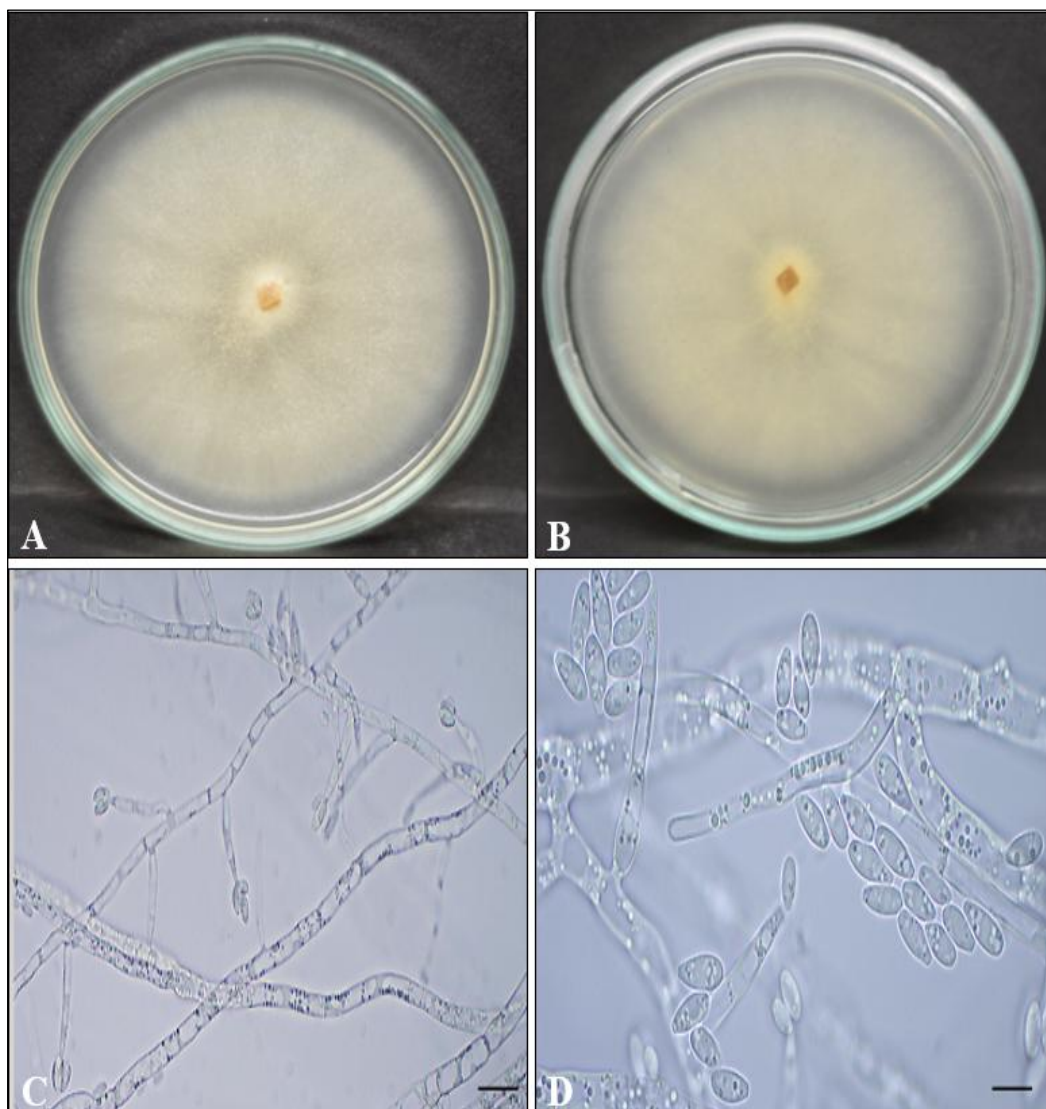
(Fuente: Elaboración propia).

### 3.1. Proceso de caracterización morfológica de *Fusarium* spp.

#### 3.1.1. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Cacao (*Theobroma cacao* L.).

##### A. Cepa M11-C2: *Fusarium equiseti*

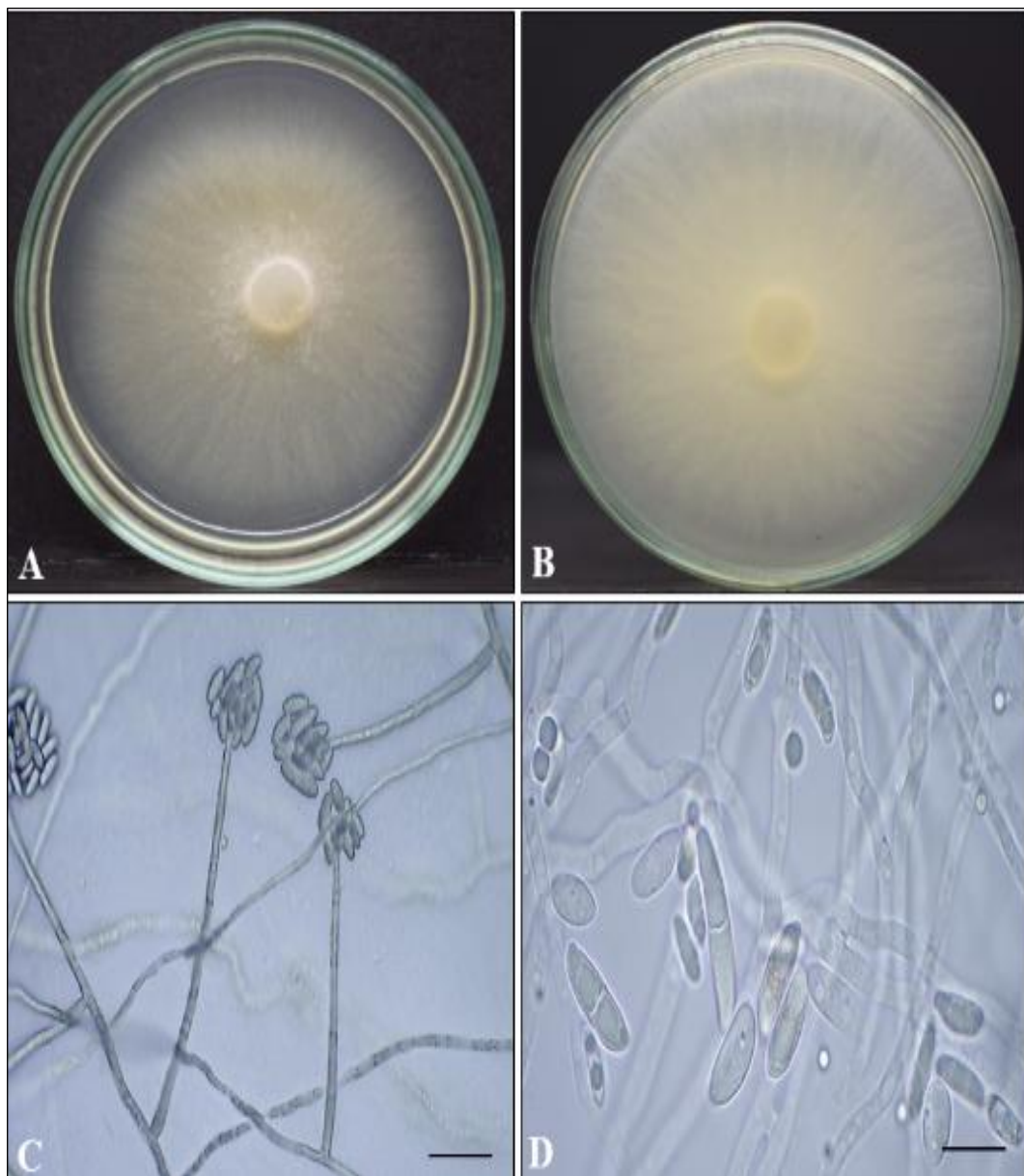
##### Características celulares de la colonia



**Figura 15:** *Fusarium equiseti*, obtenidas en el cultivo de cacao, esta cepa pura tardo 4 días en crecer por toda la placa, tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso de la placa, desarrollo de la colonia con crecimiento rápido, de color blanco cremoso; de apariencia lisa y sin pigmentación del medio; **B)** Reverso de la placa, desarrollo micelial con coloración blanco cremosa; **C)** Presencia de monophialides ramificados y no ramificados, conidias unidas a fiálides, observada en aumento de 100x, escala “barra negra” = 3  $\mu\text{m}$ ; **D)** Los microconidios pueden estar presentes en el micelio aéreo y son de forma ovoide a en forma de coma, estructuras conidiales, presencia de fiálides, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

**B. Cepa M11-C3: *Fusarium solani***

**Características celulares de la colonia**

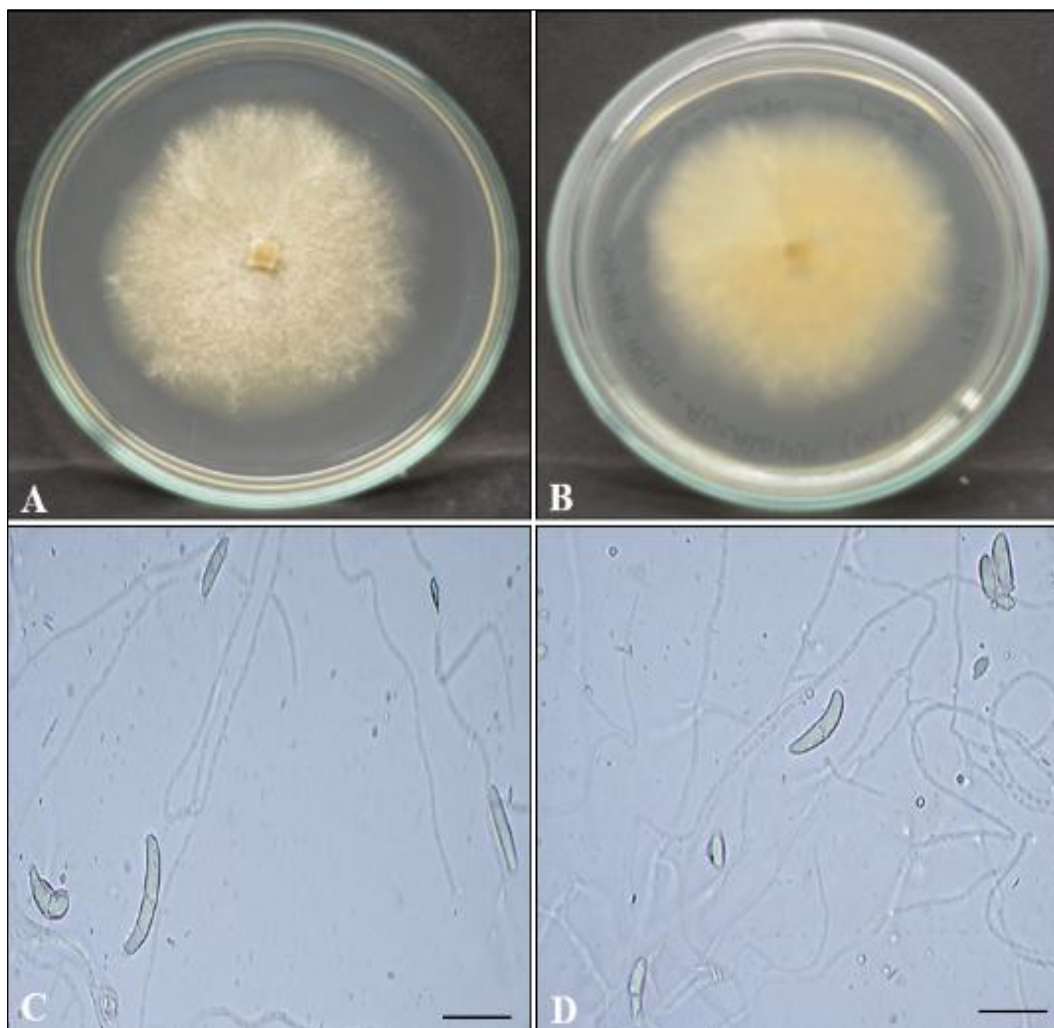


**Figura 16:** *Fusarium solani*, obtenida en el cultivo cacao; esta cepa pura tardo 4 días en crecer por toda la placa, tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso de la placa, desarrollo de la colonia con micelio liso, de color crema y de crecimiento rápido, sin pigmentación; **B)** Reverso de la placa, desarrollo micelial con coloración crema; **C)** Macroconidias, elípticas, conidióforos alargados, presencia de hifas septadas, y microconidias unidas a las fiálides, aumento 40x, escala “barra negra” 10 $\mu$ m. observadas en aumento de 40x, escala negra= 10  $\mu$ m; **D)** Macroconidias y microconidias, observadas en aumento 100x, escala “barra negra” = 3  $\mu$ m. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

**3.1.2. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.).**

**A. Cepa M32-C1: *Fusarium solani***

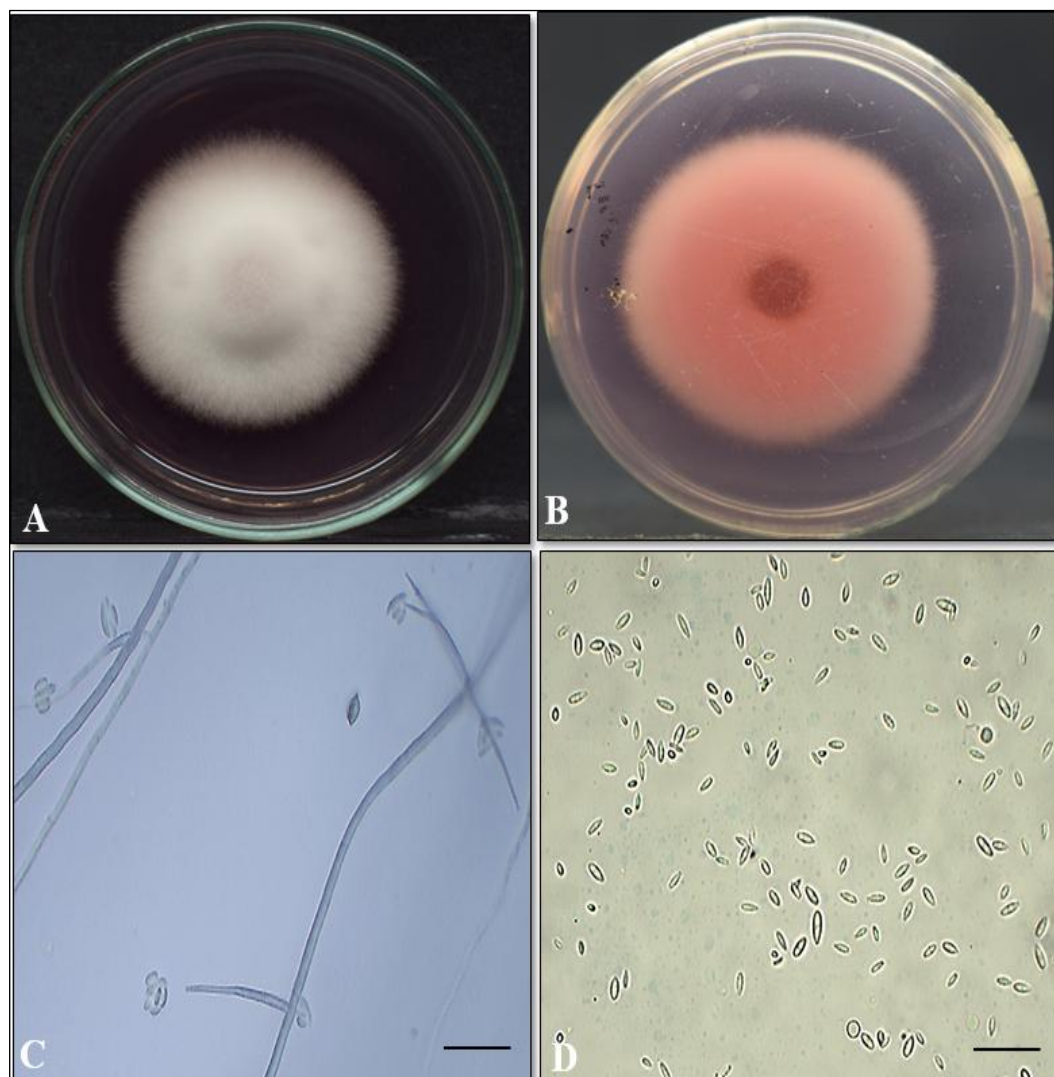
**Características celulares de la colonia**



**Figura 17:** *Fusarium solani* obtenida en el cultivo de sachá inchi; esta cepa pura tarda en crecer 6 días por casi toda la placa, tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso de la placa, desarrollo de la colonia con micelio semi algodónoso, de crecimiento lento y color crema blanquecina; **B)** Reversa de la placa, desarrollo micelial con coloración crema; **C)** macroconidias y microconidias elípticas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** presencia de macroconidias y microconidias, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

## B. Cepa M33-C1: *Fusarium moniliforme*

### Características celulares de la colonia

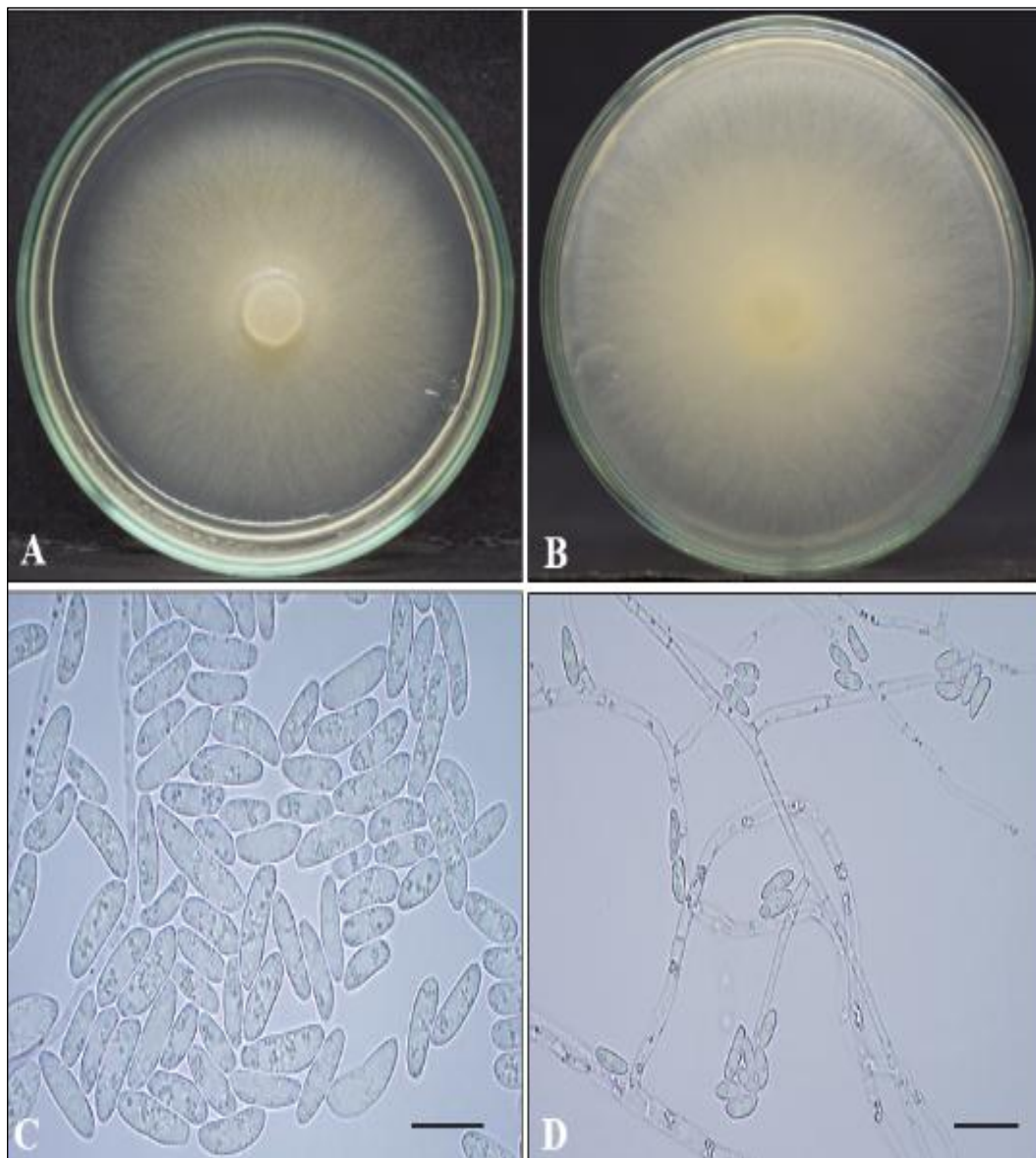


**Figura 18:** *Fusarium moniliforme*, obtenida en cultivo de Sacha inchi; esta cepa pura tardo en crecer 7 días por casi toda la placa, tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia con micelio algodonoso, de color blanco, produjo una pigmentación de color vino en el medio de cultivo; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración rosada; **C)** Fialides y microconidias, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** No se presentaron clamidosporas, si se presentaron microconidias y macroconidias, las macroconidias se caracterizaron por ser alargadas y angosta, de paredes delgadas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

### 3.1.3. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Ají dulce (*Capsicum* spp.).

#### A. Cepa M28-C1: *Fusarium solani*

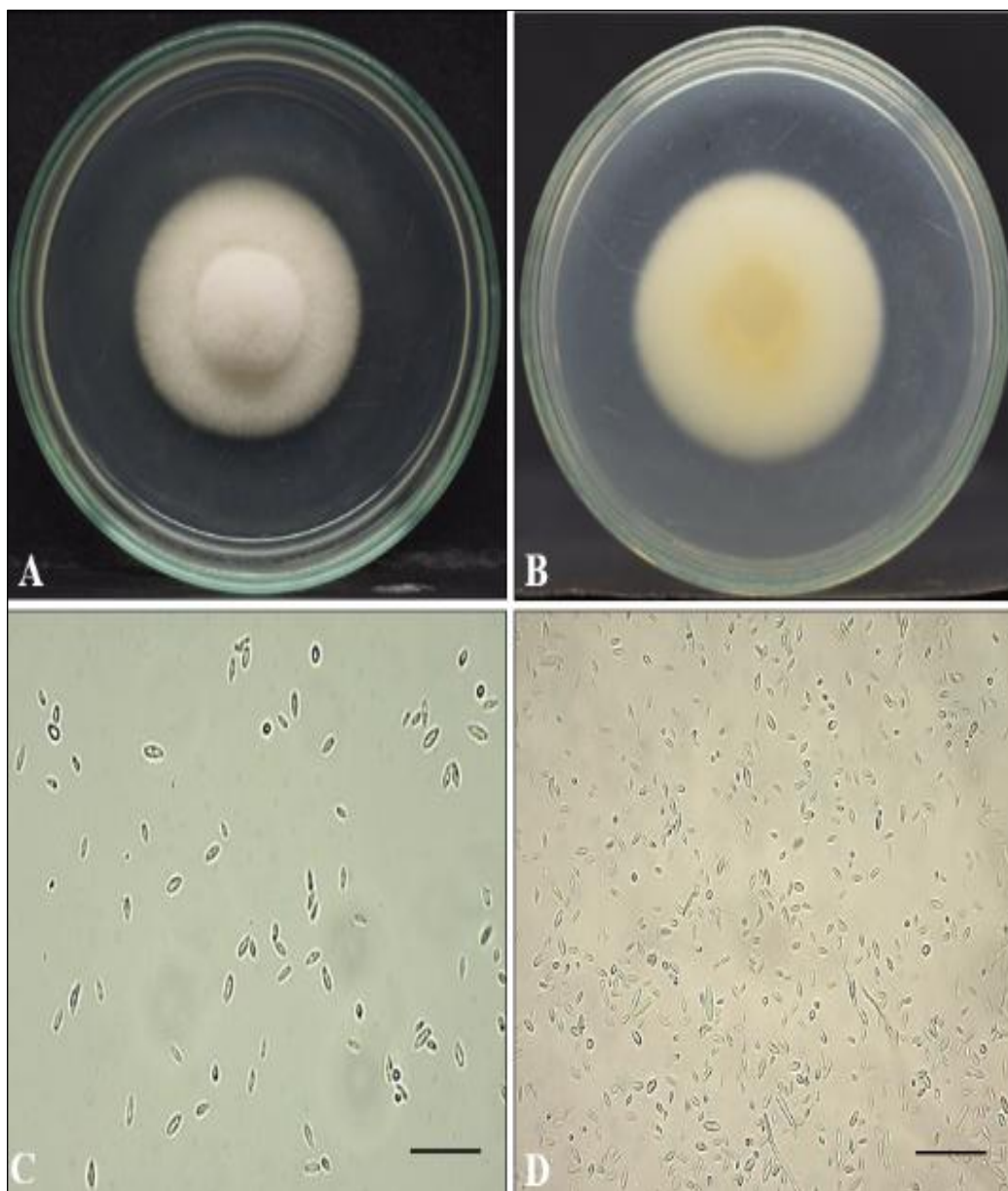
#### Características celulares de la colonia



**Figura 19:** *Fusarium solani*, obtenida en cultivo de Ají dulce; esta cepa pura tarda en crecer 6 días por toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia de crecimiento rápido, con micelio liso de color crema; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración cremosa; **C)** Macroconidias y microconidias elípticas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Macroconidias y microconidias agrupadas en fiálides, aumento 40x, escala “barra negra” = 10. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

## B. Cepa M12-C1: *Fusarium moniliforme*

### Características celulares de la colonia

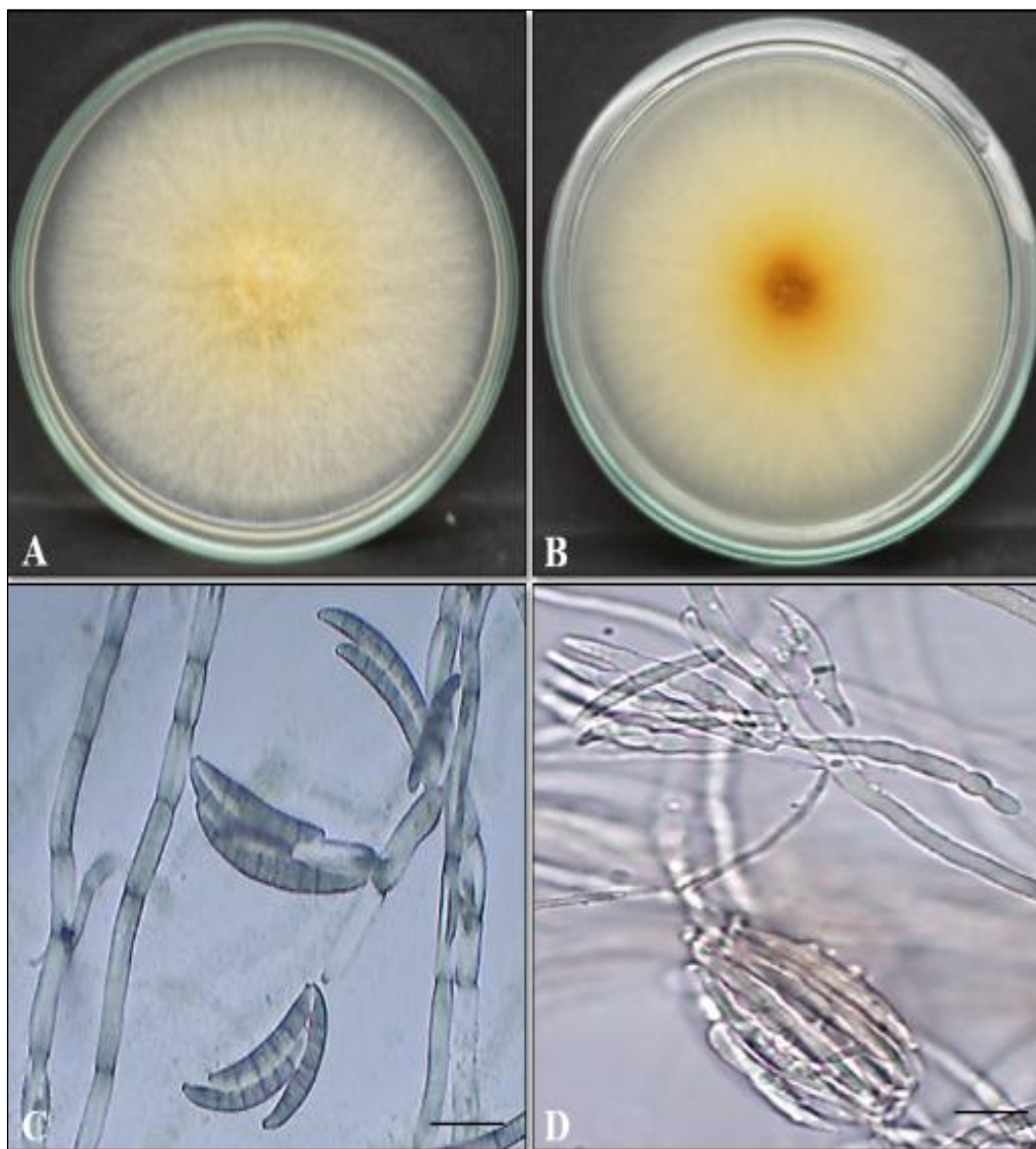


**Figura 20:** *Fusarium moniliforme*, obtenida en cultivo de Ají dulce; esta cepa pura tardo en crecer 6 días solo un poco, dentro del medio de cultivo, tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia de crecimiento lento, con micelio algodonoso de color blanco; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración amarillo cremoso; **C)** Conidias pequeñas y alargadas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10 µm; **D)** Macroconidias y microconidias pequeñas y alargadas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10 µm; macroconidias y microconidias alargadas, aumento 40x, escala “barra negra” = 3 µm. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

### 3.1.4. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Arroz (*Oryza sativa*).

#### A. Cepa M15-C1: *Fusarium lateritium*

##### Características celulares de la colonia

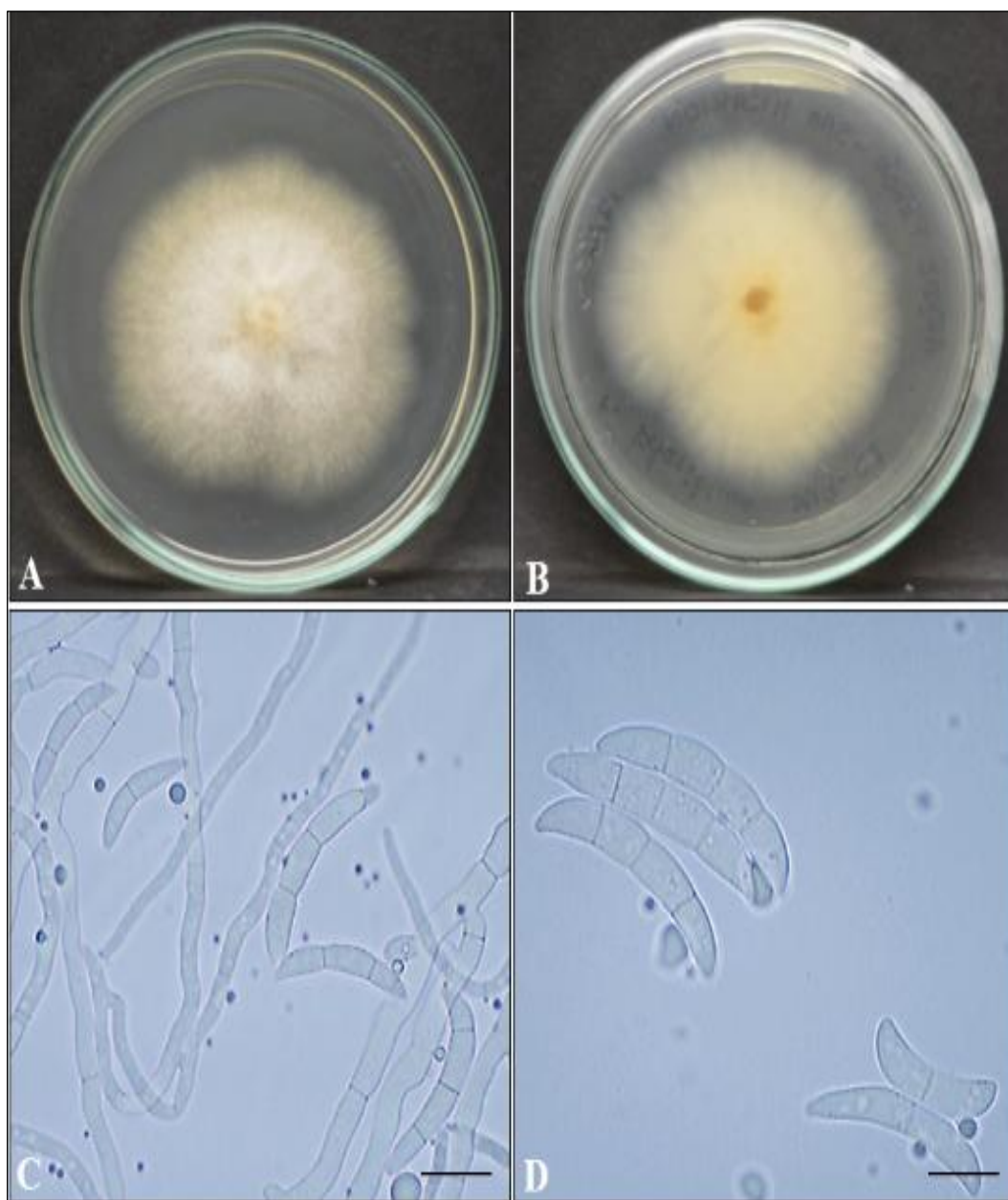


**Figura 21:** *Fusarium lateritium*, obtenida en cultivo de Arroz - var. Esperanza; esta cepa pura tarda en crecer 5 días por toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia de crecimiento rápido, con micelio algodonoso de color blanco cremoso a los costados y amarillo en el centro; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración crema en los extremos y en el centro amarillo naranja; **C)** Macroconidias alargadas con septas definidas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Conidias alargadas y agrupadas con presencia de bulbos sin presencia de microconidias, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



## B. Cepa M19-C2: *Fusarium lateritium*

### Características celulares de la colonia

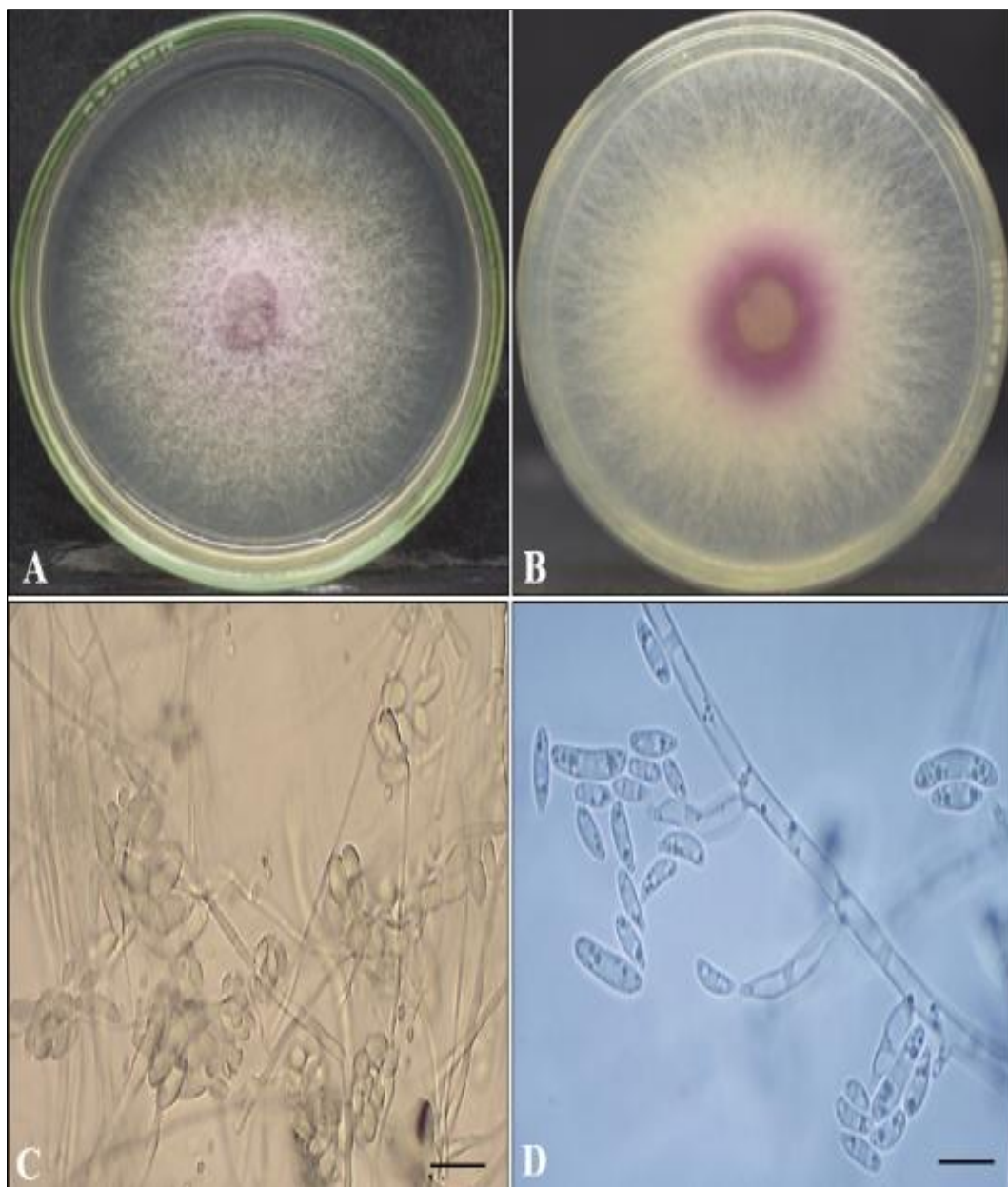


**Figura 22:** *Fusarium lateritium*, obtenida en cultivo de arroz var. Feron; esta cepa pura tarda en crecer 7 días en casi toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia con micelio algodonoso, de crecimiento radial con divisiones alrededor del centro, bordes de color crema y al centro blanco amarillento; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración crema y en el centro marrón blanquecino; **C)** Presencia solo de macroconidias alargadas, con ondulaciones pronunciadas en las septas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Macroconidias alargada con ondulaciones pronunciadas en septas, aumento 100x, escala “barra negra” = 3  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

### 3.1.5. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Café (*Coffea arabica* L.).

#### A. Cepa M38-C1: *Fusarium solani*

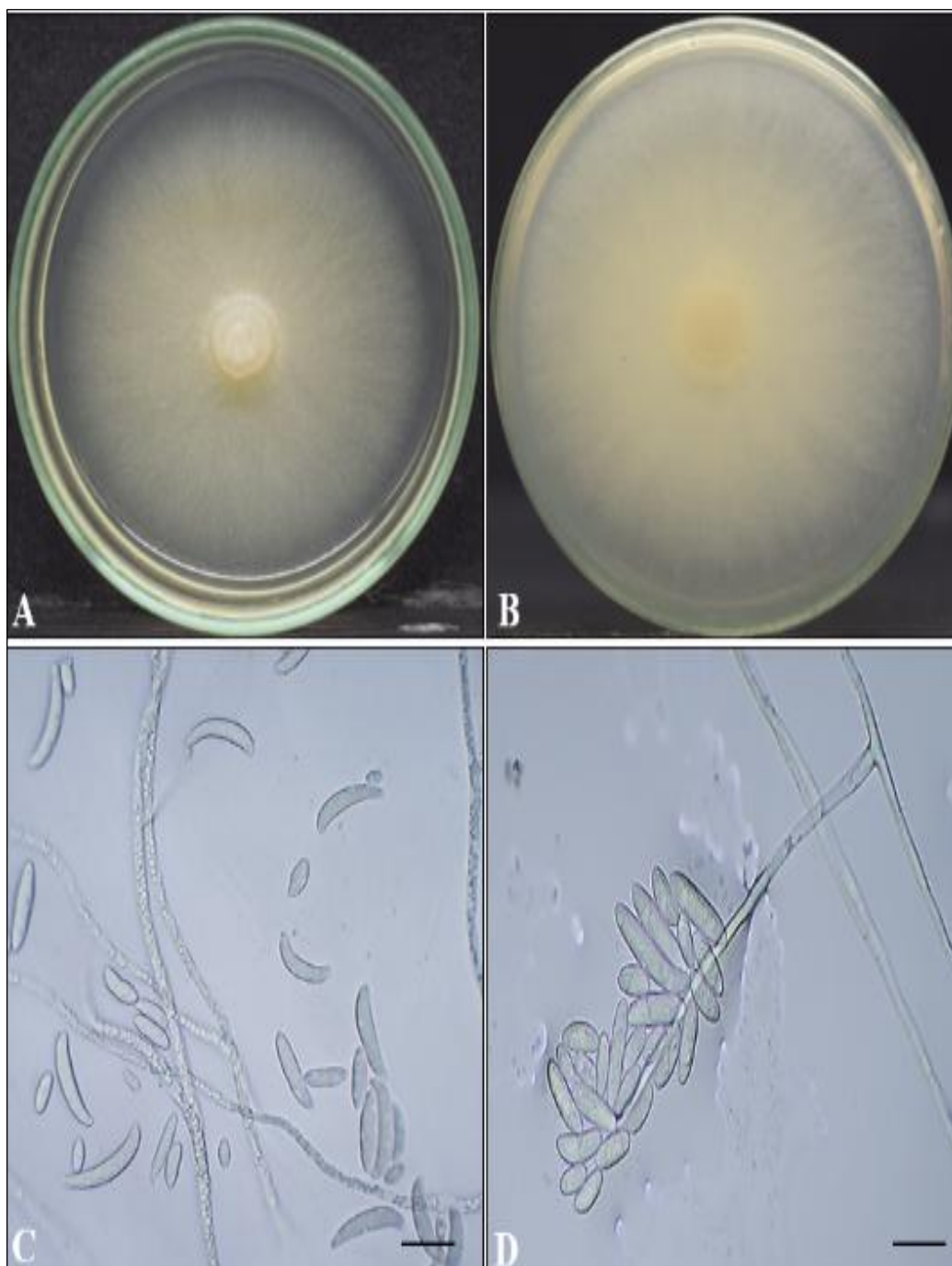
##### Características celulares de la colonia



**Figura 23:** *Fusarium solani*, obtenida en cultivo de café; esta cepa pura tarda en crecer 4 días por toda la placa, tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia con micelio algodonoso de color crema a los costados y violeta en el centro, de crecimiento rápido; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración crema y en el centro de color violeta; **C)** Conidias elípticas agrupadas en masas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu$ m; **D)** Macroconidias y microconidias elípticas, pequeñas y agrupadas en una fiálide en forma de falsas cabezas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu$ m. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

**B. Cepa M39-C1: *Fusarium solani***

**Características celulares de la colonia**

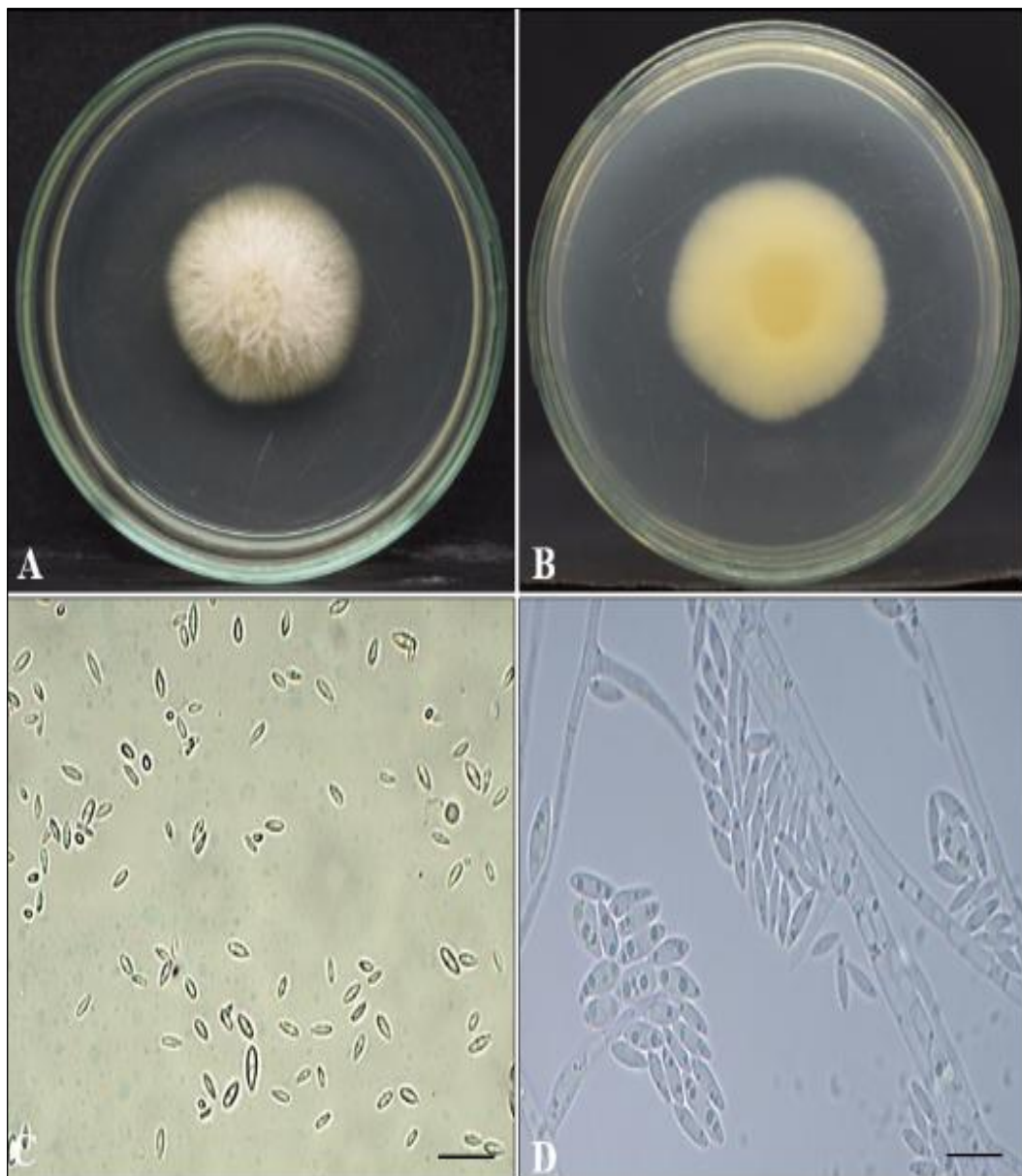


**Figura 24:** *Fusarium solani*, obtenida en cultivo de café; esta cepa pura tarda en crecer 7 días por toda la placa, tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia con micelio lizo de color crema, de crecimiento rápido; **B)** Reverso, desarrollo micelial con coloración crema; **C)** Macroconidias y microconidias elípticas agrupadas en masas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Conidias elípticas agrupadas en fiálides, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

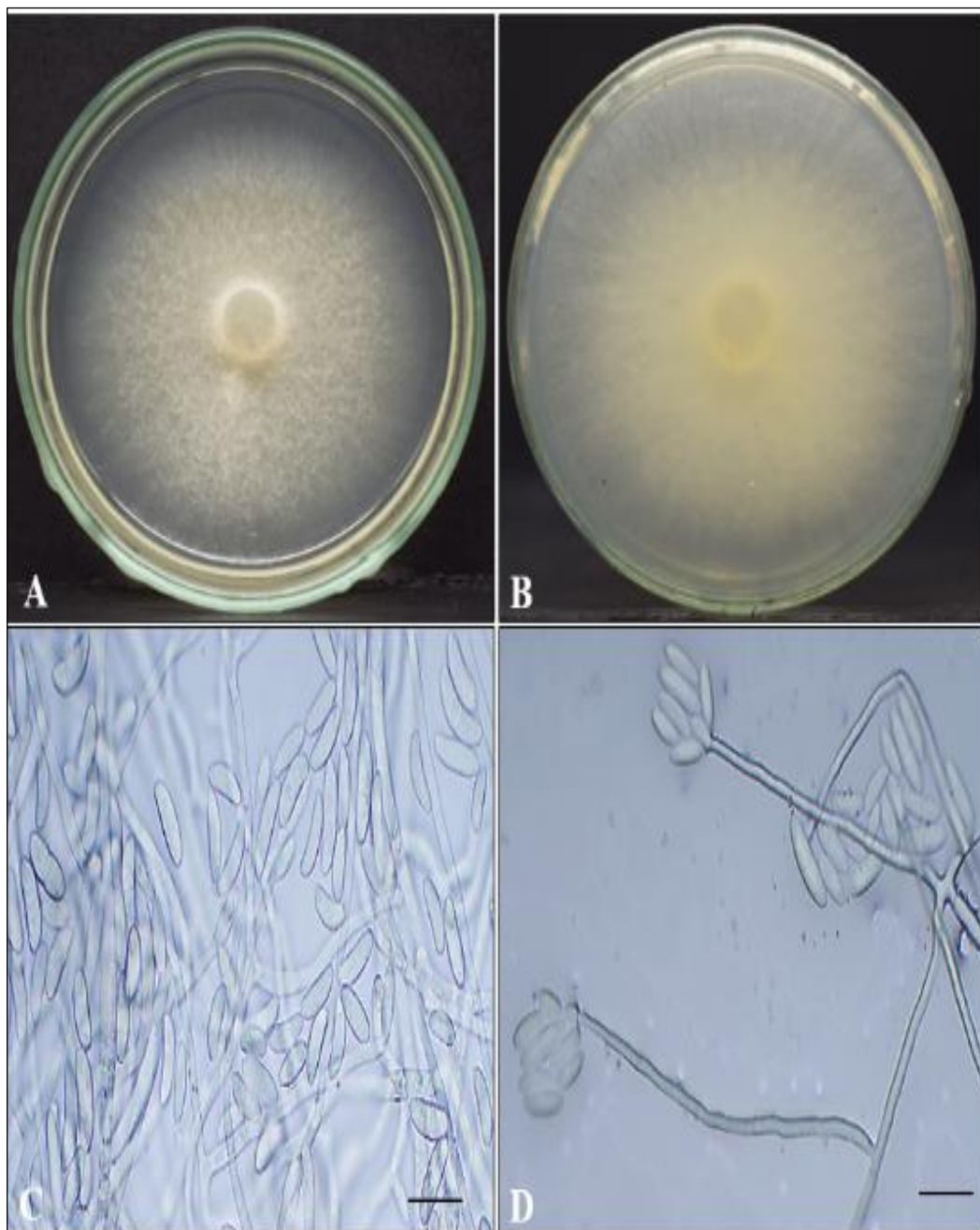
### 3.1.6. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Plátano (*Musa* spp.).

#### A. Cepa M3-C2: *Fusarium moniliforme*

##### Características celulares de la colonia



**Figura 25:** *Fusarium moniliforme*, obtenida en cultivo de Plátano; esta cepa pura tarda en crecer 5 días, solamente un poco dentro del medio de cultivo tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia de crecimiento lento, micelio de textura algodonosa de color blanco cremoso; **B)** Reverso, desarrollo micelial con coloración cremosa; **C)** Conidias pequeñas y alargadas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10 µm; **D)** Macroconidias y microconidias alargadas y agrupadas en fialides, aumento 100x, escala “barra negra” = 3 µm. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

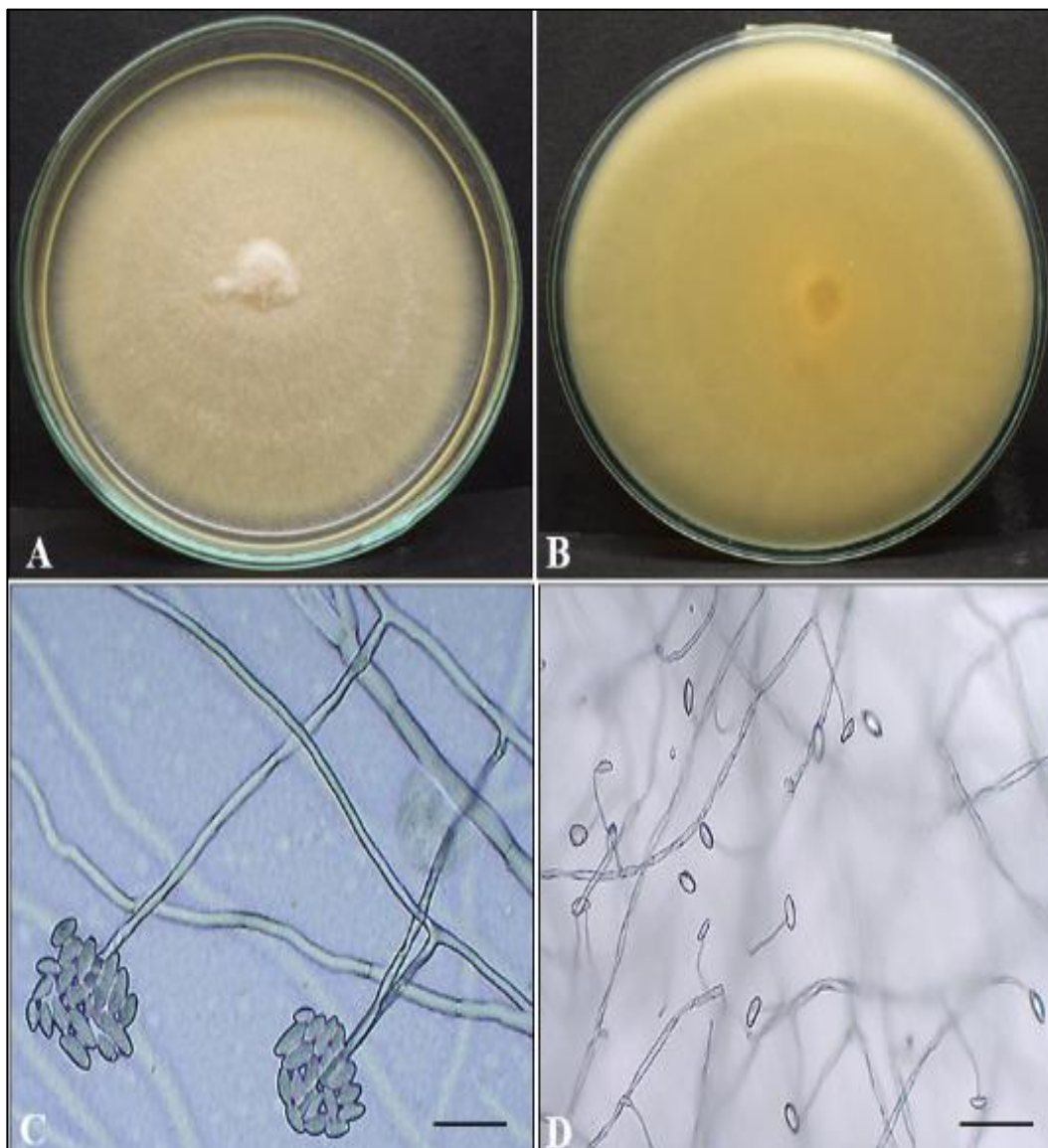
**B. Cepa M6-C4: *Fusarium solani*****Características celulares de la colonia**

**Figura 26:** *Fusarium solani*, obtenida en cultivo de Plátano; esta cepa pura tarda en crecer 7 días por toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia de crecimiento rápido, micelio de textura algodonosa de color blanco cremoso; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración cremosa; **C)** Presencia de macroconidias y microconidias, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Hifas sin septos, microconidias agrupadas en fialides, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

### 3.1.7. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Frijol Huasca Poroto (*Phaseolus* sp.).

#### A. Cepa M37-C1: *Fusarium moniliforme*

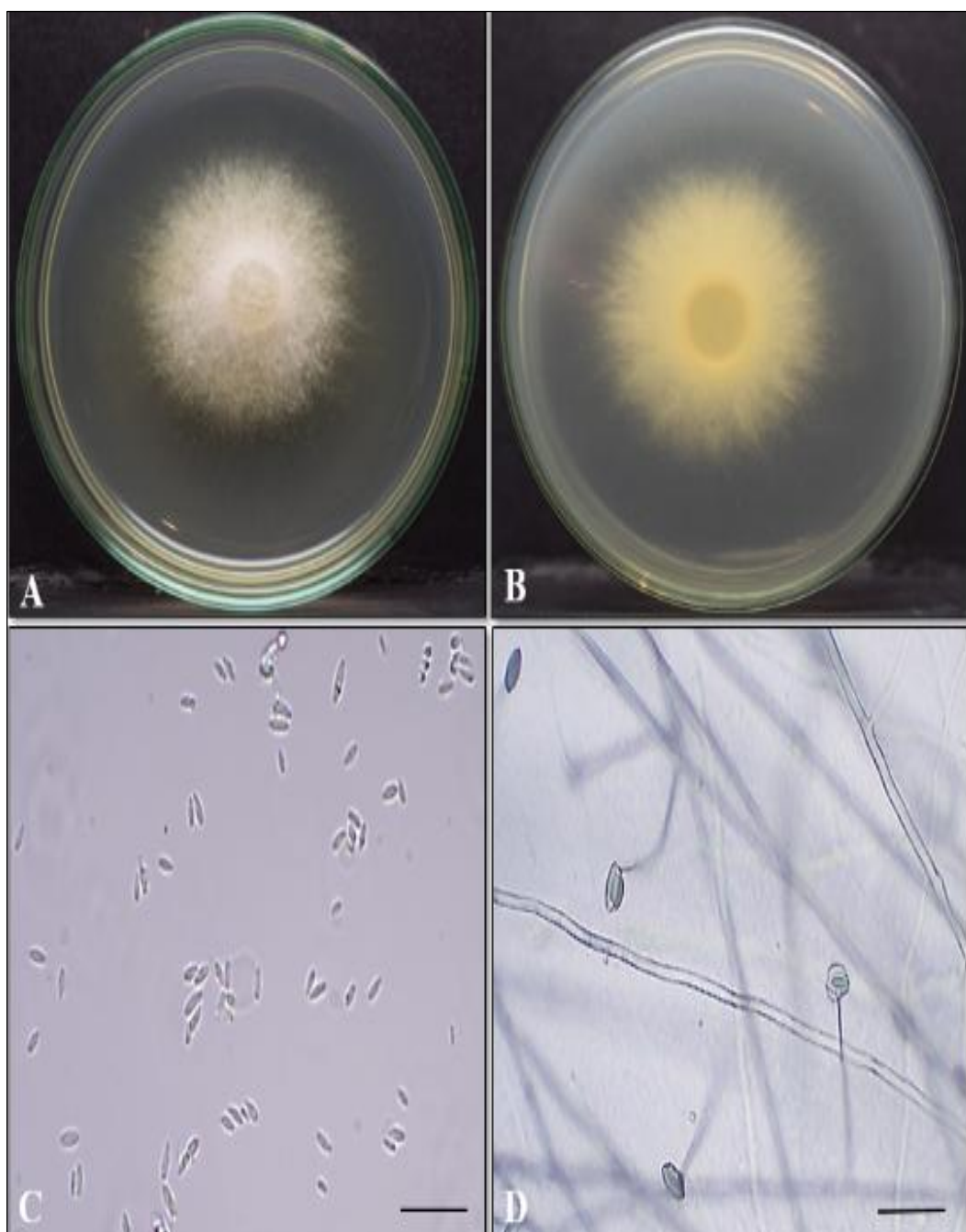
##### Características celulares de la colonia



**Figura 27:** *Fusarium moniliforme*, obtenida en cultivo de Frijol huasca poroto; esta cepa pura tarda 6 días en crecer por toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, colonia de micelio amarillo cremoso; **B)** Reverso, de micelio amarillo cremoso; **C)** Presencia de macroconidias y microconidias unidas a fiálides agrupadas en falsas cabezas, aumento 100x, scala “barra negra” = 3  $\mu\text{m}$ ; **D)** Monofialides con cadena de microconidia, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

## B. Cepa M36-C1: *Fusarium moniliforme*

### Características celulares de la colonia

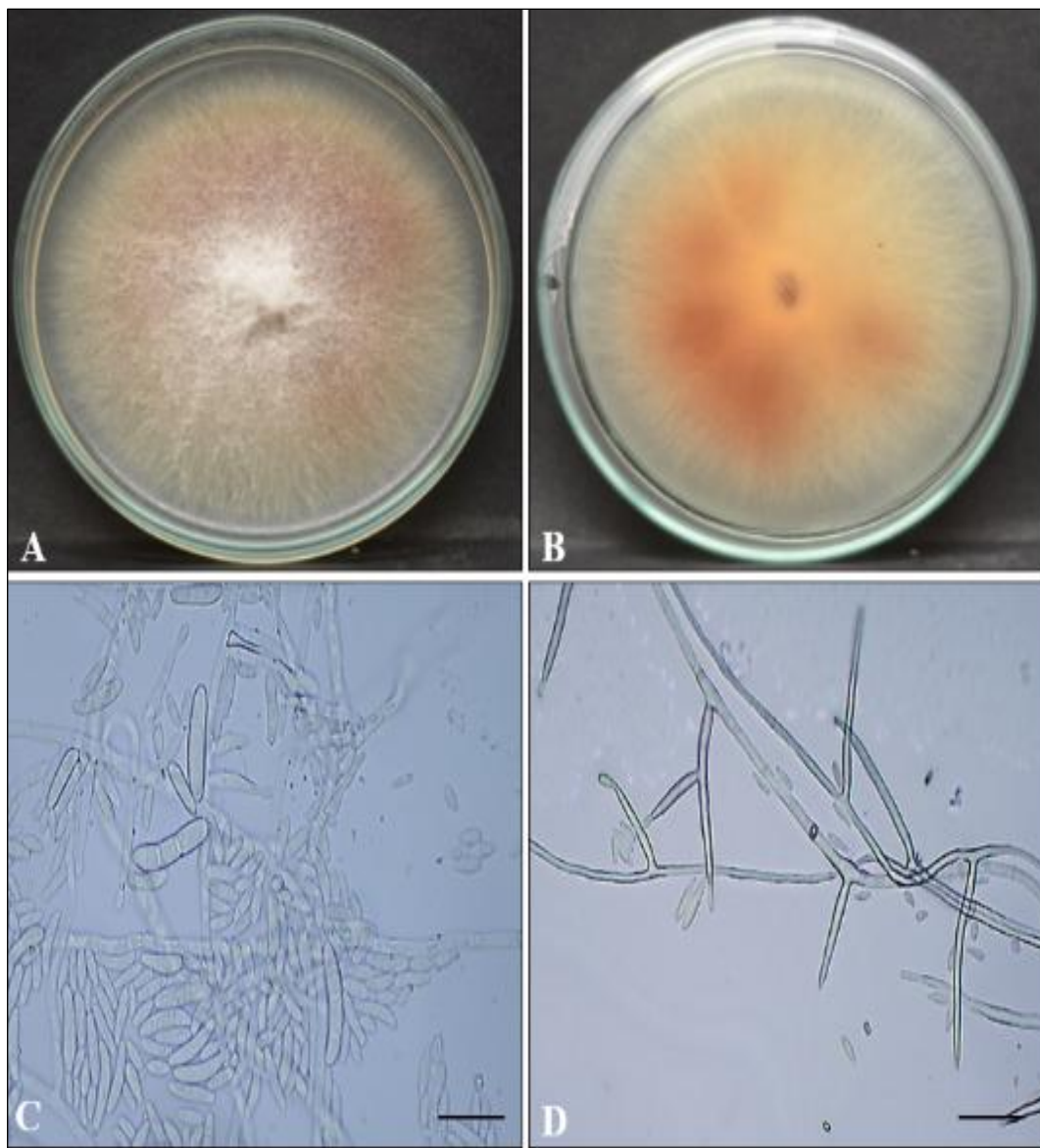


**Figura 28:** *Fusarium moniliforme*, obtenida en cultivo de Frijol Huasca poroto; esta cepa pura tarda en crecer 6 días en casi toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia con micelio algodonoso, de color crema blanquecino con crecimiento lento; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración de amarillo a crema; **C)** Presencia de conidias, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Presencia de macroconidias y microconidias unidas en fíalide, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

**3.1.8. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de cultivo de Maíz amarillo duro en grano (*Zea mays* L.).**

**A. Cepa M31-C1: *Fusarium solani***

**Características celulares de la colonia**

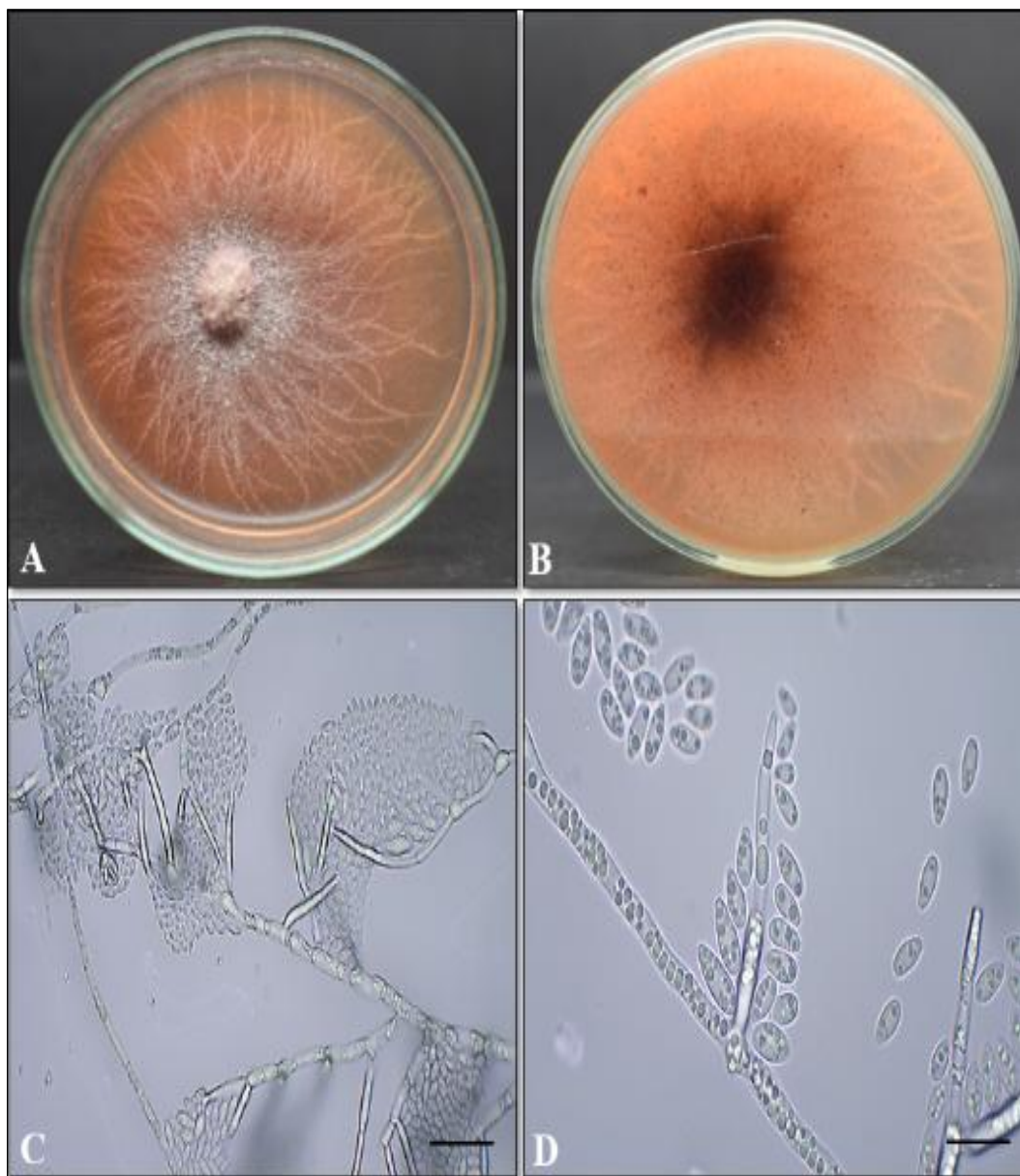


**Figura 29:** *Fusarium solani*, obtenida en cultivo de Maíz amarillo duro en grano; esta cepa pura tarda en crecer 6 días, por toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia con micelio semi algodónoso, de color blanco, crema a naranja, con crecimiento rápido; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración de amarillo naranja a crema; **C)** macroconidias y microconidias elípticas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Agrupación de conidias en masas y unidas a fiálides, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



## B. Cepa M14-C1: *Fusarium rigidiuscula*

### Características celulares de la colonia



**Figura 30:** *Fusarium rigidiuscula*, obtenida en cultivo de Maíz amarillo duro en grano; esta cepa pura tarda en crecer 6 días por toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, presentó micelio de color naranja en toda la placa con PDA, crecimiento rápido, con prolongaciones blancas y textura semi algodónosa; **B)** Reverso, micelio concéntrico de coloración naranja a los costados y en el centro marrón; **C)** Presencia de macroconidias y microconidias elípticas agrupadas a una fiálide, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Conidias unidas a una fiálide, y agrupados en falsas cabezas, aumento 100x, escala “barra negra” = 3  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

### 3.1.9. Cepas *Fusarium* obtenidas de tejidos vegetativos de Culantro castilla (*Coriandrum sativum* L.).

#### A. Cepa M2-C5: *Fusarium tricinctum*

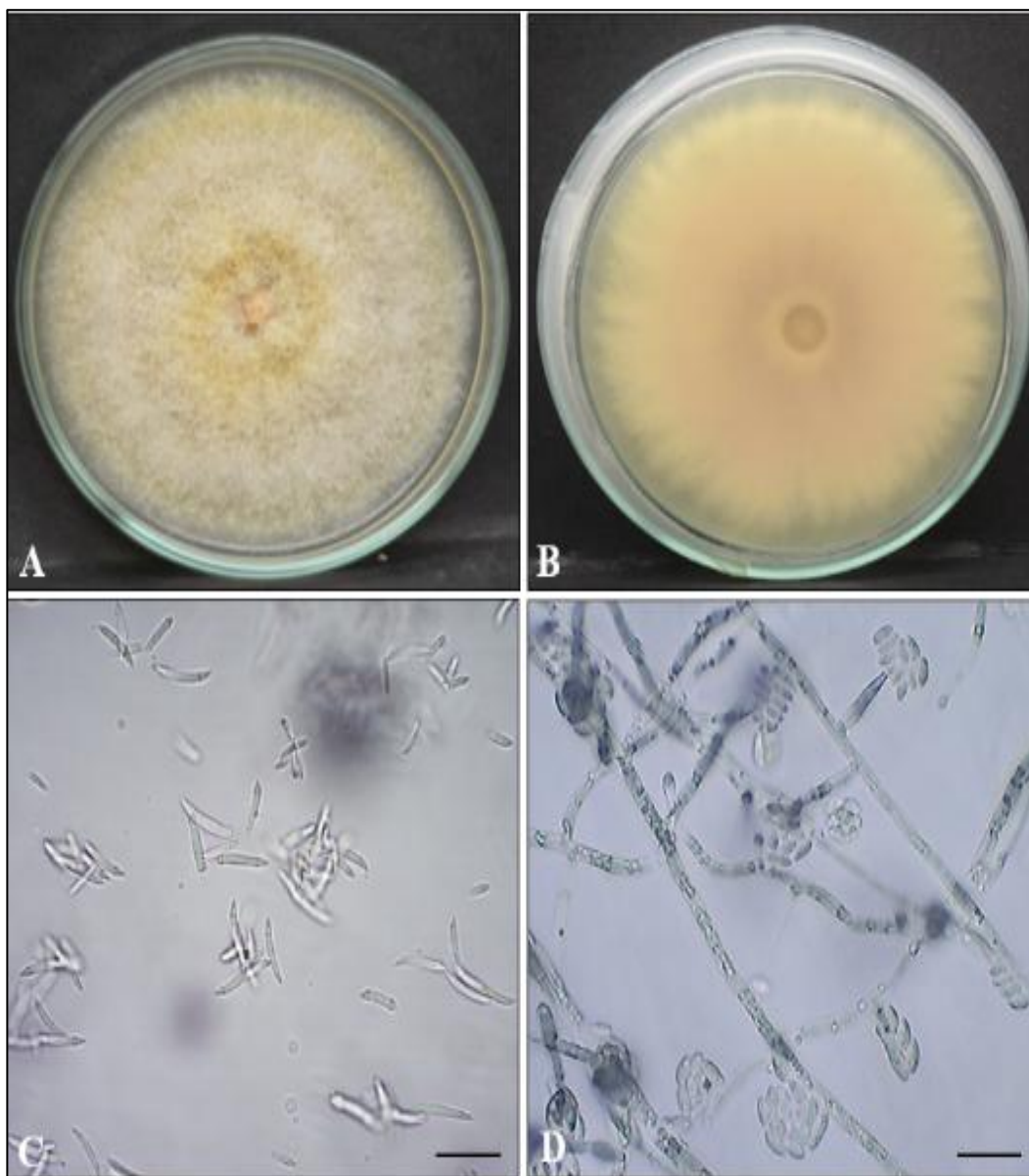
#### Características celulares de la colonia



**Figura 31:** *Fusarium tricinctum*, obtenida en cultivo de Culantro castilla; esta cepa pura tarda en crecer 6 días, por toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Colonia de micelio algodonoso con tonalidades de color rosado claro y crema, de crecimiento rápido, pigmentación del medio de cultivo rosado; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración cremosa a los costados y en el centro rosado; **C)** Agrupación de conidias en masas y unidas a fiálides, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . **D)** Presencia de macroconidias y microconidias unidas en fiálide, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

## B. Cepa M2-C2: *Fusarium episphaeria*

### Características celulares de la colonia



**Figura 32:** *Fusarium episphaeria*., obtenida en cultivo de Culantro castilla; esta cepa pura tarda en crecer 6 días, en toda la placa tal y como se aprecia en esta figura; **A)** Anverso, Desarrollo de la colonia de crecimiento radial con aparentes divisiones alrededor del centro, micelio de textura algodonosa de color blanco cremoso; **B)** Reverso, Desarrollo micelial con coloración cremosa; **C)** Macroconidias y microconidias alargadas y en forma de media luna, con septas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ ; **D)** Presencia de microconidias unidas en fiálide en forma de falsas cabezas, aumento 40x, escala “barra negra” = 10  $\mu\text{m}$ . (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

### 3.1.10. Discusión:

#### Caracterización morfológica de *Fusarium* spp.

Se colectó un total de 90 plantas entre los cultivos de: sachá inchi, plátano, frijol huasca poroto, ají dulce, maíz amarillo duro en grano, arroz, culantro castilla, café, cacao, con posibles daños de ataque por este hongo del género *Fusarium*. Como resultado del muestreo a los campos de producción de estos 9 cultivos en la región San Martín, 41 muestras fueron analizadas, se obtuvieron los fragmentos de estos cultivos, con daños evidentes ocasionados por el hongo. Se identificó 2 cepas puras por cultivo, correspondientes al género *Fusarium* dando así un total de 18 cepas *Fusarium* sp., en donde se identificó a las siguientes especies: *Fusarium solani*, aislados de la rizosfera de los cultivos de cacao, ají dulce, sachá inchi, café y plátano; *Fusarium moniliforme*, aislado de la rizosfera de los cultivos de sachá inchi, plátano, frijol huasca poroto, ají dulce y maíz amarillo duro en grano; *Fusarium lateritium*, aislado de granos del cultivo de arroz; *Fusarium tricinctum* y *Fusarium episphaeria* aislados de la rizosfera del cultivo de culantro castilla; *Fusarium equiseti* aislado de la rizosfera del cultivo de cacao y *Fusarium regidiuscula* aislado de mazorcas del cultivo de maíz amarillo duro.

Estos resultados nos indican que existe una gran diversidad biológica de especies *Fusarium* presentes en los diversos sistemas agrícolas en la región San Martín, particularmente para cultivos estudiados en el presente trabajo de investigación. Como se demuestra en las (Figuras: 15; 16; 17; 18;19;20; 21; 22; 23; 24; 25; 26; 27; 28; 29; 30; 31 y 32).

Los hongos del género *Fusarium* son ampliamente conocidos alrededor del mundo, y se han convertido en un problema serio ya que producen metabolitos tóxicos que ponen en peligro la salud de los seres humanos y de los animales. Además, incluye muchos patógenos de plantas de importancia agrícola que en conjunto ocasionan enfermedades caracterizadas por marchitez, tizones, pudriciones en cultivos ornamentales y forestales en ecosistemas agrícolas y naturales (Ma et al., 2013). Las especies de *Fusarium* causantes de marchitez siguen un patrón similar de infección; penetran por la raíz y colonizan en el tallo de las plantas el sistema vascular (González y Yailén, 2012). *Fusarium oxysporum*, por ejemplo, penetra inicialmente por la raíz de forma asintomática; posteriormente, coloniza el tejido vascular y desencadena un marchitamiento masivo, necrosis y clorosis de las partes aéreas de la planta. Es así que

la identificación de *Fusarium* sp., en diferentes cultivos de importancia agrícola, es la etapa inicial para un control y seguimiento oportuno de las múltiples enfermedades que causa este patógeno, además, como otros fitopatógenos, este hongo emplea diversas estrategias de infección, así también, la especificidad del hospedero depende de cada especie *Fusarium*. El hongo puede sobrevivir en el suelo como micelio o como esporas en ausencia de sus anfitriones, (Ma et al., 2013).

Rosmana et al., (2014), plantearon la hipótesis de que muchas cepas o especies *Fusarium* infectan las plantas de cacao en campo y, por lo tanto, evaluaron cuatro aislamientos, infectando las plántulas de cacao de forma artificial. De las cuatro cepas, uno tenía micelios de color granate rojo, el segundo micelio blanco cremoso, el tercero micelio blanco y rosado y el cuarto micelio blanco, concluyendo que, la incidencia de enfermedad en las plántulas fue respectivamente de 25,4%, 28,9%, 8,4% y 29,2%. Además, *Fusarium* se puede comportar de manera asintomática en su hospedero. (Adu-Acheampong et al., 2012), identificaron y reportaron a *F. chlamydosporum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum* y *F. decemcellulare*, como agentes causales de muerte en el cacao. Así como Chehri et al., (2011), aislaron e identificaron *Fusarium* spp., en plantas cucurbitáceas infectadas, un total de 100 aislamientos de *Fusarium* se obtuvieron de plantas de cucurbitáceas enfermas recolectadas de campos, de acuerdo con los caracteres morfológicos, todos los aislamientos fueron identificados como *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium semitectum* y *Fusarium solani*. De igual manera, (Martínez-Fernández et al., 2015), obtuvieron 132 aislamientos, con las características morfológicas típicas de *Fusarium*, a partir de raíces de plantas de caña de azúcar con síntomas de marchitez, identificando a los aislamientos monoconidiales de *Fusarium* cultivados en papa dextrosa agar, identificando a *F. andiyazi*, *F. nygamai* (ambas especies registradas por primera vez), *F. sacchari*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. equiseti*, *F. oxysporum* y *F. solani*.

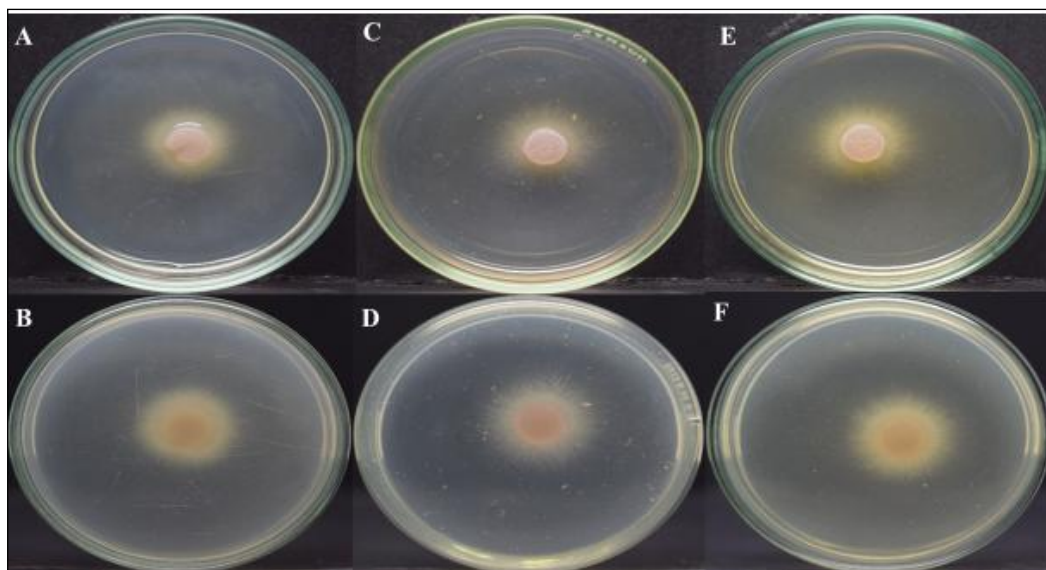
Todos los autores antes descritos, reportaron diversos aislamientos de riqueza alta en especies. Resultados muy familiares a los obtenidos en el presente trabajo de investigación. La importancia por descifrar al papel biológico-específico de estas especies sobre su hospedero permitiría entender el mecanismo de patogenicidad de estas especies *Fusarium*.

### 3.2. Evaluación del crecimiento micelial de 18 especies de *Fusarium* sobre diferentes condiciones de pH.

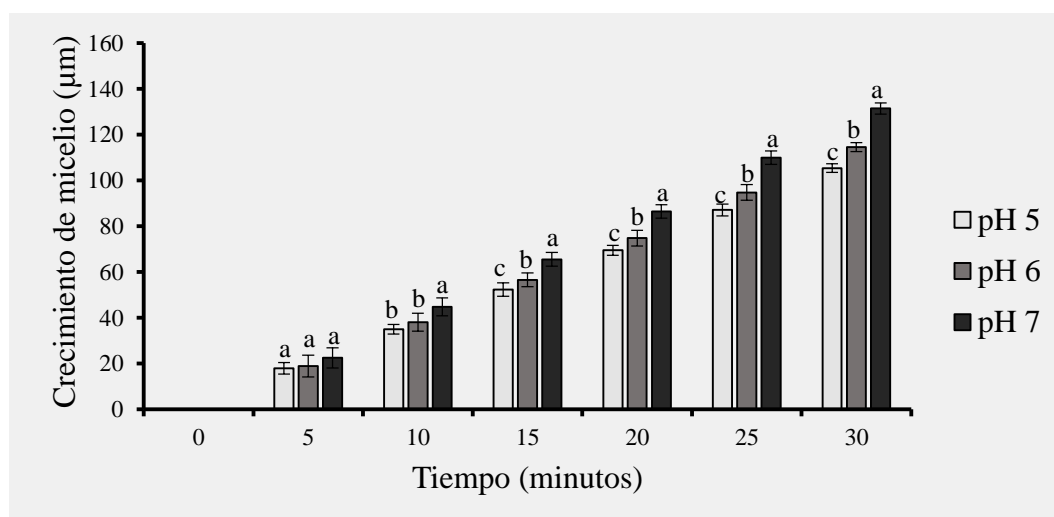
#### 3.2.1. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L).

##### A. Cepa M11-C2: *Fusarium equiseti*

##### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



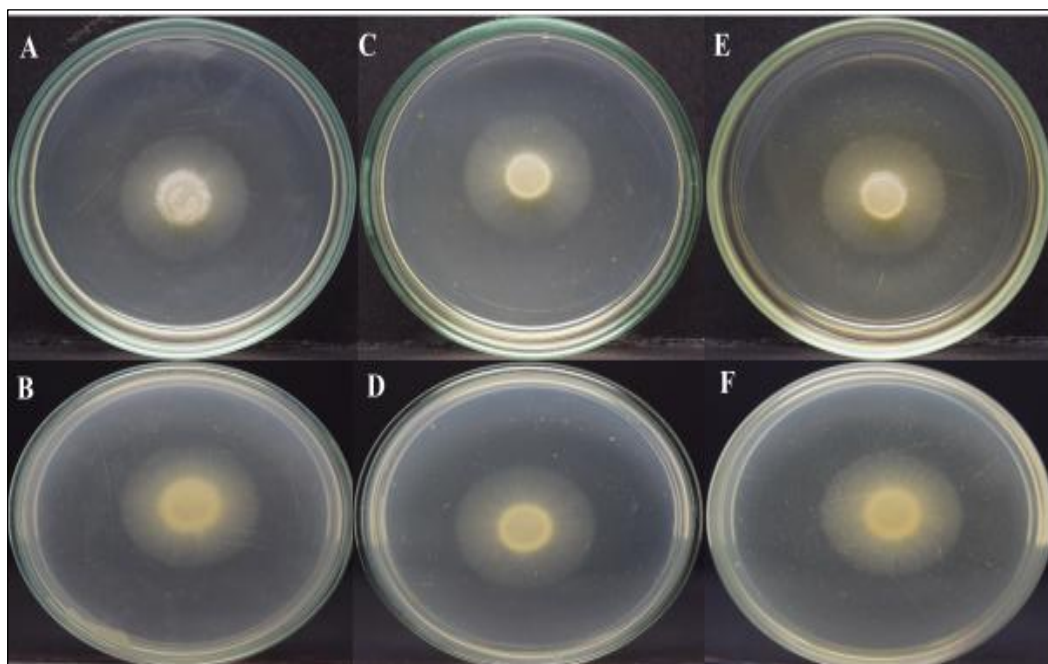
**Figura 33:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



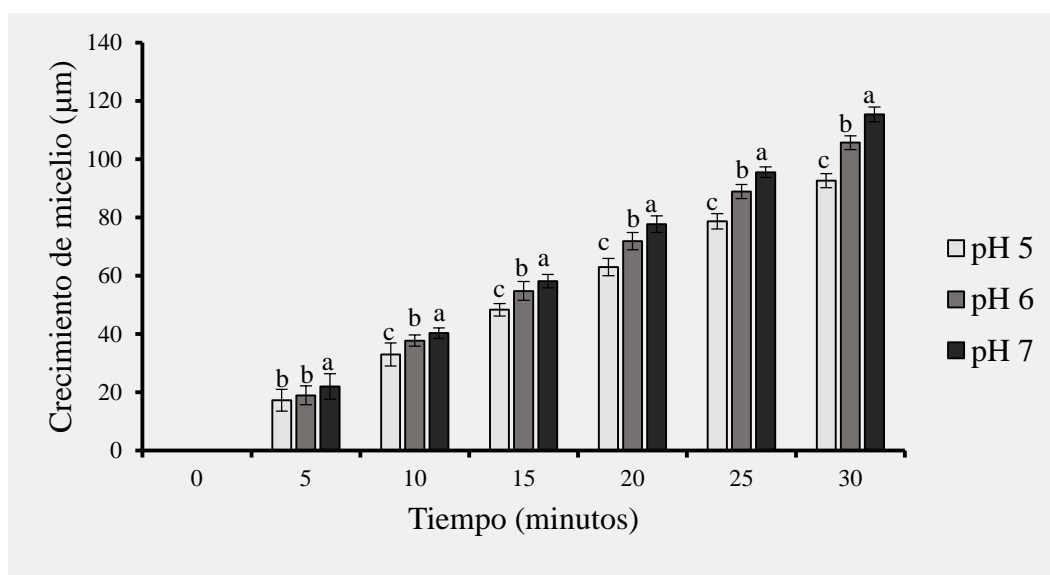
**Figura 34:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

### B. Cepa M11-C3: *Fusarium solani*

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 35:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

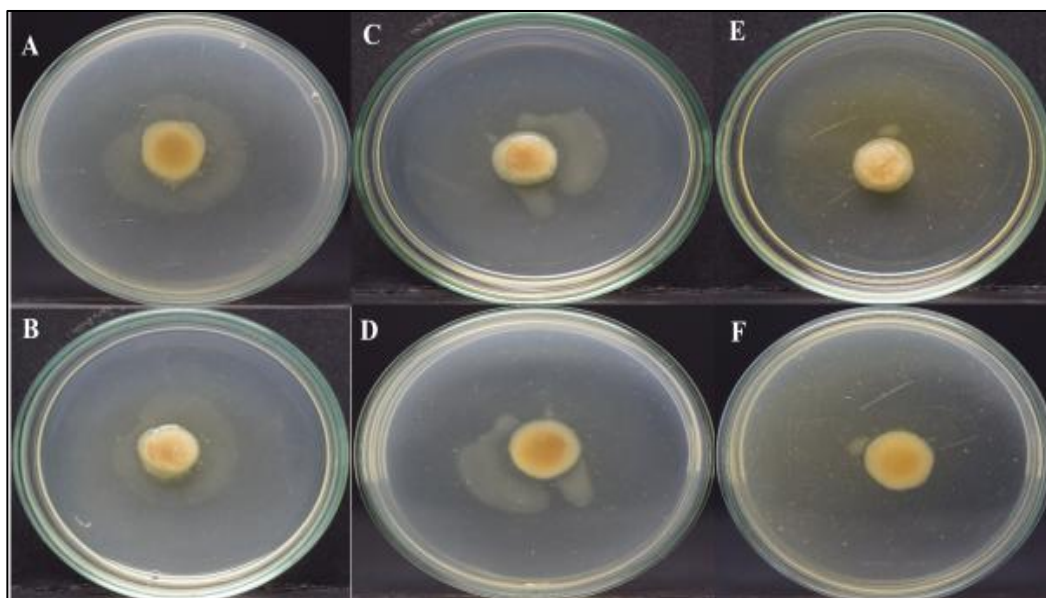


**Figura 36:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por tes de Tukey ( $p > 0,01$ ); medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

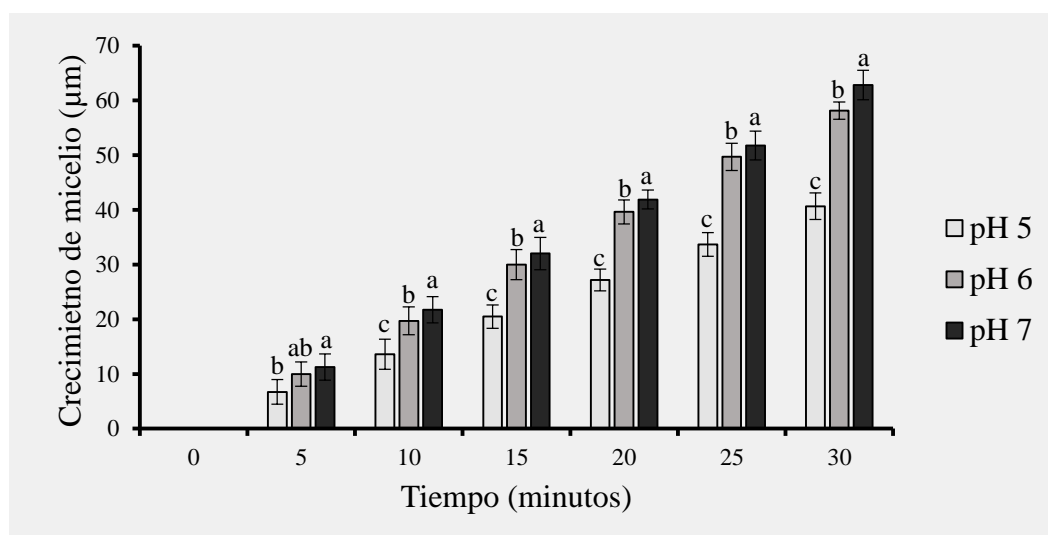
### 3.2.2. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

#### A. Cepa M32-C1: *Fusarium solani*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 37:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

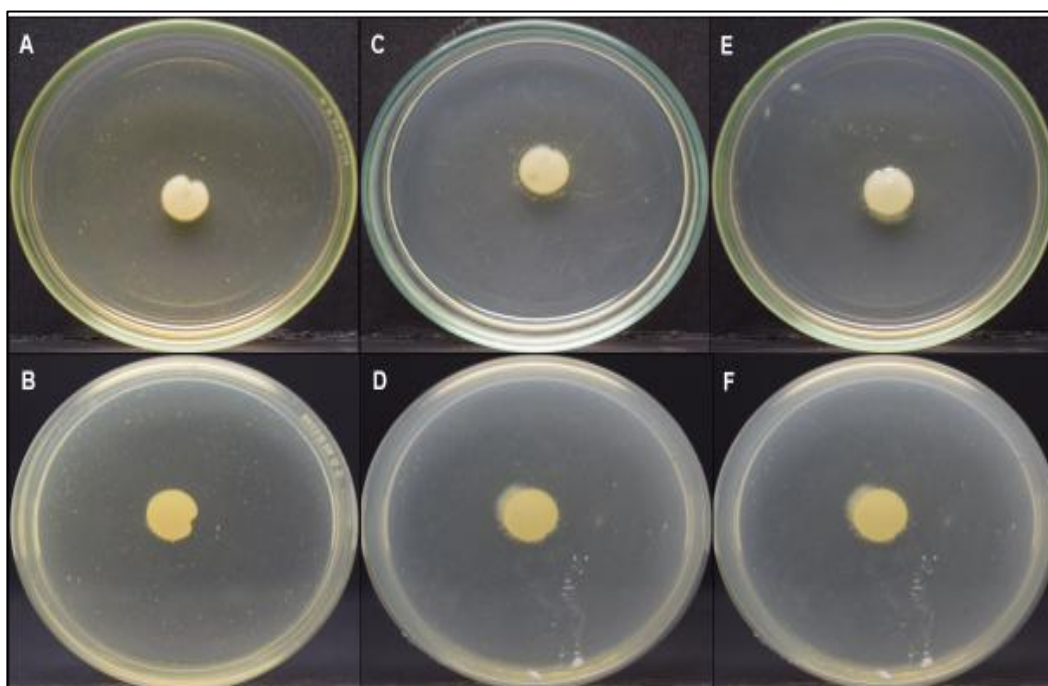


**Figura 38:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

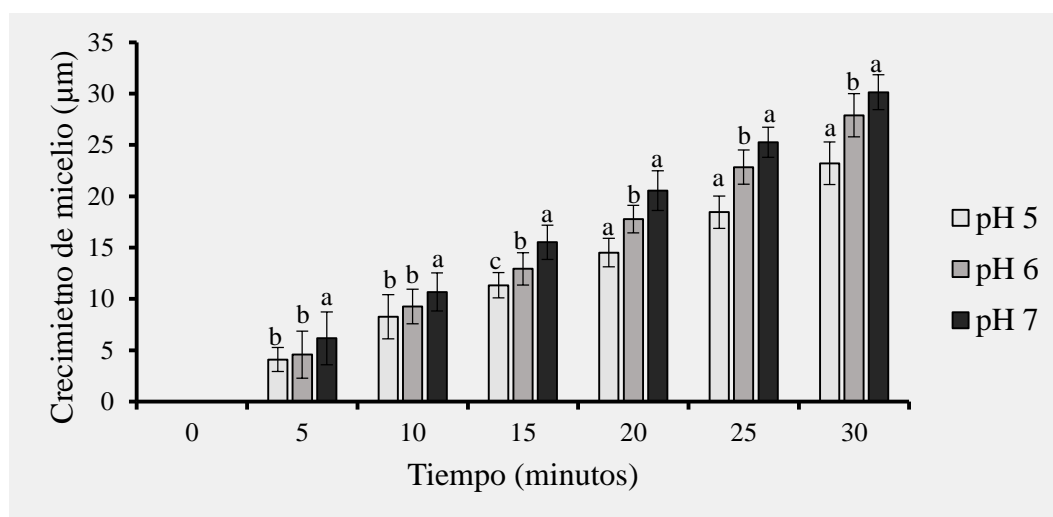


## B. Cepa M33-C1: *Fusarium moniliforme*

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 39:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

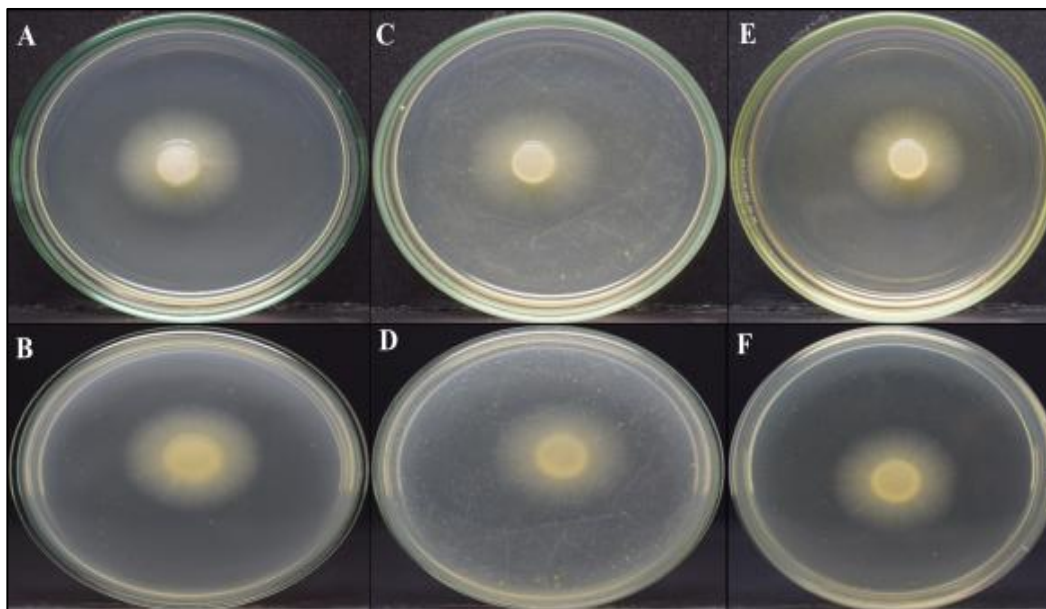


**Figura 40:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

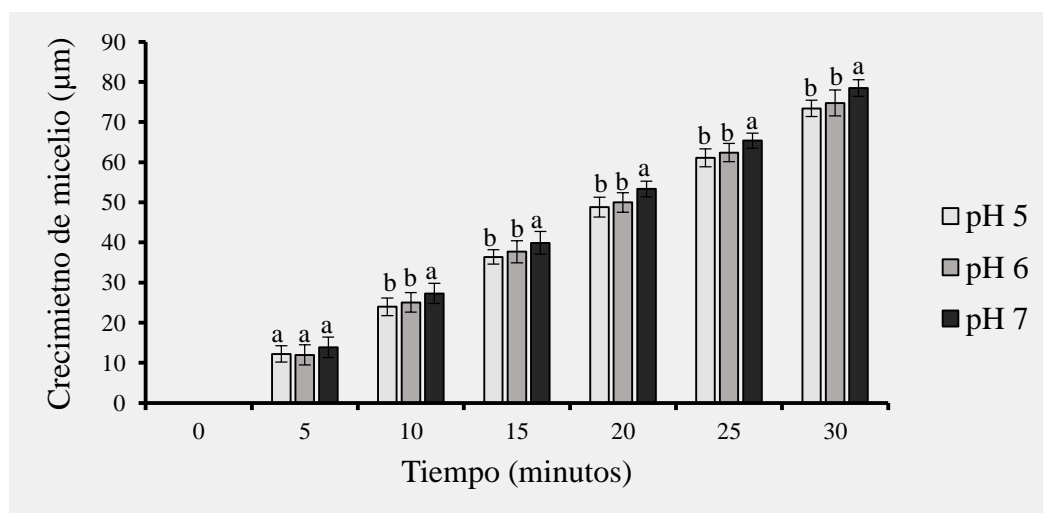
### 3.2.3. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Ají dulce (*Capsicum* spp.).

#### A. Cepa M28-C1: *Fusarium solani*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



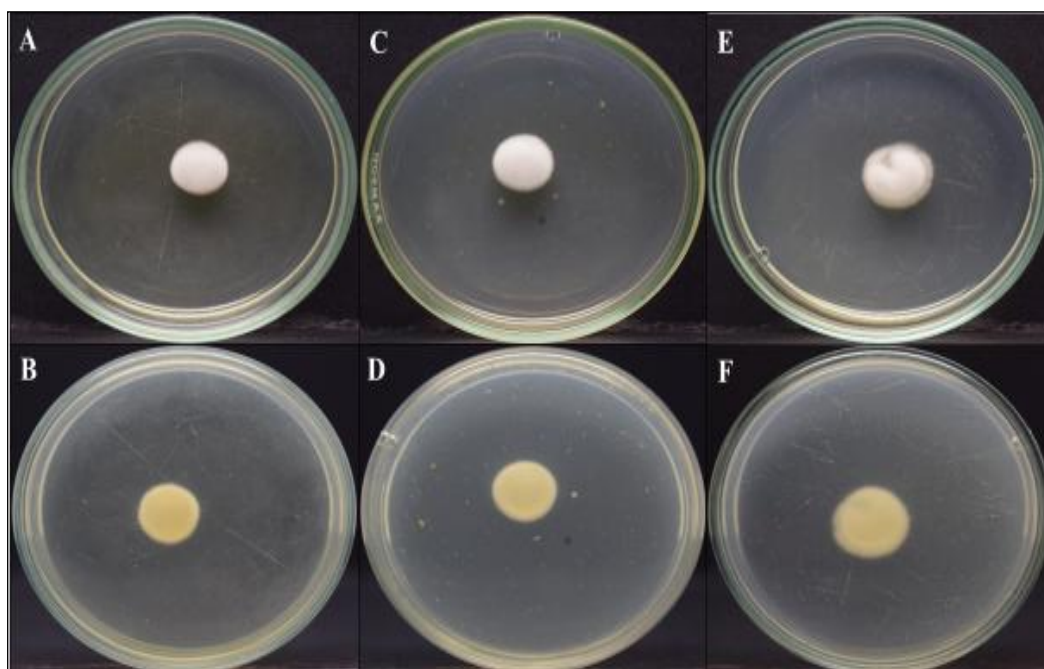
**Figura 41:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



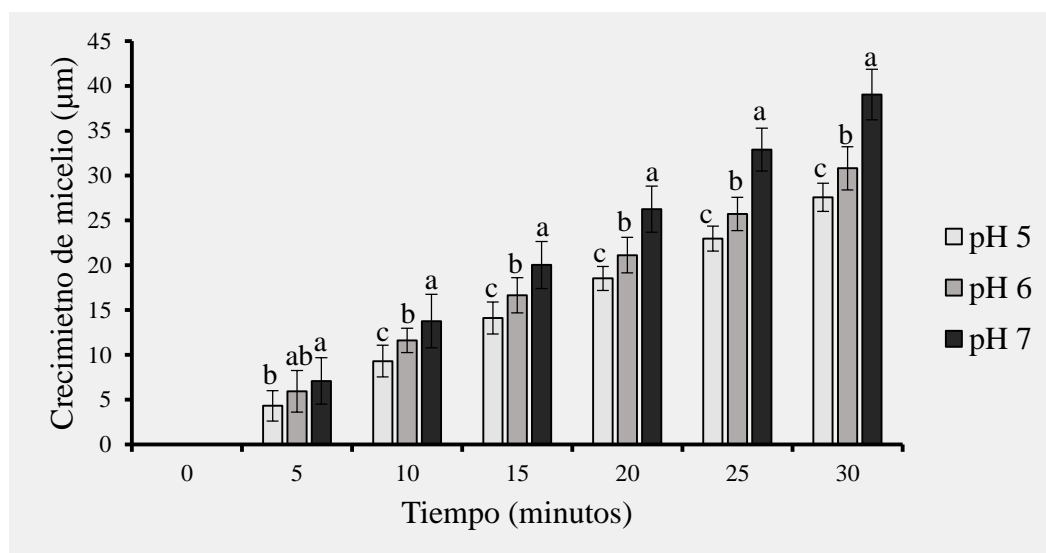
**Figura 42:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M12-C1: *Fusarium moniliforme*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 43:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

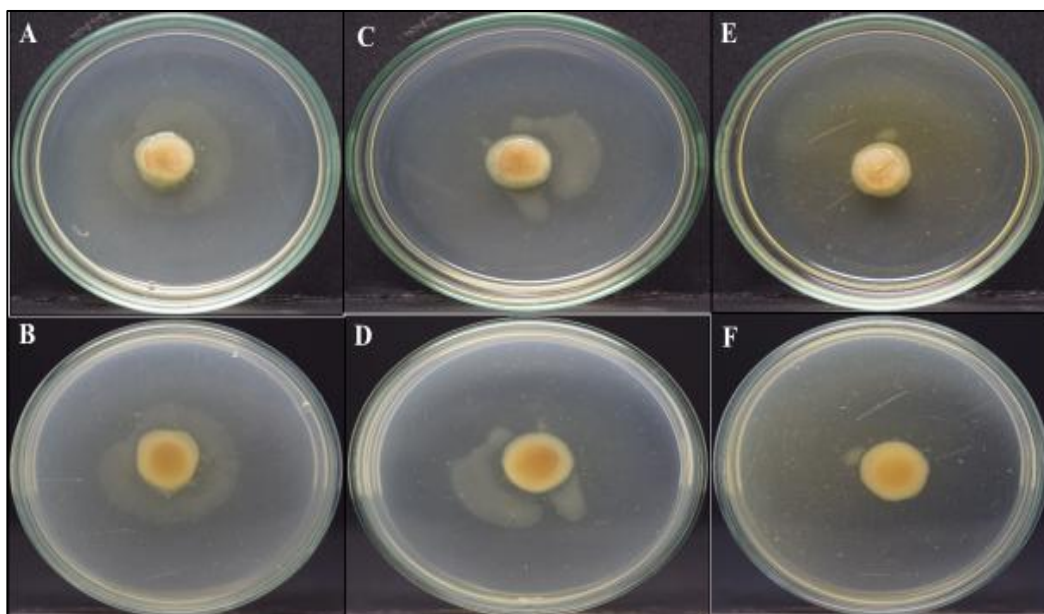


**Figura 44:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres réplicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

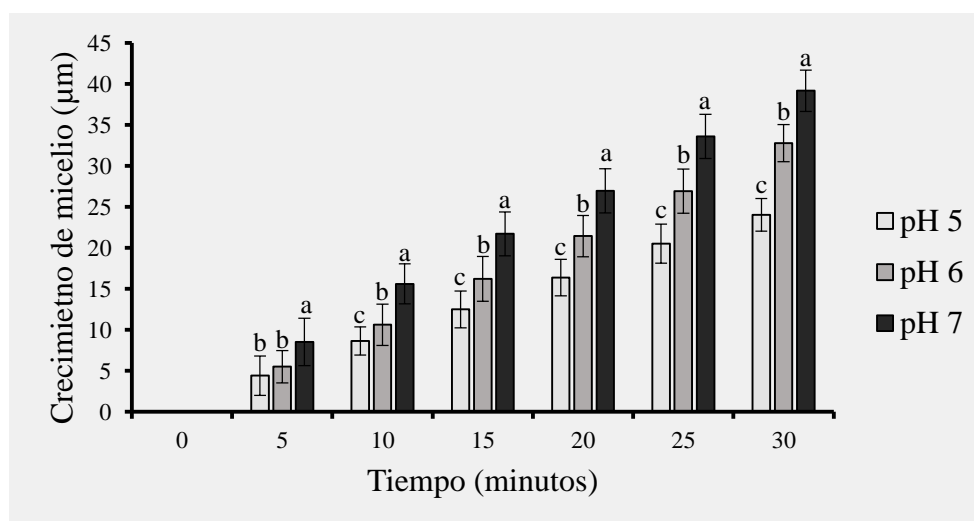
### 3.2.4. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Arroz (*Oryza sativa* L.).

#### A. Cepa M15-C1: *Fusarium lateritium*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



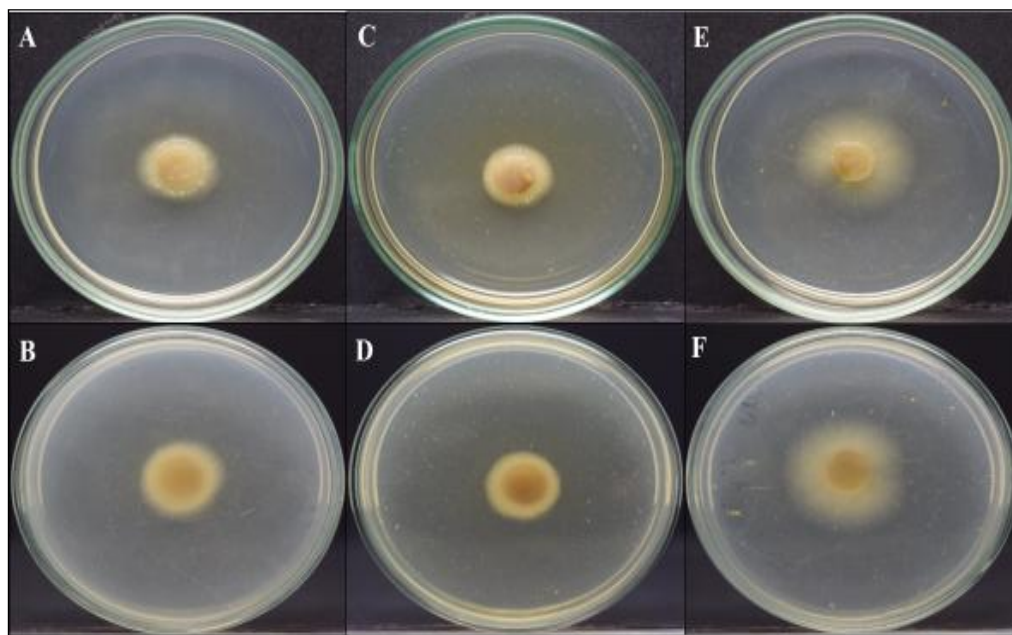
**Figura 45:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



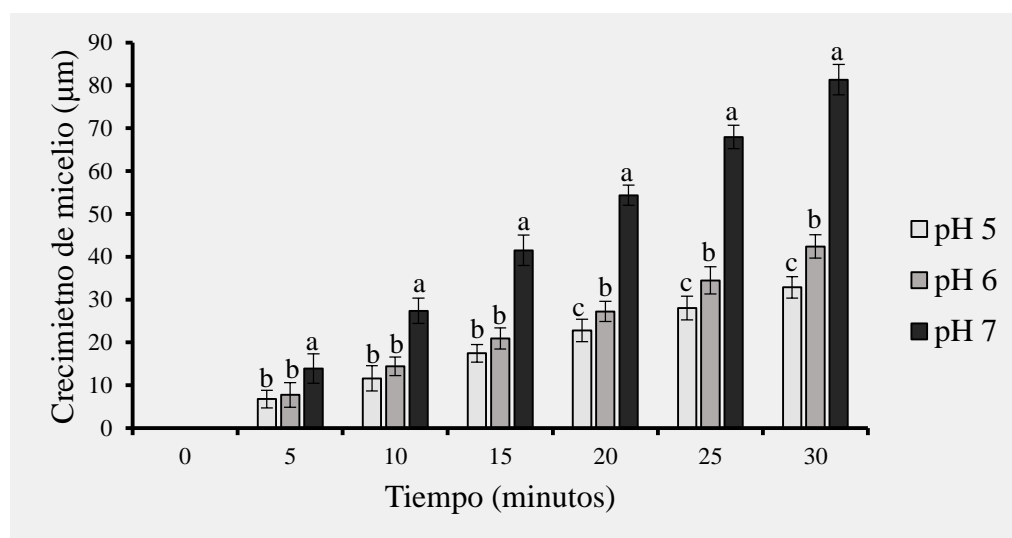
**Figura 46:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M19-C2: *Fusarium lateritium*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 47:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

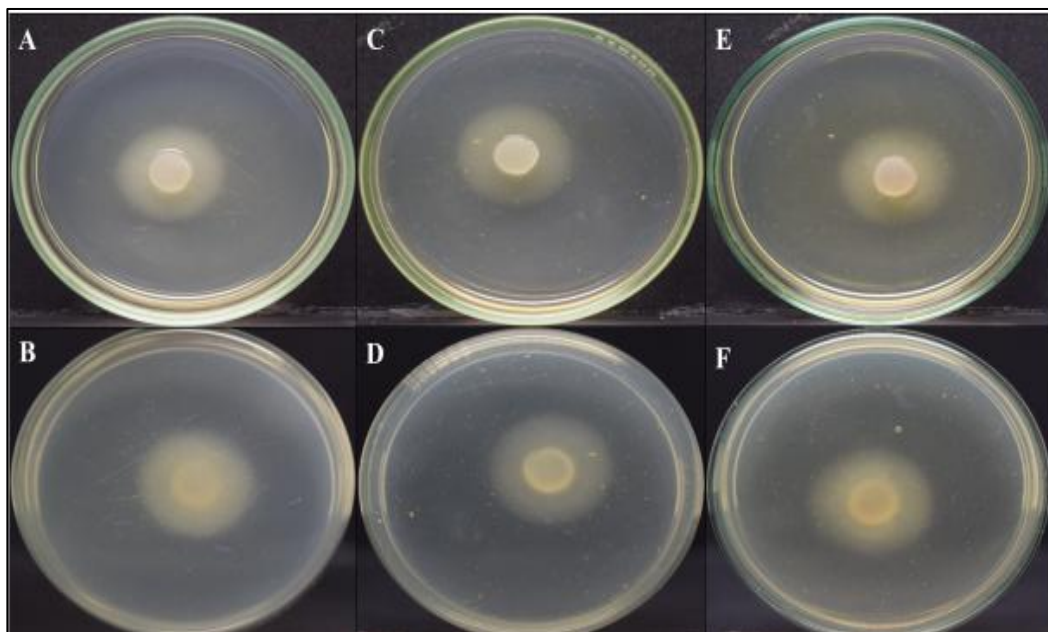


**Figura 48:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres réplicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

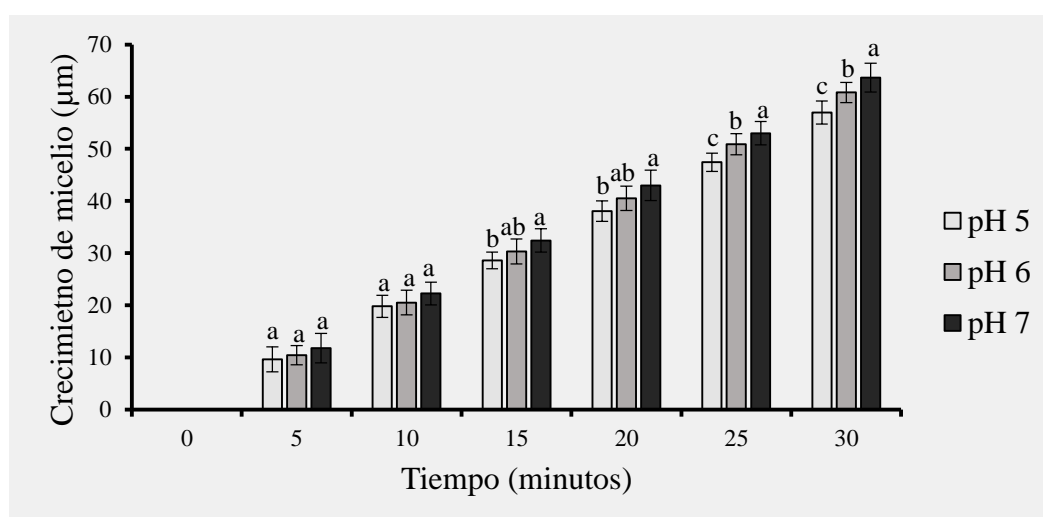
### 3.2.5. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Café (*Coffea arabica* L.).

#### A. Cepa M38-C1: *Fusarium solani*.

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



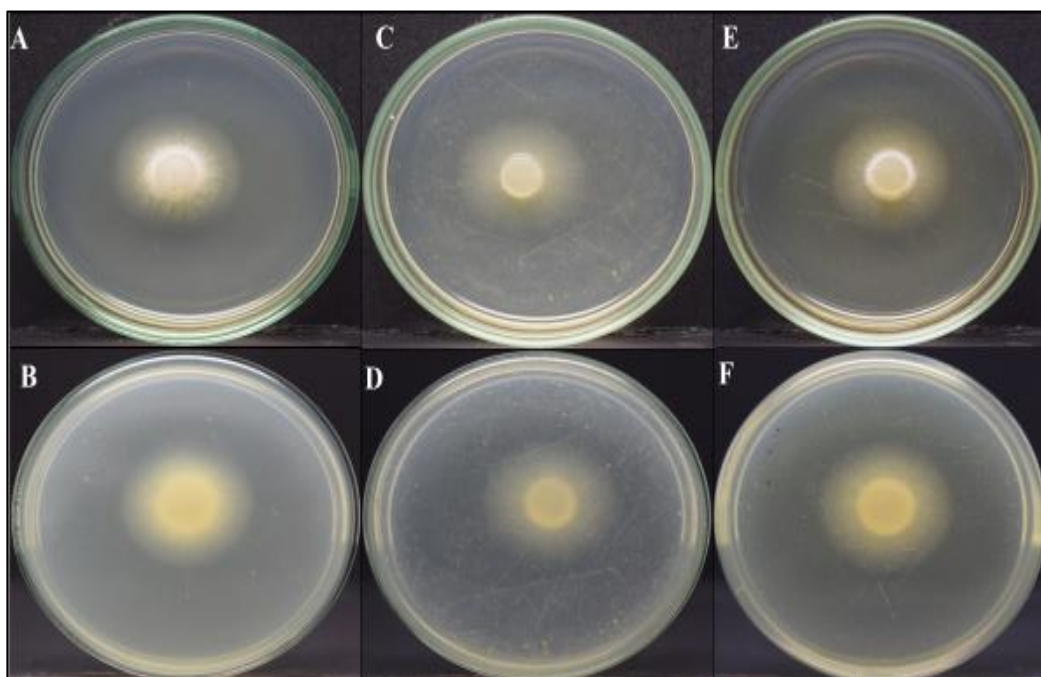
**Figura 49:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



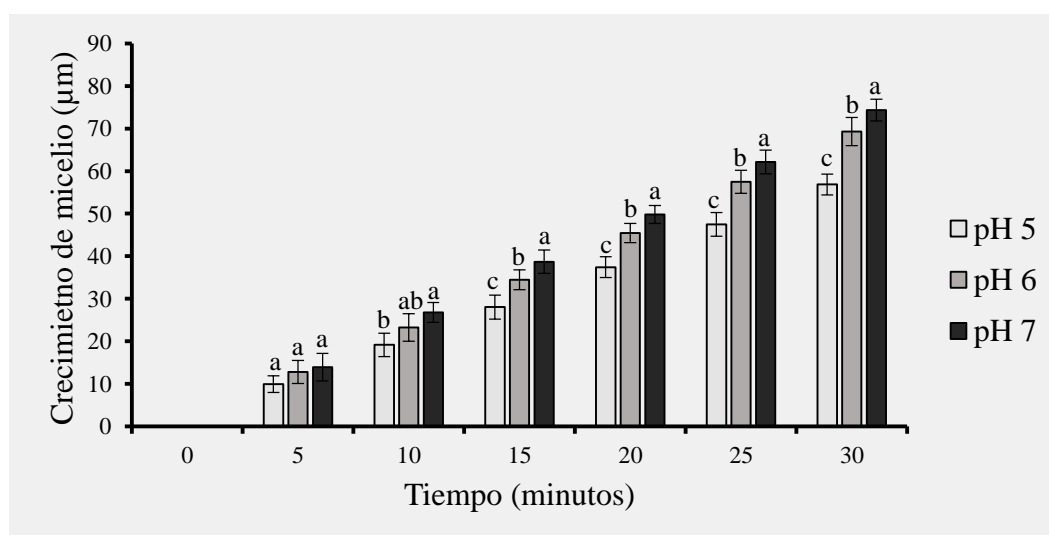
**Figura 50:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p < 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M39-C1: *Fusarium solani*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



**Figura 51:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

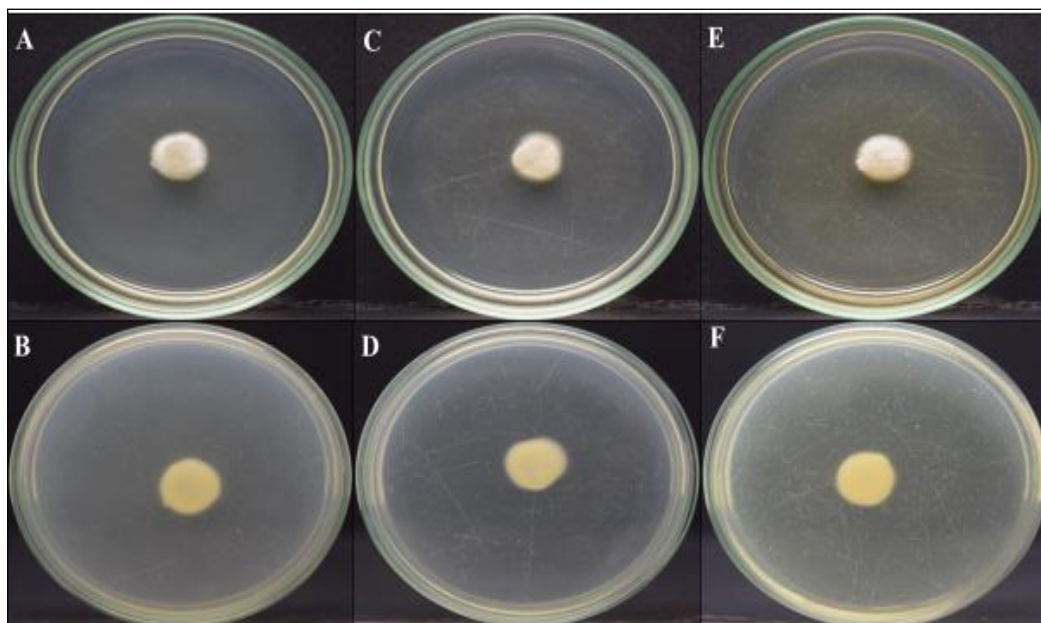


**Figura 52:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

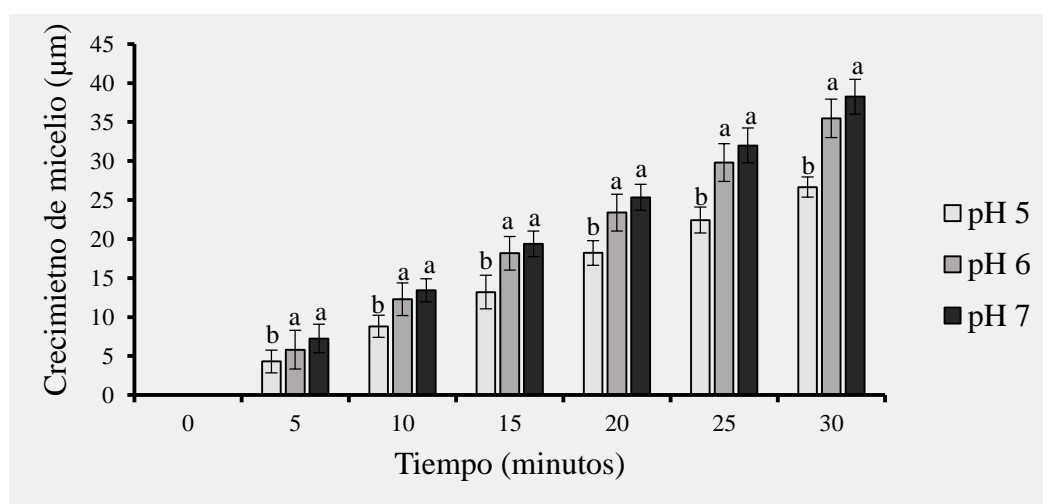
### 3.2.6. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Plátano (*Musa* spp.).

#### A. Cepa M3-C2: *Fusarium moniliforme*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



**Figura 53:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

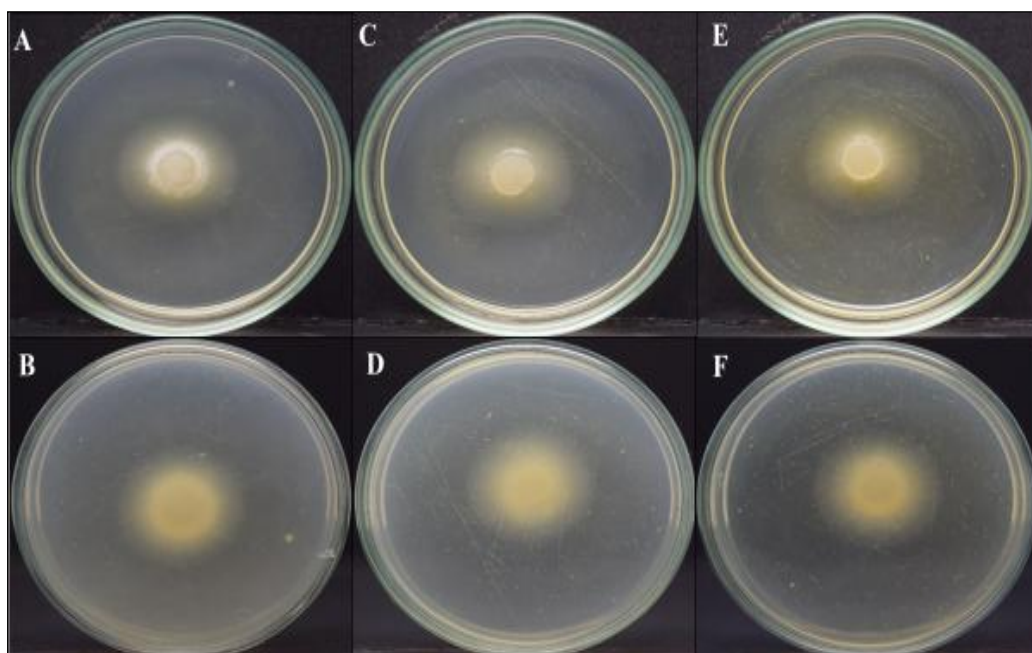


**Figura 54:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

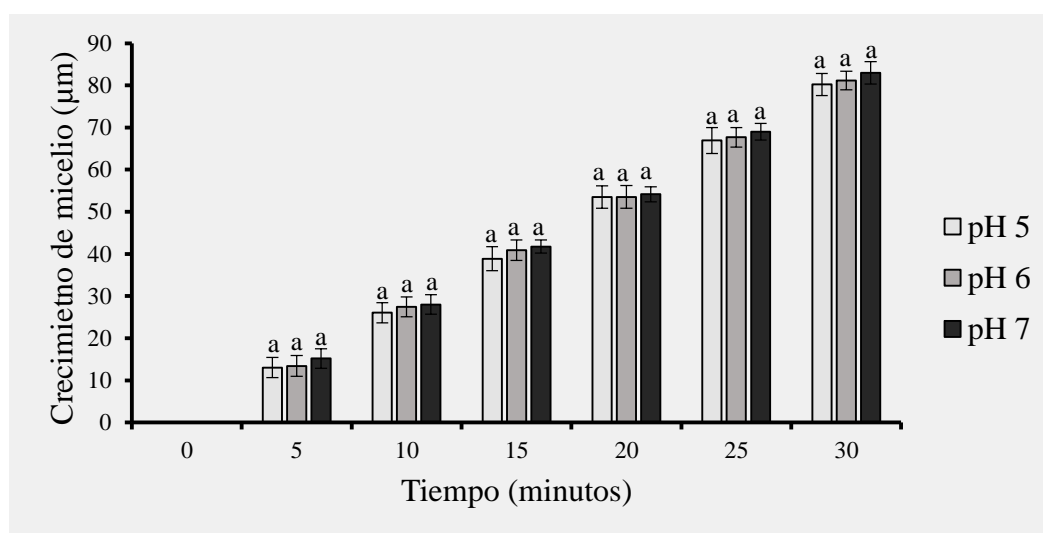


## B. Cepa M6-C4: *Fusarium solani*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



**Figura 55:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

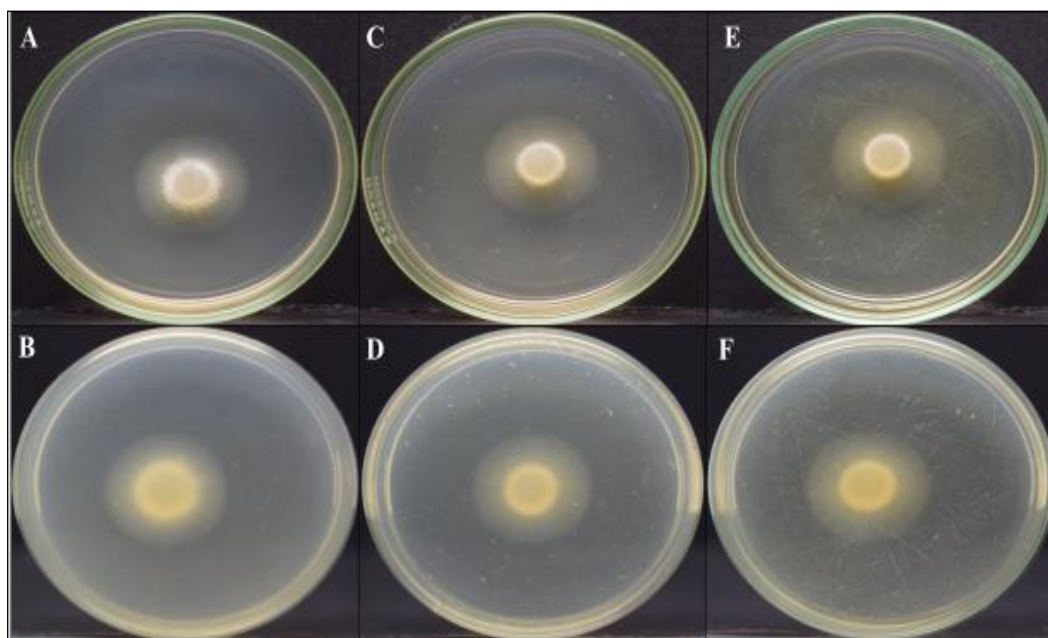


**Figura 56:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

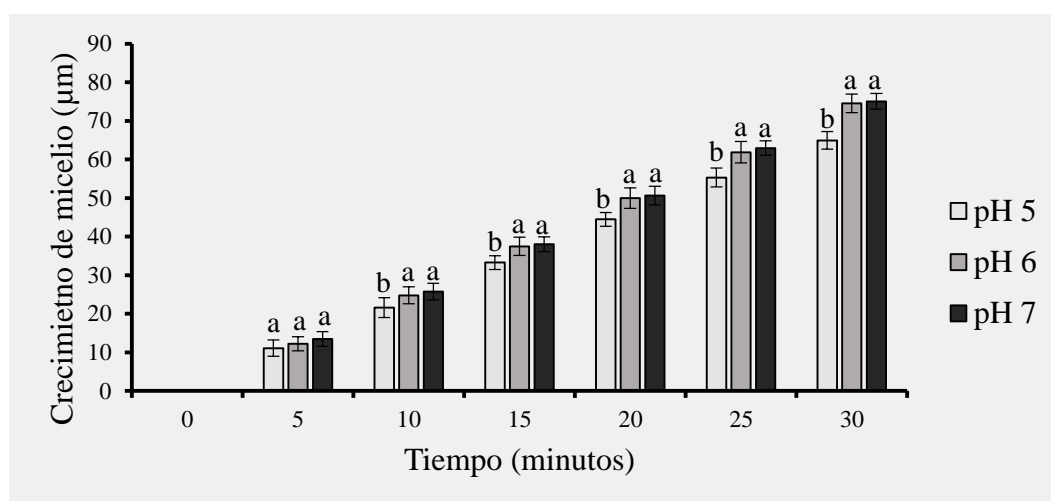
### 3.2.7. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Frijol Huasca Poroto (*Phaseolus* sp.).

#### A. Cepa M37-C1: *Fusarium moniliforme*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



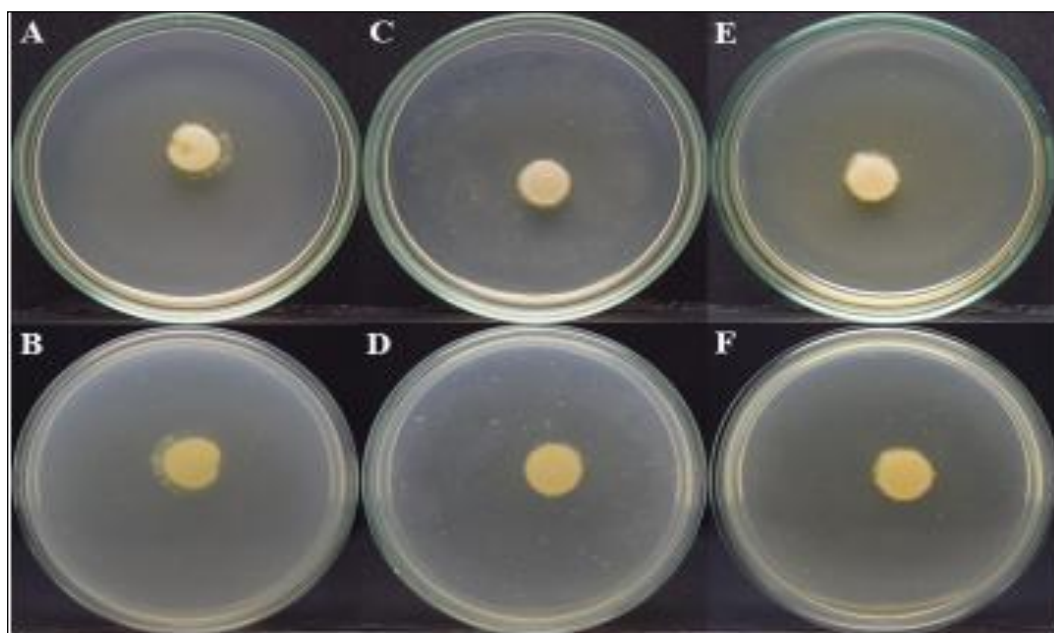
**Figura 57:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



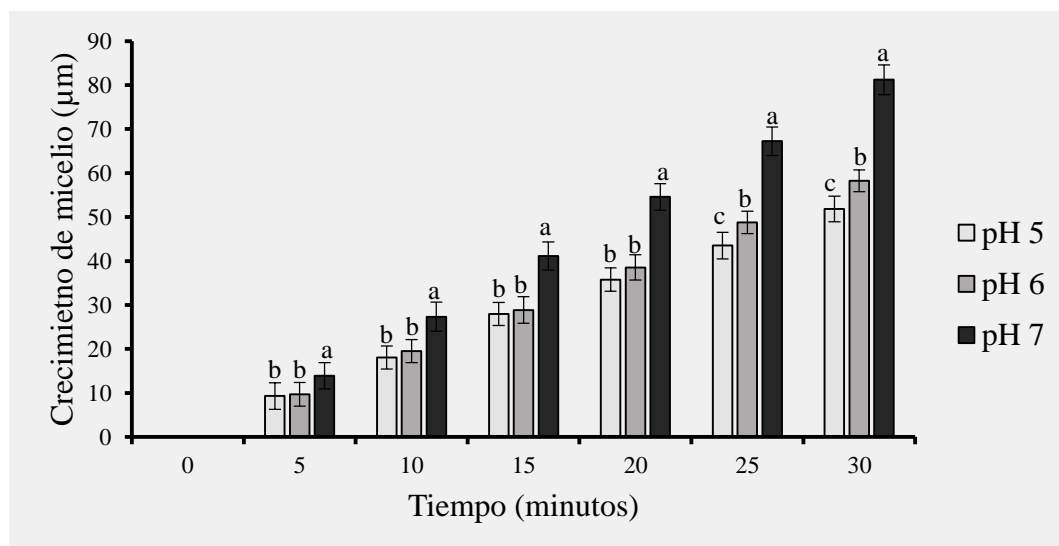
**Figura 58:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M36-C1: *Fusarium moniliforme*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



**Figura 59:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

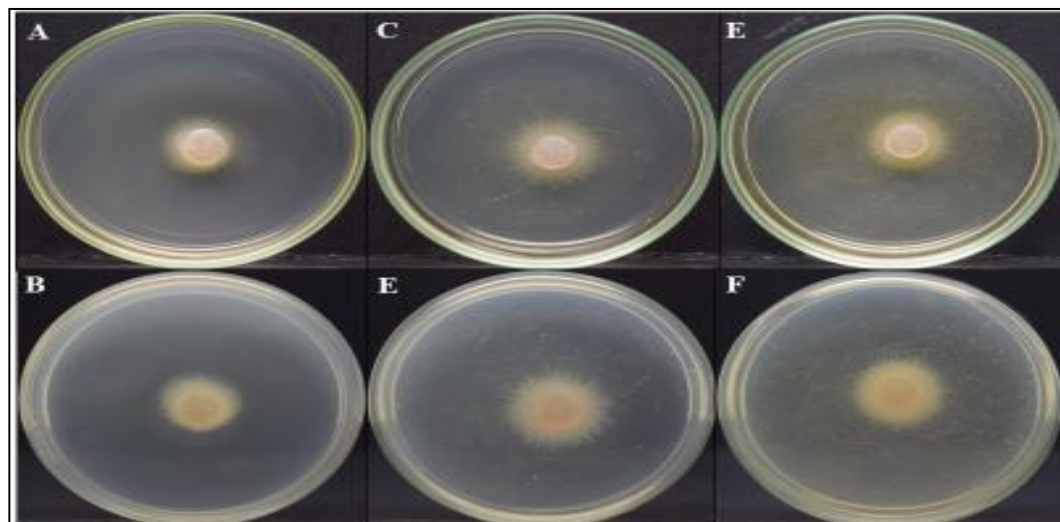


**Figura 60:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

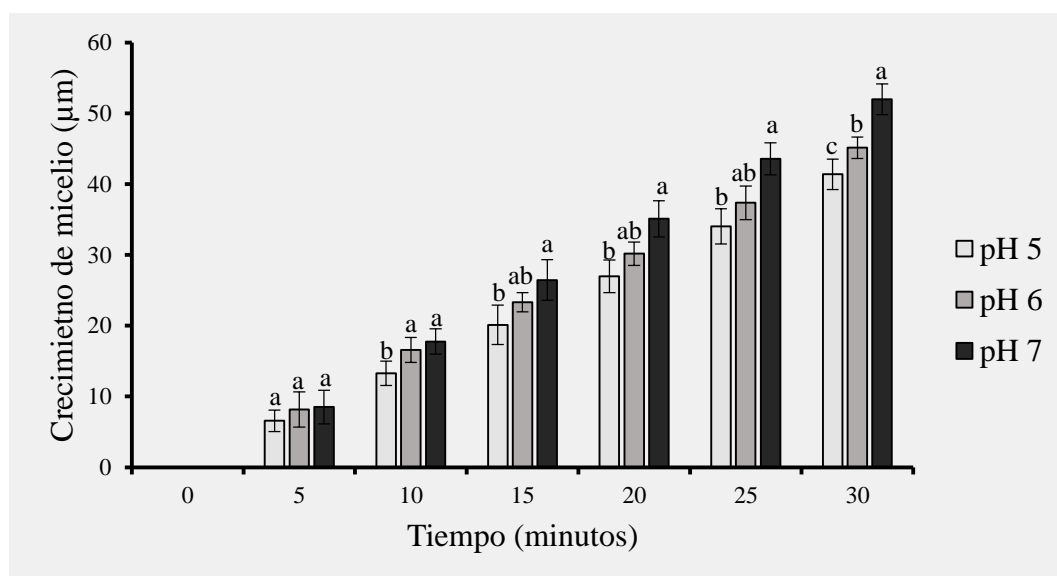
### 3.2.8. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Maíz amarillo duro en grano (*Zea mays* L.).

#### A. Cepa M14-C1: *Fusarium rigidiuscula*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



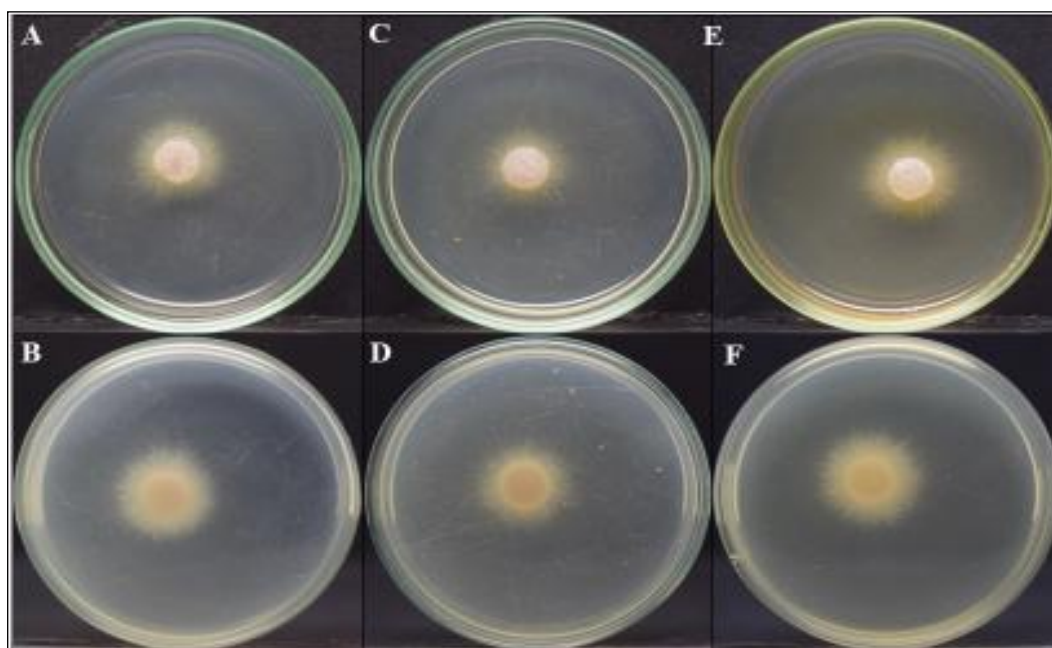
**Figura 61:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



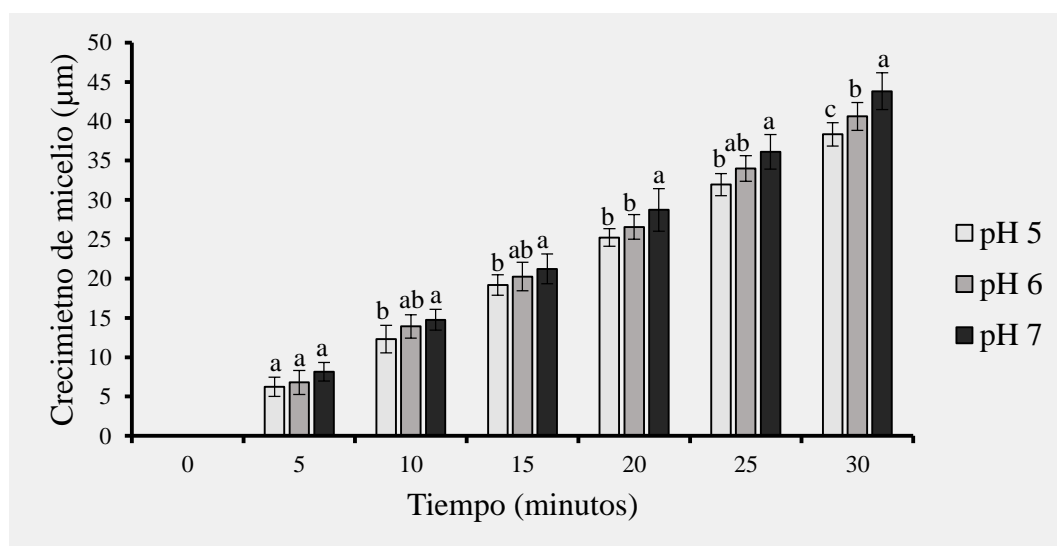
**Figura 62:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M31-C1: *Fusarium solani*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



**Figura 63:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

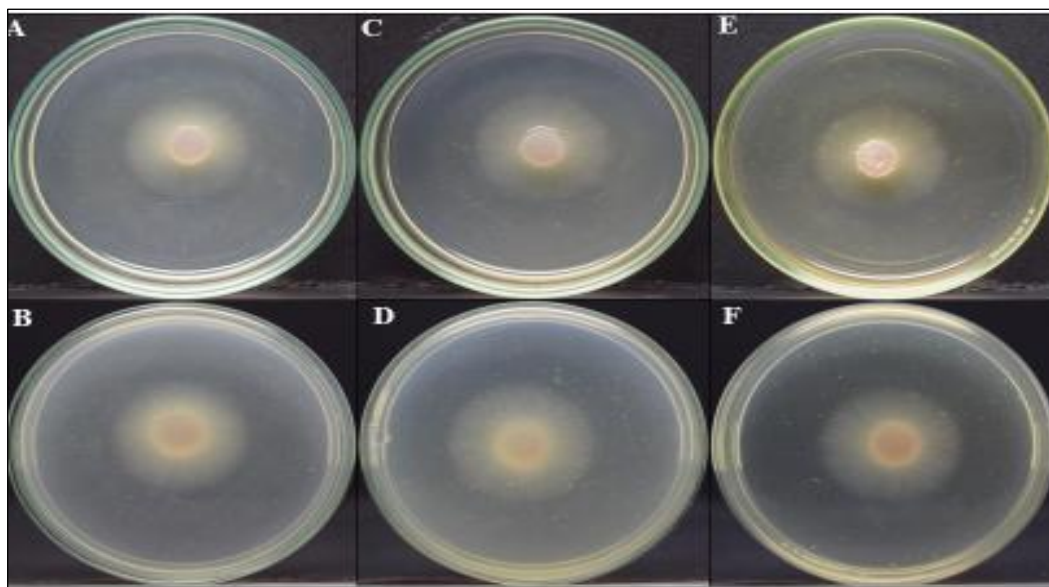


**Figura 64:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p < 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

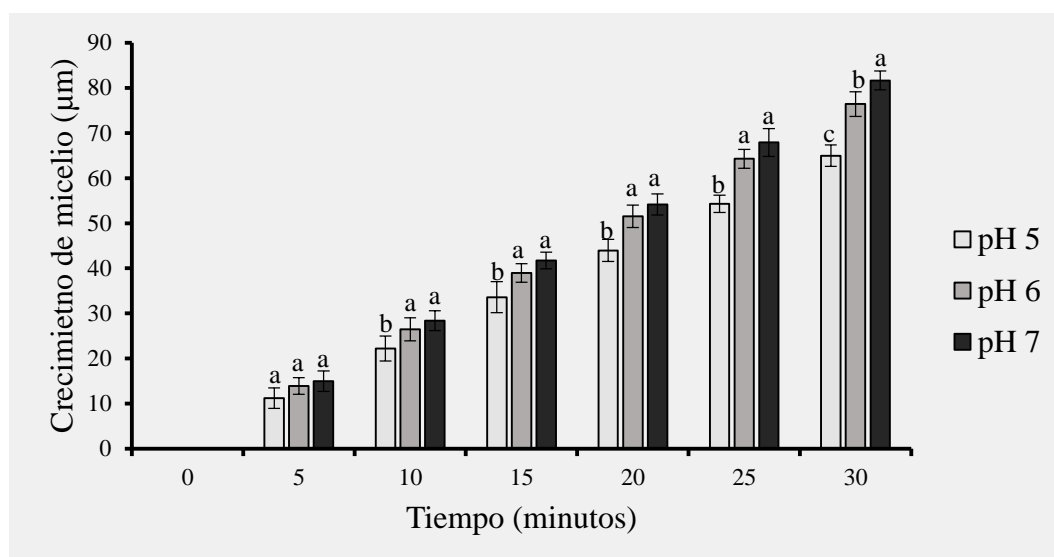
### 3.2.9. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Culantro castilla (*Coriandrum sativum* L.).

#### A. Cepa M2-C5: *Fusarium tricinctum*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



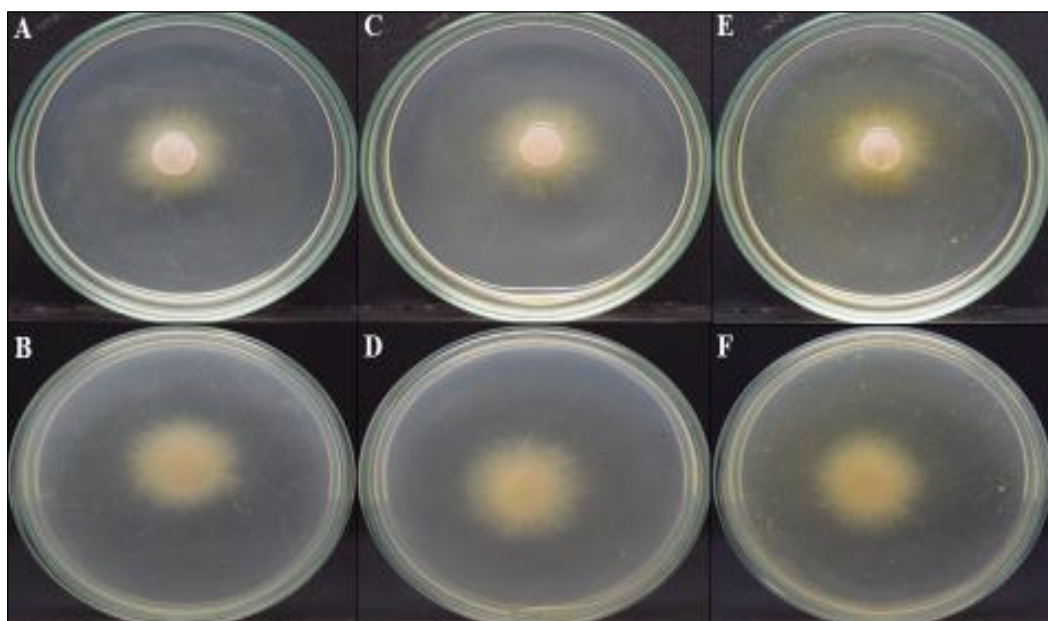
**Figura 65:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



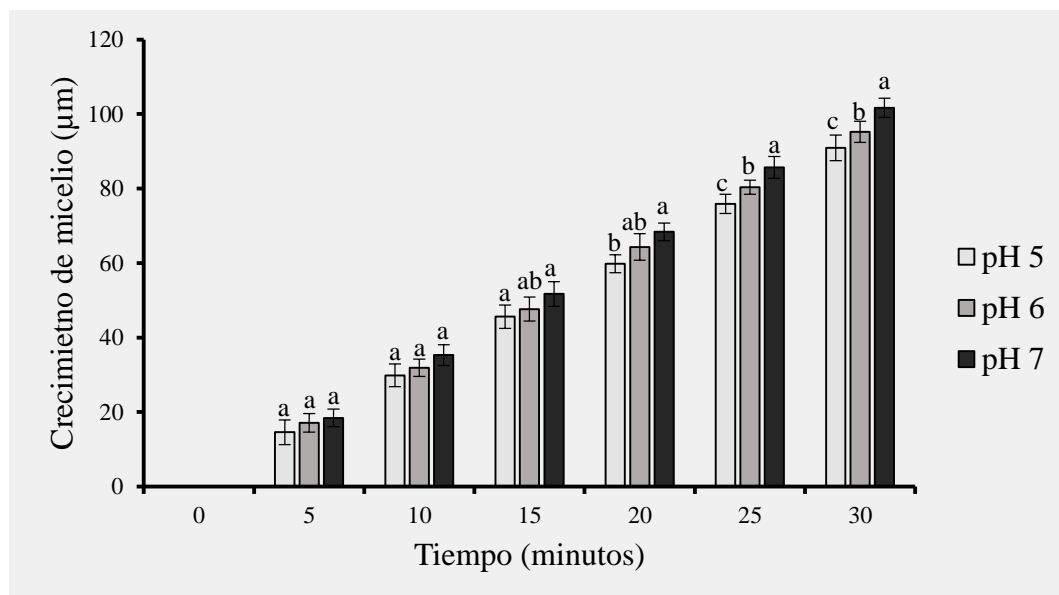
**Figura 66:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M2-C2: *Fusarium episphaeria*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7)



**Figura 67:** Placas con medio PDA tamponado con 1 mM de MES; por un periodo de 36 horas antes de ser monitoreado; **A-B)** Reverso y anverso de la placa, con pH 5; **C-D)** Reverso y anverso de la placa, con pH 6; **E-F)** Reverso y anverso de la placa, con pH 7. En todas las placas *Fusarium* creció; pero de diferente manera. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



**Figura 68:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de pH. Las barras muestran la media de tres réplicas biológicas independientes ( $n=20$  por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

### 3.2.10. Discusión:

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

Los resultados obtenidos mediante las pruebas de pH (5, 6 y 7), reflejan el grado de respuesta de sensibilidad que poseen las 7 especies del género *Fusarium* sp., aisladas y purificadas en nueve cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín; tienen la pre-disponibilidad de poder crecer en diferentes rangos de pH (5, 6 y 7). Así mismo se observó que cada uno de estas especies, manifestaron diferentes comportamientos de: crecimiento rápido, crecimiento lento, colores con tonalidades claras, oscuros o intensos, algunas poseen pigmentaciones otras no; texturas algodonosas y otras son lisas. Todas estas características externas se pudieron observar, durante el desarrollo micelial de las 7 especies de *Fusarium*, en el Test de pH 5, 6 y 7.

Todas las 7 especies del género *Fusarium*, aisladas de 9 cultivos agrícolas; colectados en 10 localidades de 5 provincias de la Región San Martín. Manifestaron mayor desarrollo del crecimiento micelial, en los rangos de pH7 a diferencia de los rangos de pH 5 y pH6. Detallando estas características paso a paso, se determinó que, de las 7 especies, solo una especie como es el caso de *Fusarium lateritium* con código de identificación M19-C2, hallada en el cultivo de arroz, manifestó un comportamiento altamente significativo seguida de las otras 6 especies. Tal y como se aprecia en la Figura 48.

López et al., (2004), investigaron la influencia del pH sobre el crecimiento micelial de las especies *F. solani*, *F. moniliforme* y *F. oxysporum* obtuvieron como resultado que las tres especies probadas a pH 3 si tuvieron un crecimiento micelial significativamente menor, además los valores óptimos de crecimiento oscilaron en un rango de pH desde 5 hasta 9 para la mayoría de las especies. Así mismo diversos estudios similares realizados por, Booth y Johnston, (1983) mencionan que, en pH ácidos o muy básicos, el crecimiento de la especie es significativamente menor. *Fusarium moniliforme* mantiene un crecimiento micelial óptimo entre 5-9 sin diferencias significativas a los 11 días de incubación, aun cuando entre los valores de pH 6 y 7 fue ligeramente mayor el crecimiento. En cambio, *Fusarium oxysporum*, a diferencia del resto de las especies probadas, mostró valores de crecimiento a un pH 5.

La infección micótica de las plantas se asocia a menudo con cambios en el pH extracelular del tejido huésped (Prusky et al., 2001, Prusky; Yakoby, 2003). Masachis



et al., (2016), determinaron que la alcalinización extracelular aumenta la virulencia de *F. oxysporum* hacia las plantas de tomate. Este aumento del pH conduce a la activación de una proteína quinasa MAPK (es una ruta de transducción de señal de células de eucariotas que se sitúa corriente abajo de los receptores tirosín quinasa, así como la mayoría de receptores para citosina. En términos globales, la señal se transporta mediante GRB2 y de Sos a Ras.) Activada por mitógenos fúngicos conservados, denominada Fmk1, que se requiere para patogenicidad fúngica. Hasta ese entonces se sabía que la infección estaba asociada a la alcalinización, sin embargo, no se conocía cual podría ser el mecanismo molecular que podría estar involucrado.

Varios trabajos de investigación se realizaron en *Fusarium*, verificando la dependencia hacia la alcalinización del medio circundante, es así que, la mayoría de autores se basan a estudiar el comportamiento de *F. oxysporum*, quizás por el alto rango de hospederos que posee o por la gran capacidad de infección hacia plantas de importancia agrícola. Es así que, (Khilare & Ahmed, 2012), realizaron estudios de laboratorio para estudiar el efecto de diferentes cultivos, medios, pH y niveles de temperatura en el crecimiento del micelio de *Fusarium oxysporum* f.sp. ciceri, determinando que, el hongo creció mejor en agar Czapek dox, a un nivel de pH de 6,0 y 6,5 a una temperatura de 30 °C después de siete días de inoculación. En cambio, la esporulación de las clamidiosporas de *F. oxysporum*, se encontró mejor en el nivel de pH 4,5 después de dos semanas de incubación del cultivo en caldo de papa dextrosa (Tyagi & Paudel, 2014), Por su parte, Rathore et al., (2015), trabajaron en diferentes rangos de pH (5, 6, 7, 8 y 9) determinando que a los 7 días, *Fusarium oxysporum* f.sp., cumini mostró un crecimiento máximo (9,0 cm) a pH básico de 8,0 seguido de un pH de 9,0, mientras que se observó un crecimiento mínimo (4,56 cm) a un pH de 5,0. Hossain et al., (2015), trabajaron el efecto de la temperatura y el pH en el crecimiento y la esporulación de *F. moniliforme*, en seis niveles de temperatura (5; 15; 20; 25; 30 y 35 °C) y siete (4; 5; 6; 7; 8; 9 y 10) de pH en tres períodos (3, 6 y 9 días) de medida, determinando que, a 30 °C produjo consistentemente el mayor número de esporas después de nueve días de incubación, además, *F. moniliforme* creció bien en todo el rango de pH probado, pero el diámetro de colonia más amplio y la esporulación máxima se observaron a pH 6 después de 9 días de incubación. Un trabajo de investigación realizado en cinco especies *Fusarium* bajo la influencia de diferentes parámetros ambientales (temperatura, pH, régimen de luz y tipo de medio de

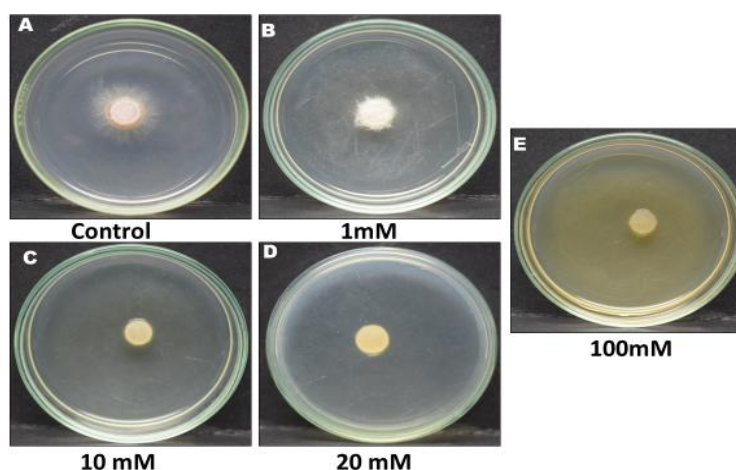
crecimiento) determinó que, el mayor crecimiento de *F.oxysporum* y *F.solani* se obtiene a 25 °C y da un crecimiento (8 y 7,5 cm respectivamente) después de 6 días de incubación. En contraste, *Fusarium proliferatum* revela un crecimiento máximo (8 cm) a 30° durante el mismo período, mientras que *F.sacchari* y *F.globosum* crecen bien a 20°C. El pH óptimo para el crecimiento de todas las especies de *Fusarium* se obtiene a 7,5. El crecimiento de todos los hongos estudiados se reduce significativamente con luz continua en comparación con el que crece en el período oscuro Mohsen et al., (2016).

### 3.3. Pruebas de secuestro de calcio extracelular monitoreado en el crecimiento micelial de 7 especies *Fusarium* encontradas en 9 cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín.

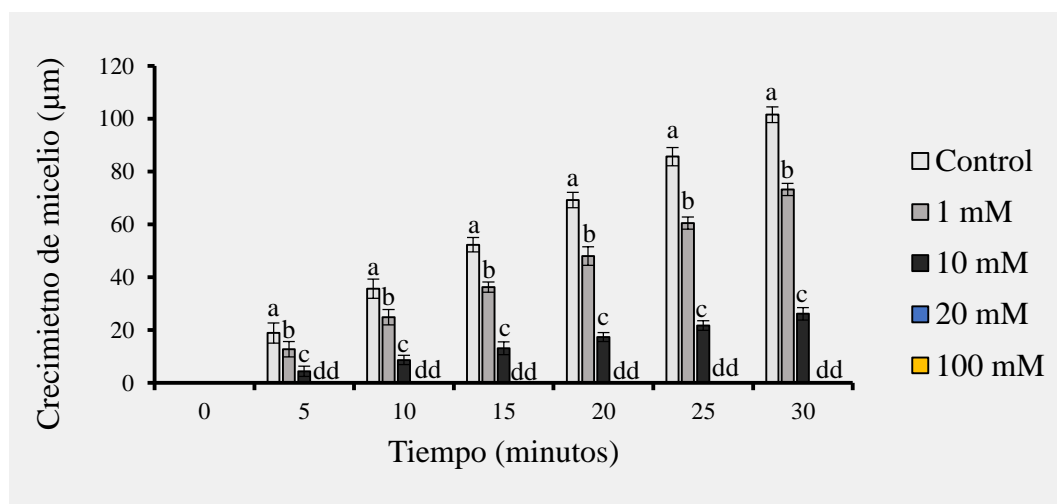
#### 3.3.1. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.).

##### A. Cepa M11-C2: *Fusarium equiseti*

##### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



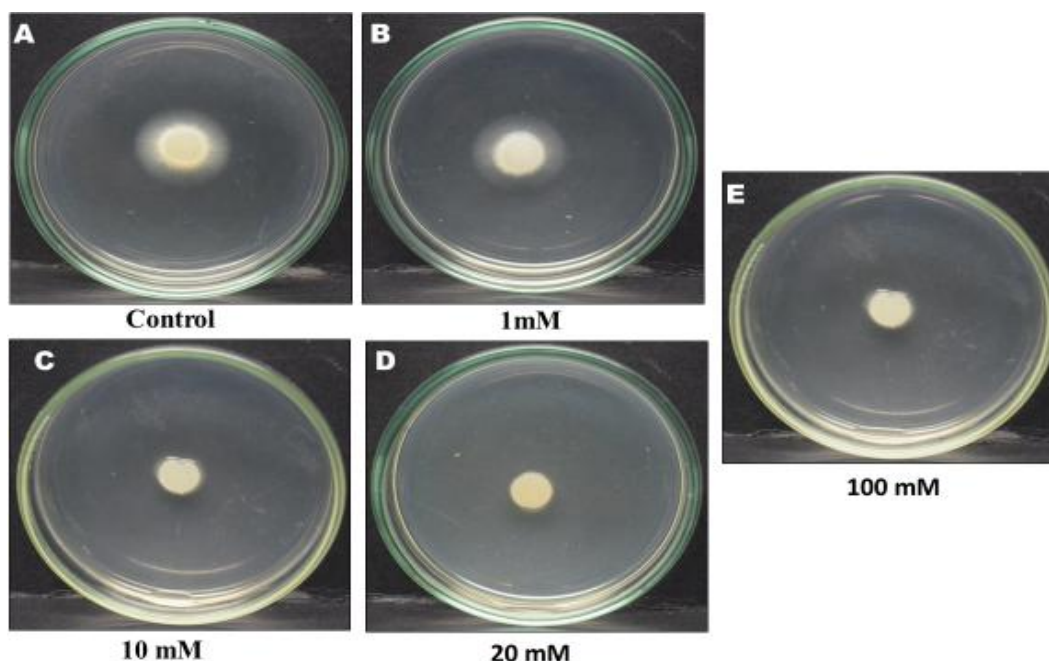
**Figura 69:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium equiseti*. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



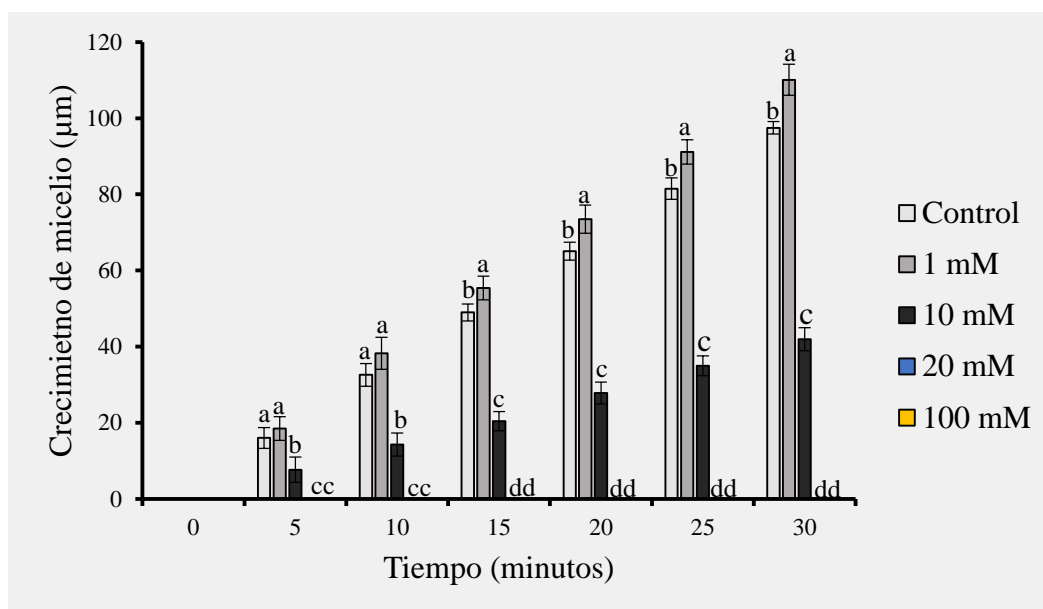
**Figura 70:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de veinte micelios, medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M11-C3: *Fusarium solani*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA.



**Figura 71:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium solani*. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).

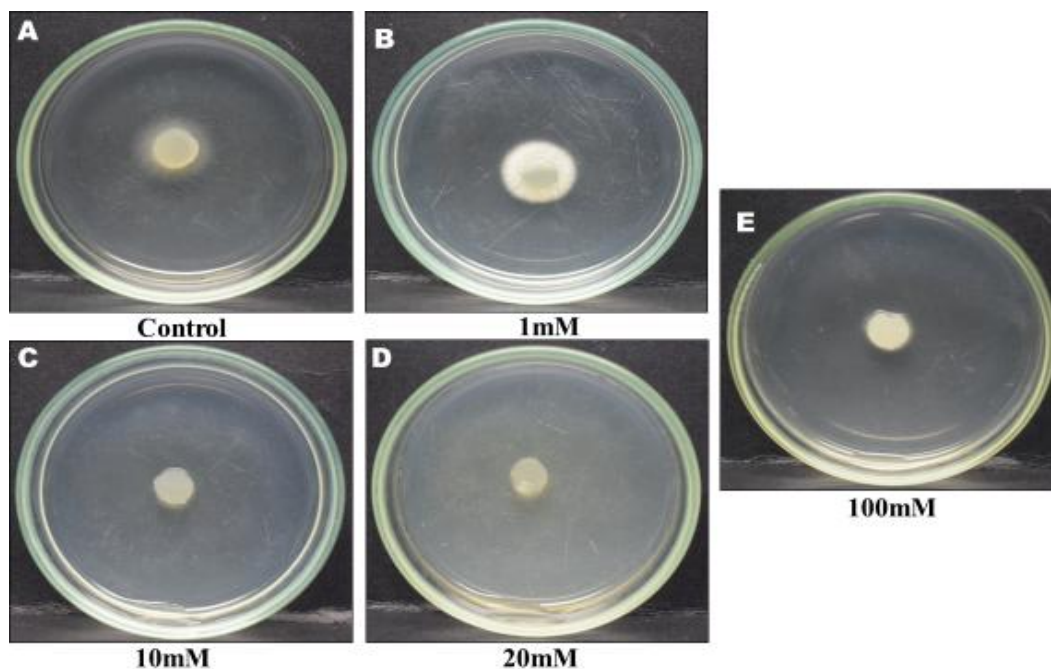


**Figura 72:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

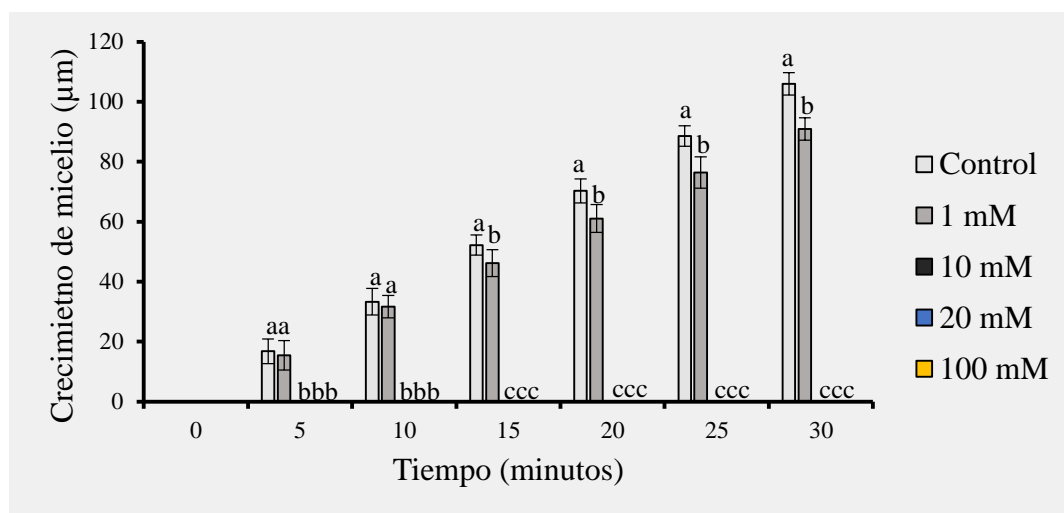
### 3.3.2. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

#### A. Cepa M32-C1: *Fusarium solani*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



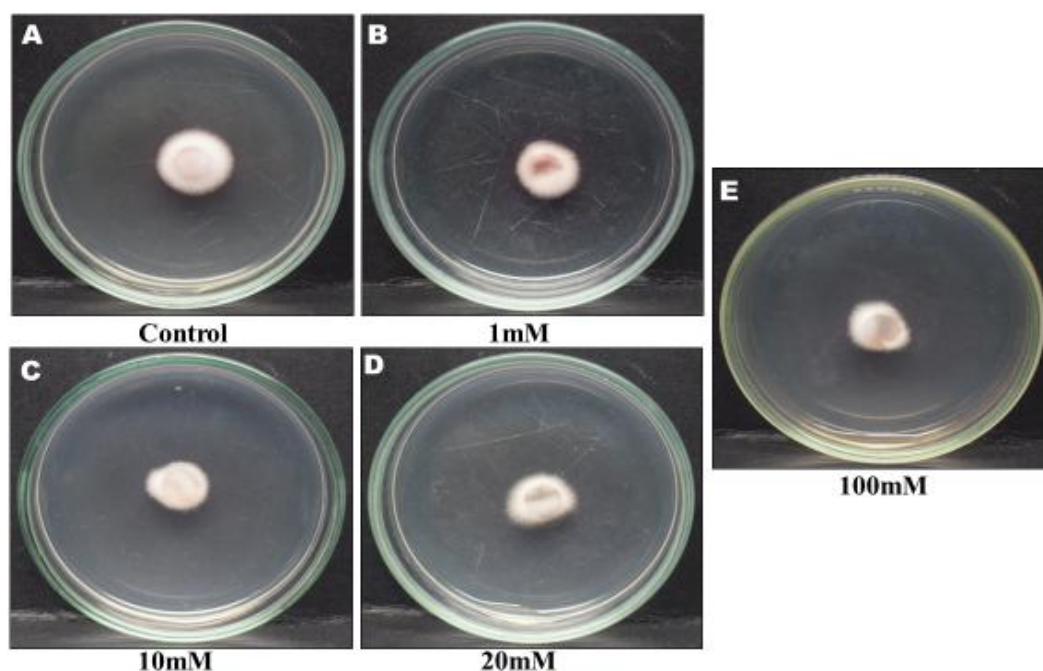
**Figura 73:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium solani*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



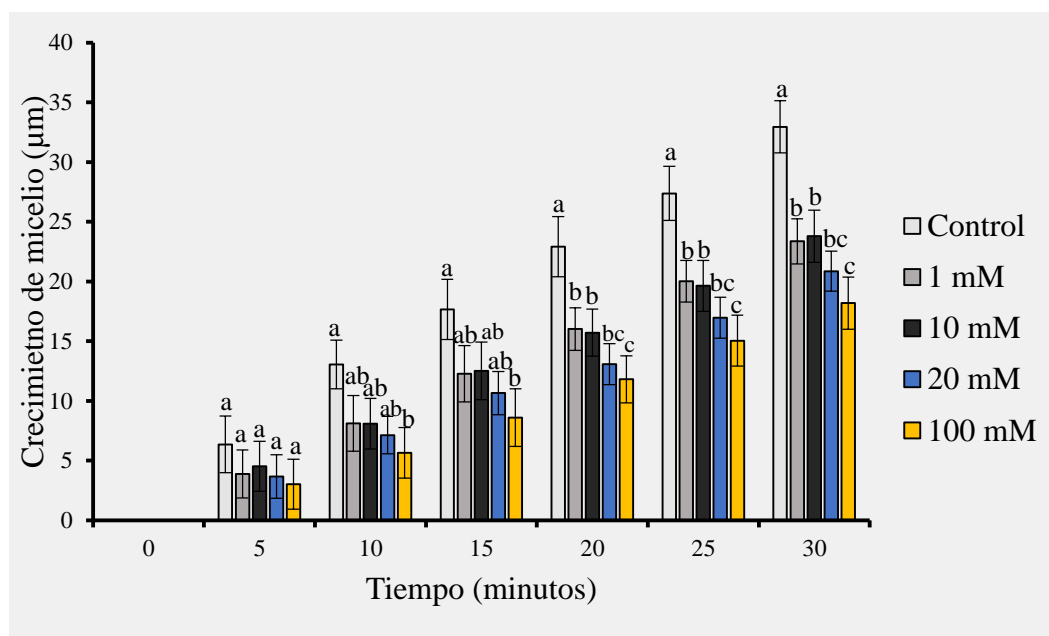
**Figura 74:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M33-C1: *Fusarium moniliforme*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 75:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium moniliforme*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

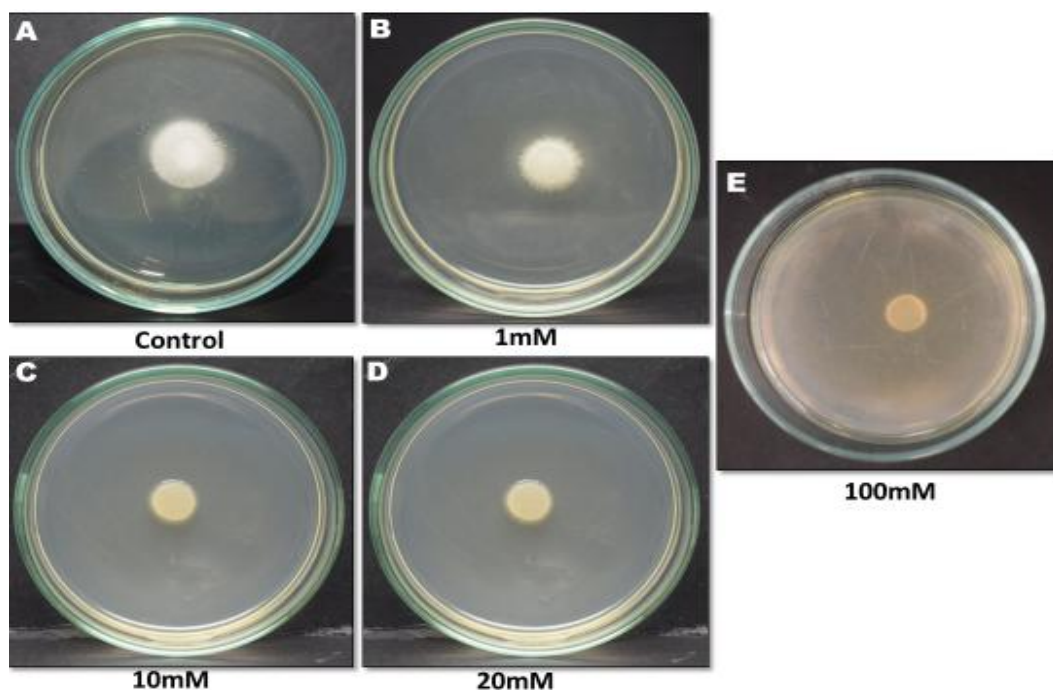


**Figura 76:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

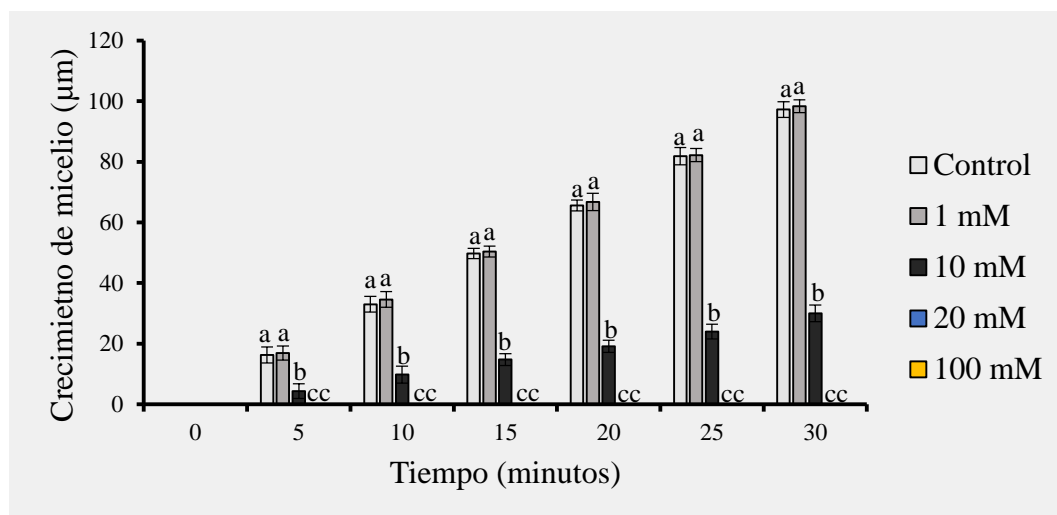
### 3.3.3. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Aji dulce (*Capsicum* spp.).

#### A. Cepa M28-C1: *Fusarium solani*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



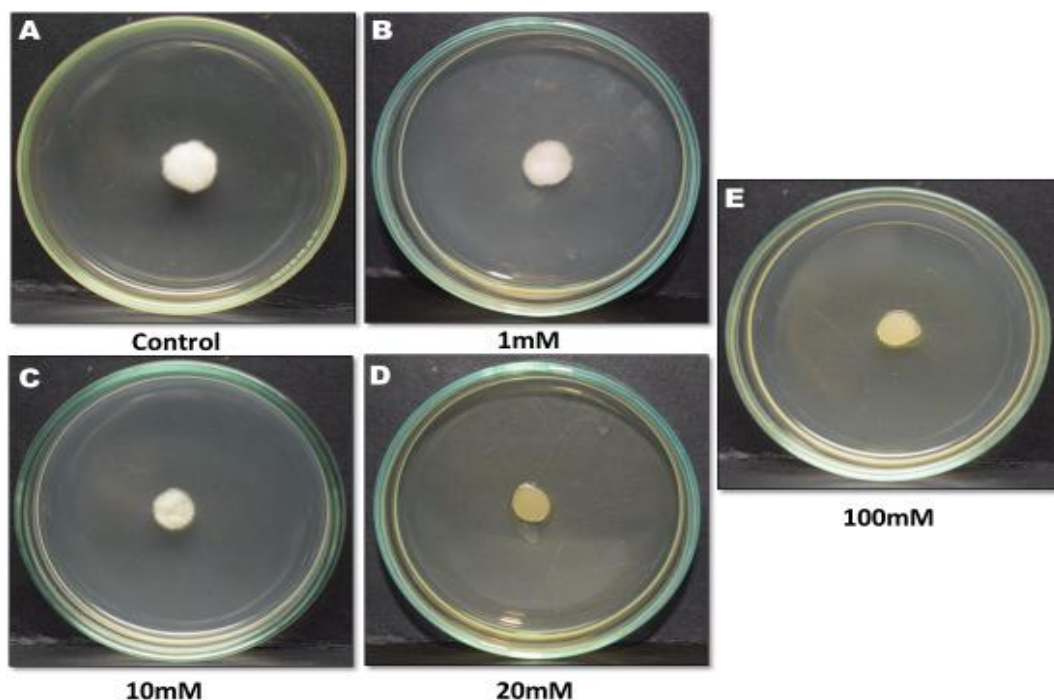
**Figura 77:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium solani*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



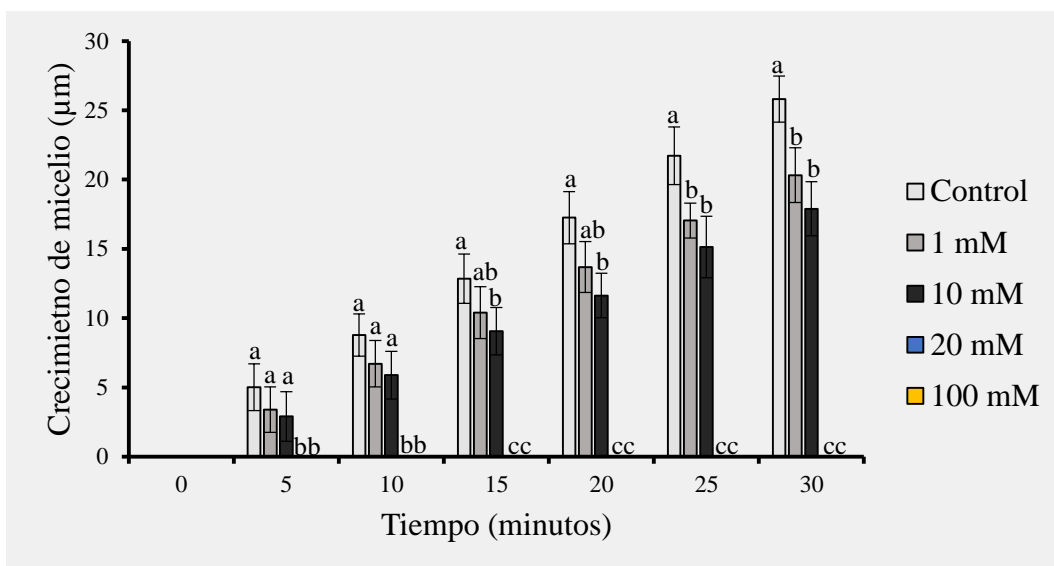
**Figura 78:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco réplicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M12-C1: *Fusarium moniliforme*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 79:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium moniliforme*. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



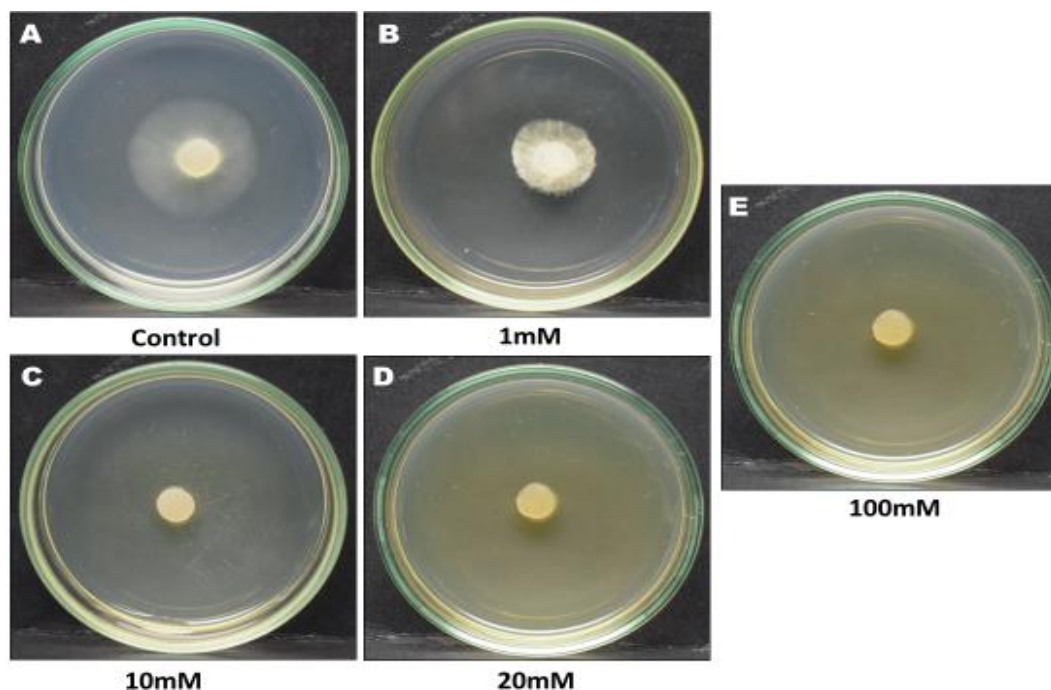
**Figura 80:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.



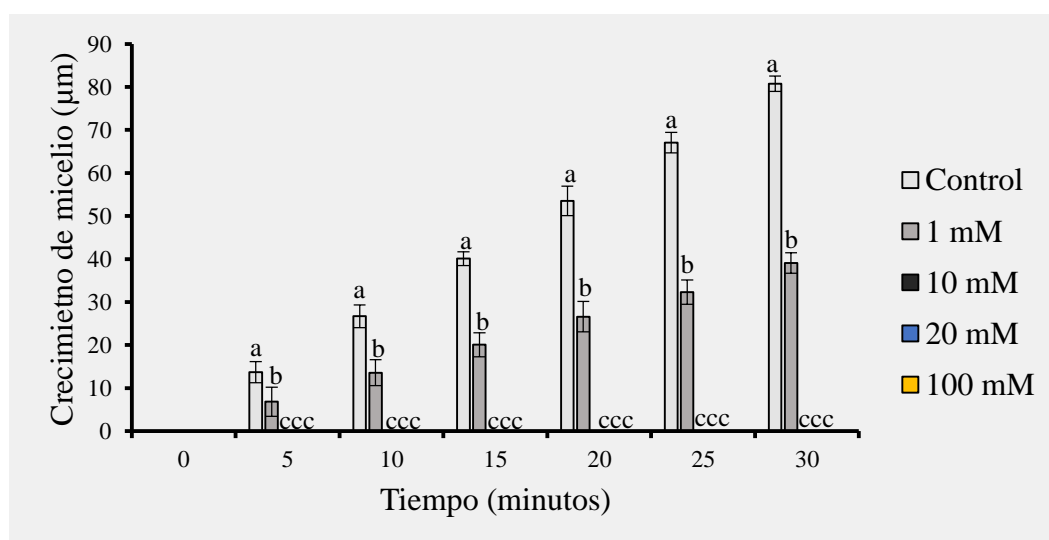
### 3.3.4. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Arroz (*Oryza sativa*).

#### A. Cepa M15-C1: *Fusarium lateritium*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



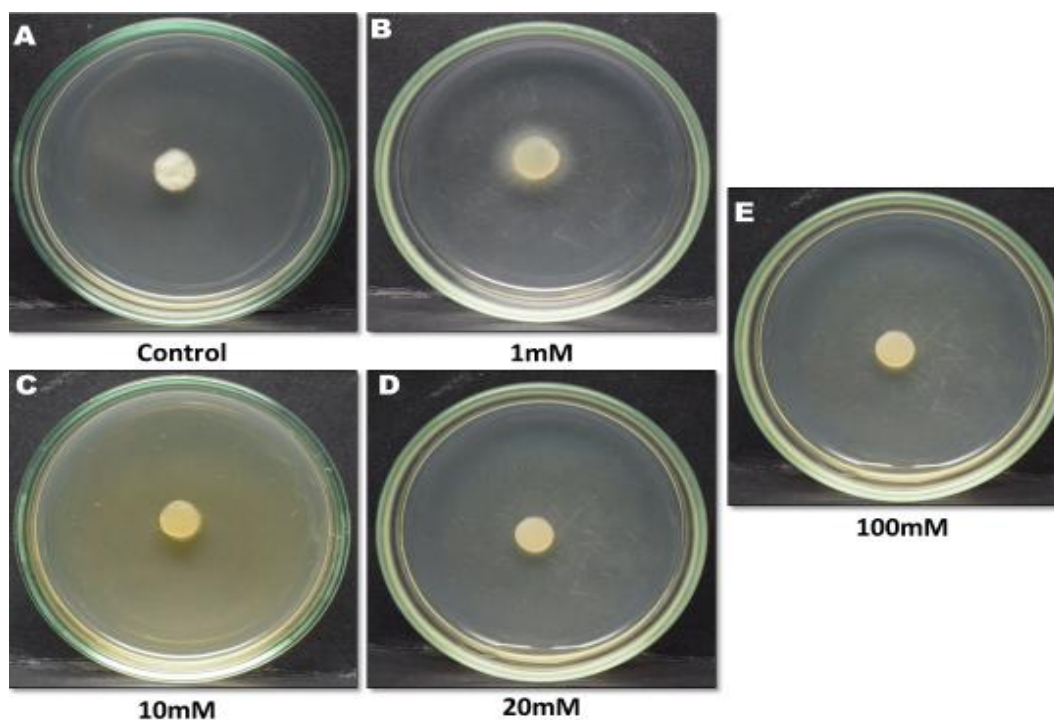
**Figura 81:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium lateritium*. (Fuente: Fotos de Hugo Coz).



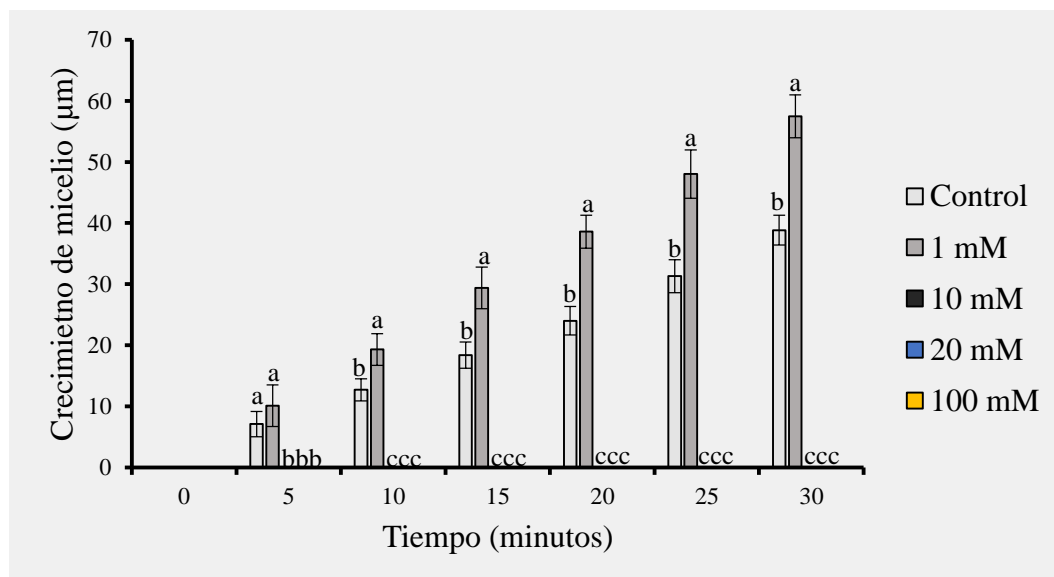
**Figura 82:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios medidas en cinco réplicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M19-C2: *Fusarium lateritium*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 83:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium lateritium*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

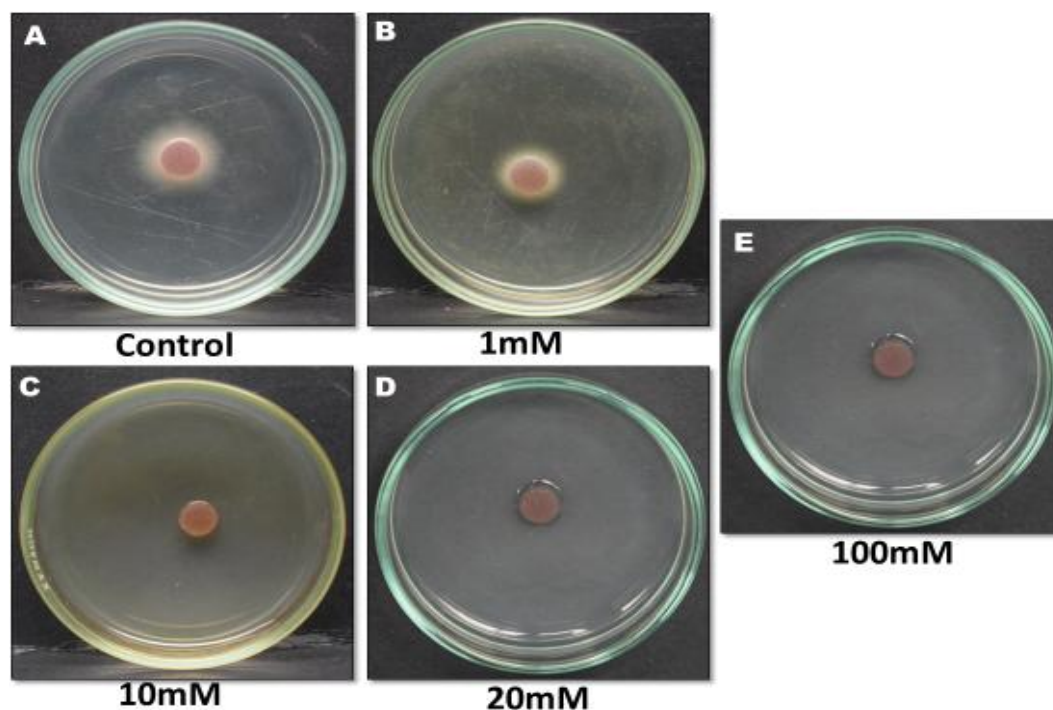


**Figura 84:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

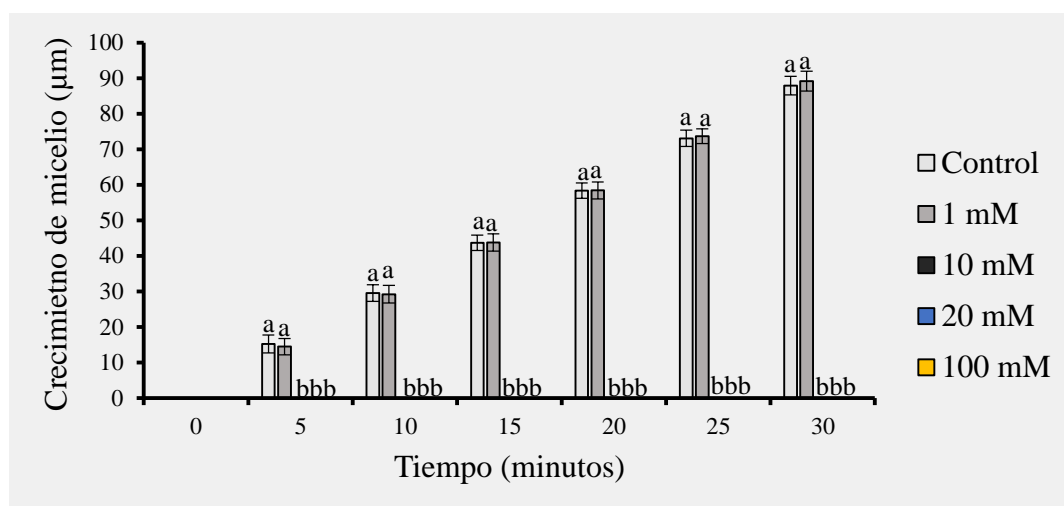
### 3.3.5. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Café (*Coffea arabica* L.).

#### A. Cepa M38-C1: *Fusarium solani*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



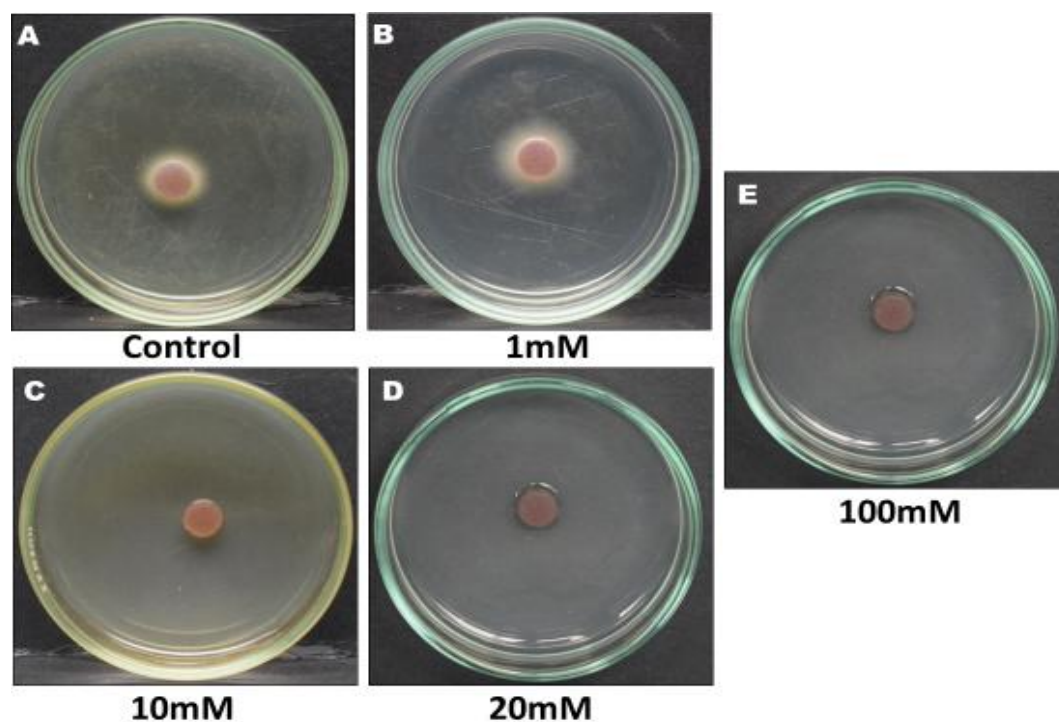
**Figura 85:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium solani*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



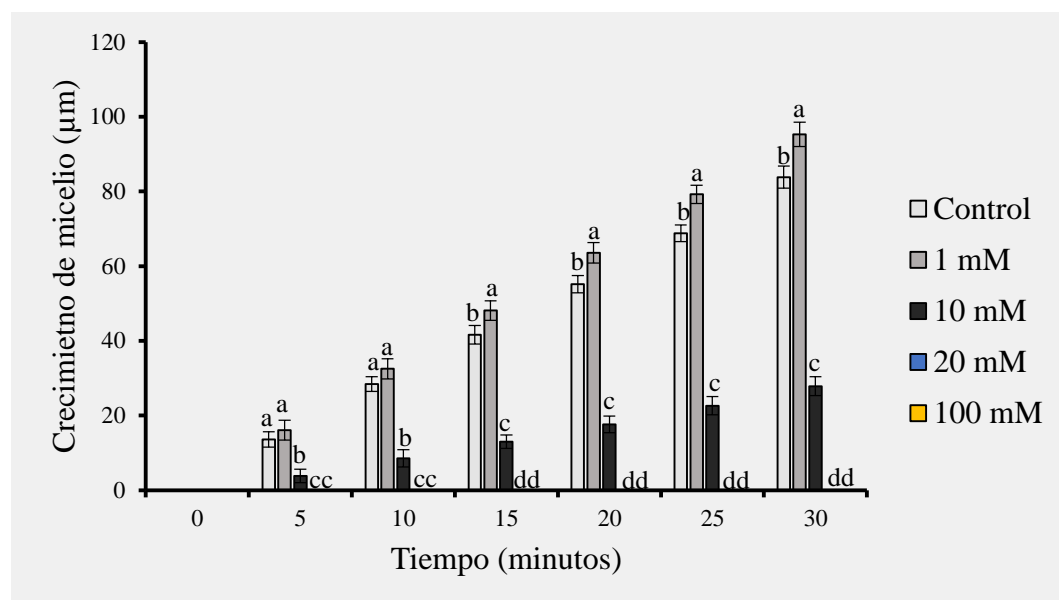
**Figura 86:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M39-C1: *Fusarium solani*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 87:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium solani*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

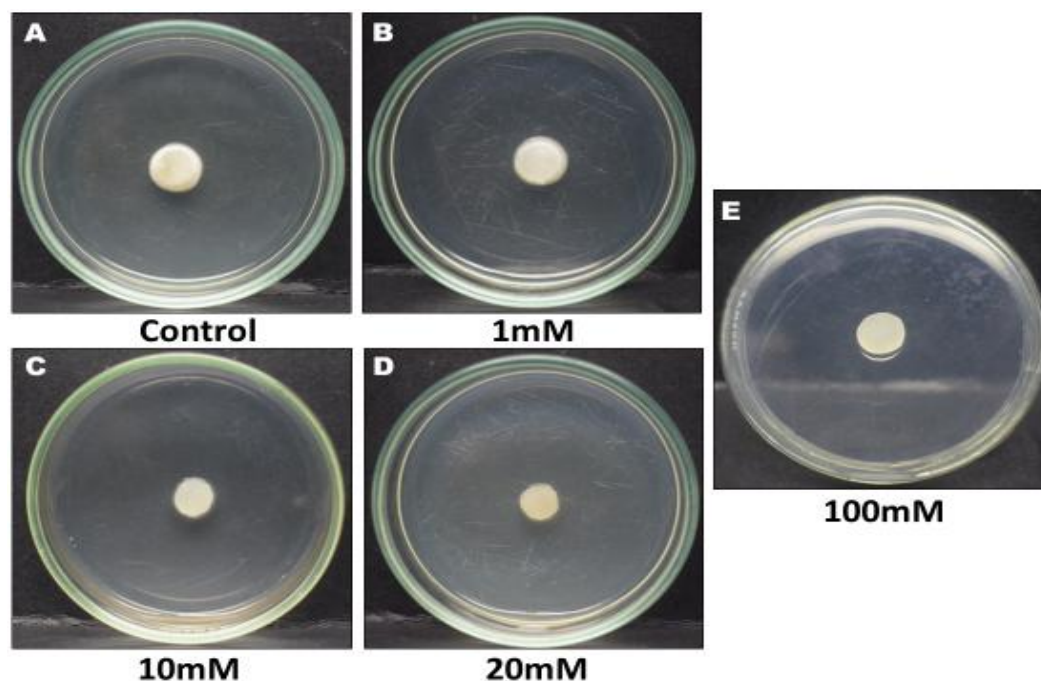


**Figura 88:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

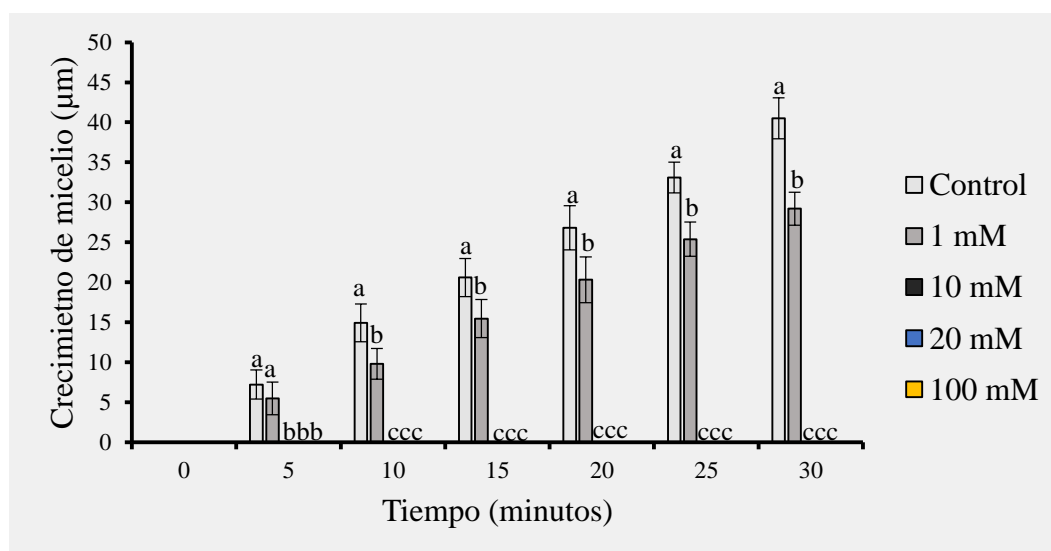
### 3.3.6. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Plátano (*Musa* spp.).

#### A. Cepa M3-C2: *Fusarium moniliforme*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



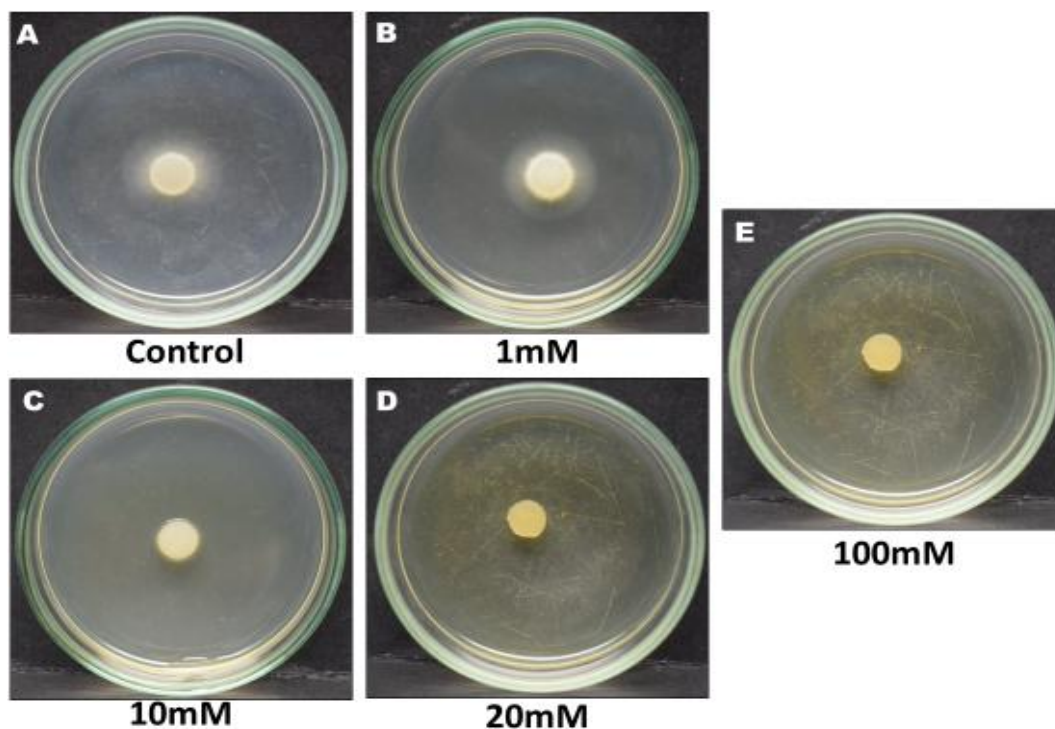
**Figura 89:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium moniliforme*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



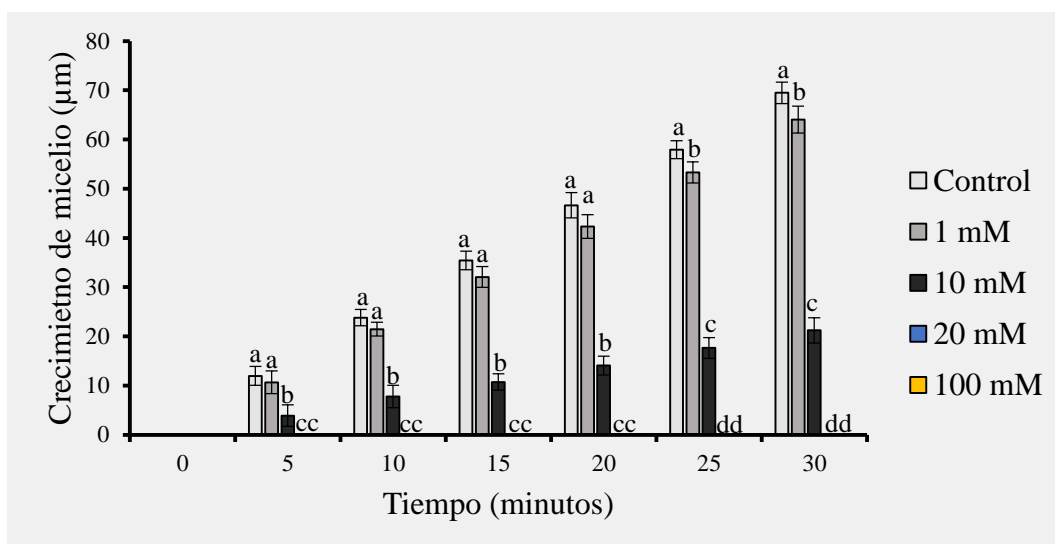
**Figura 90:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M6-C4: *Fusarium solani*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 91:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium solani*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

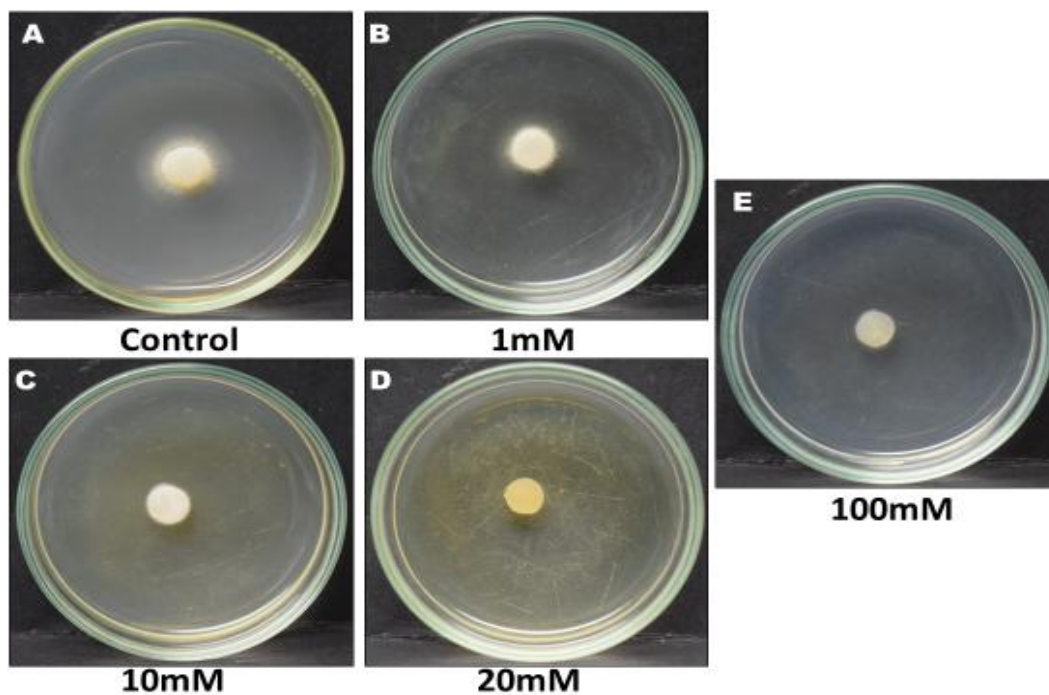


**Figura 92:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

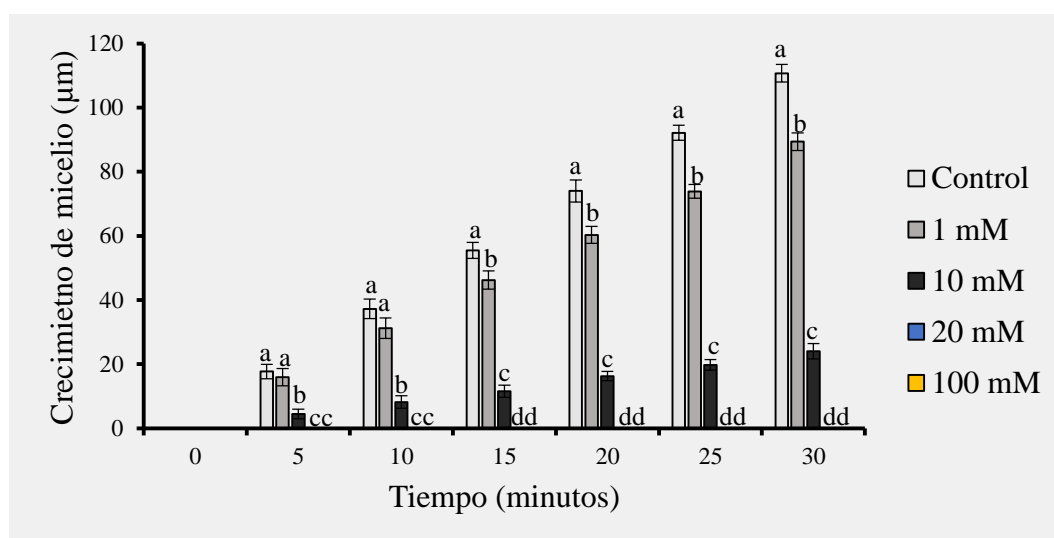
### 3.3.7. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Frijol Huasca Poroto (*Phaseolus* sp.).

#### A. Cepa M37-C1: *Fusarium moniliforme*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



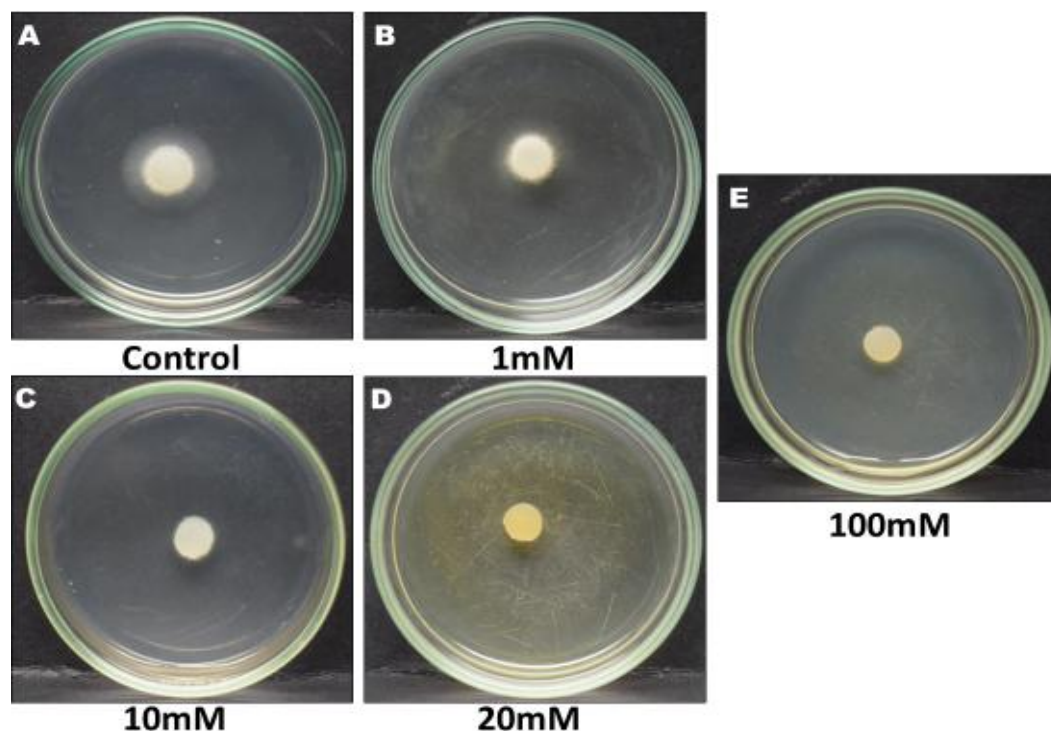
**Figura 93:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium moniliforme*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



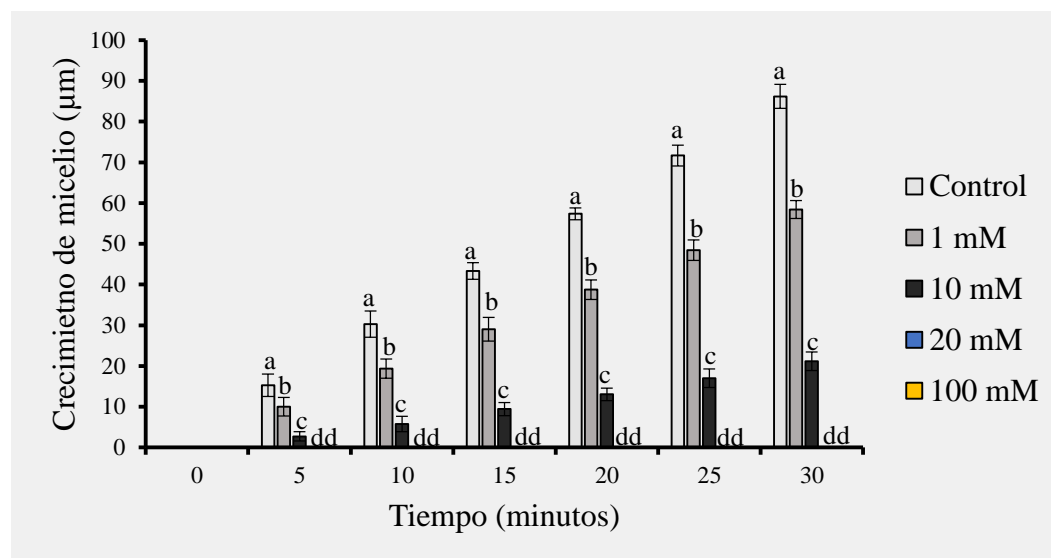
**Figura 94:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M36-C1: *Fusarium moniliforme*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 95:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium moniliforme*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



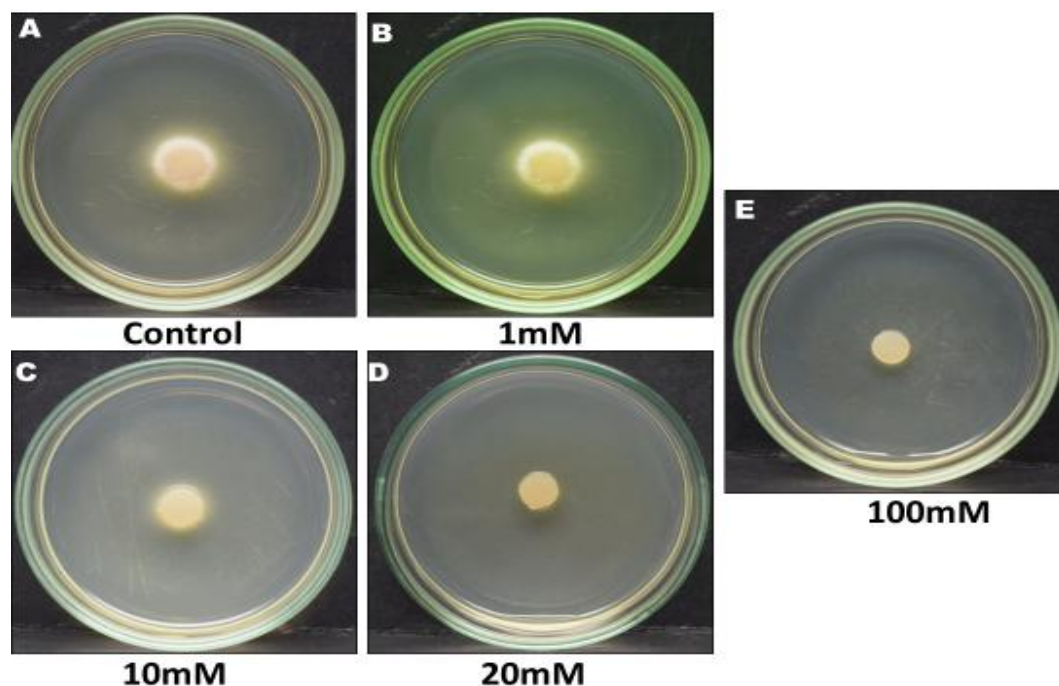
**Figura 96:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco réplicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.



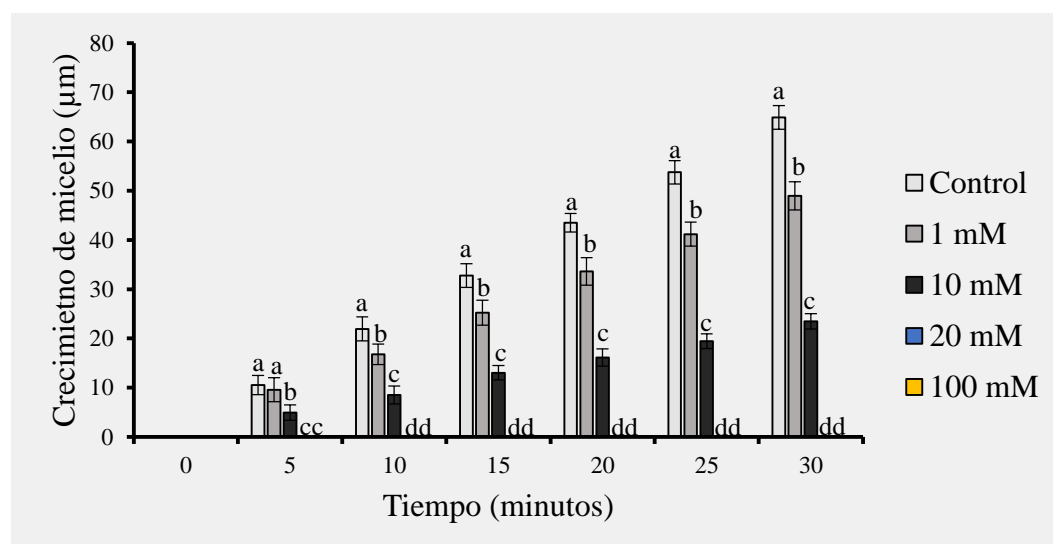
### 3.3.8. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Maíz amarillo duro en grano (*Zea mays* L.).

#### A. Cepa 14-C1: *Fusarium regidiuscula*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



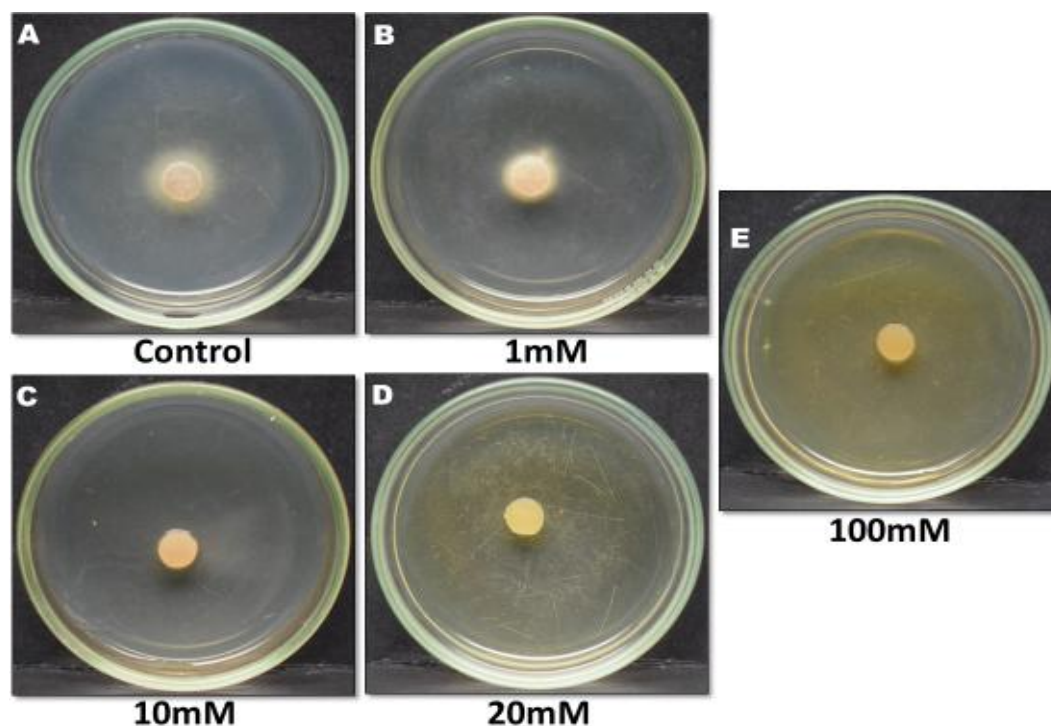
**Figura 97:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. A) Control (PDA puro sin EDTA); B) PDA + 1mM EDTA; C) PDA + 10mM EDTA; D) PDA + 20mM EDTA y E) PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium regidiuscula*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



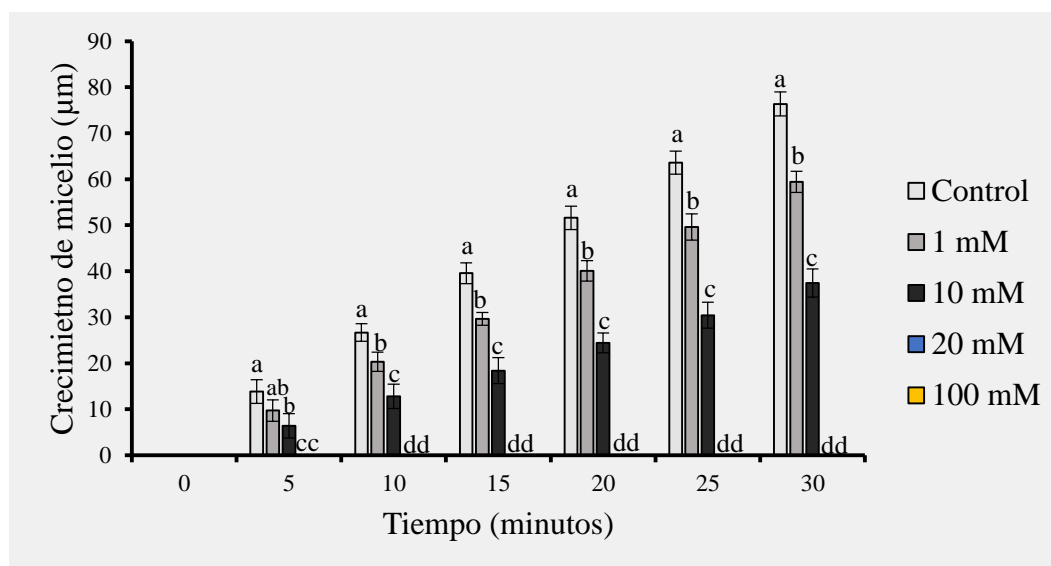
**Figura 98:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco réplicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa 31-C1: *Fusarium solani*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 99:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium solani*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

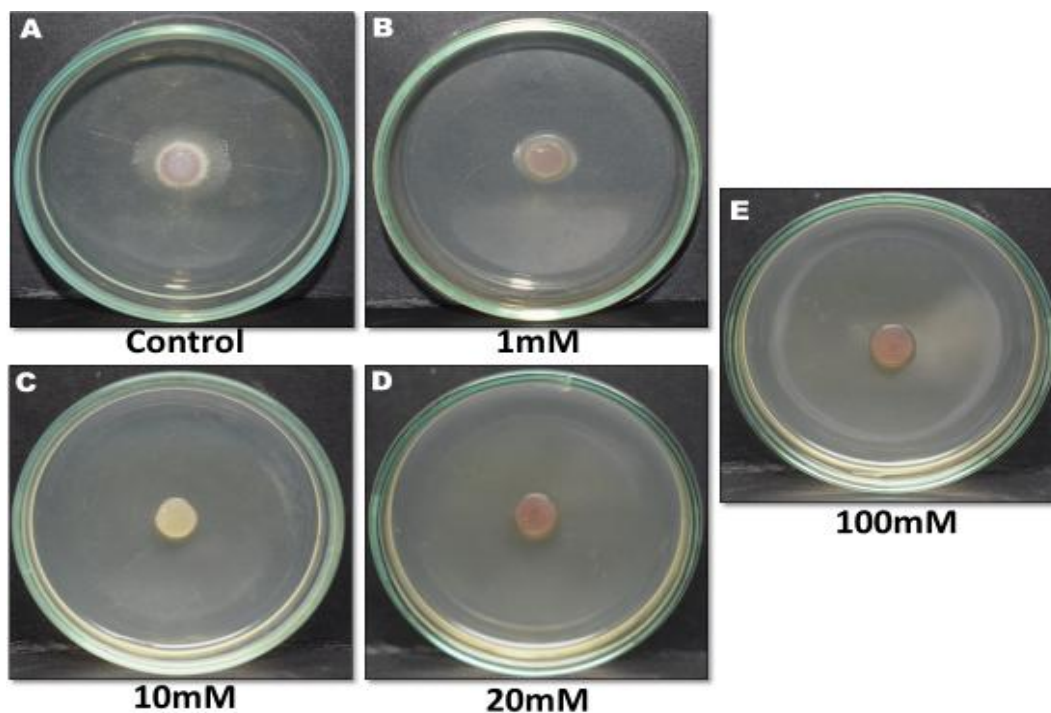


**Figura 100:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

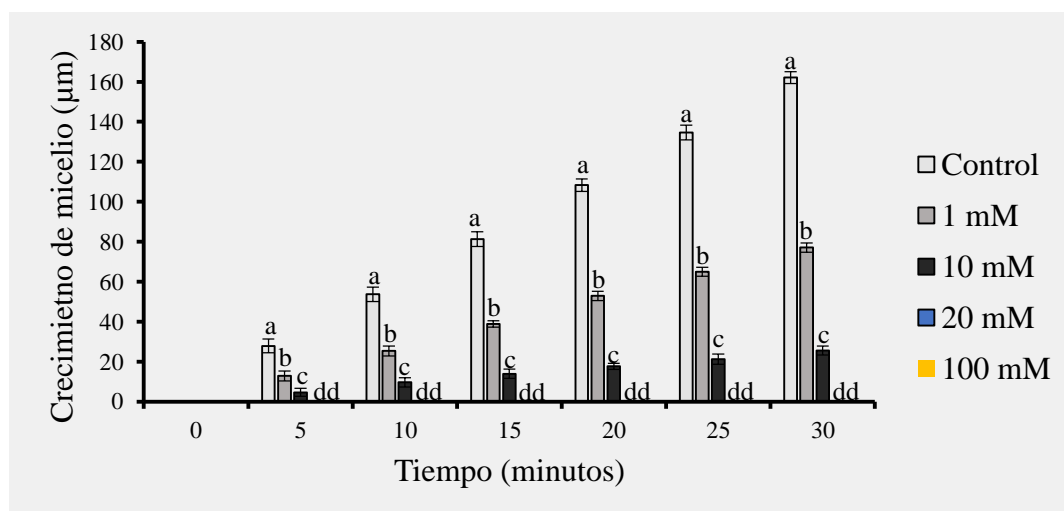
### 3.3.9. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Culantro castilla (*Coriandrum sativum* L.).

#### A. Cepa M2-C5: *Fusarium tricinctum*

#### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



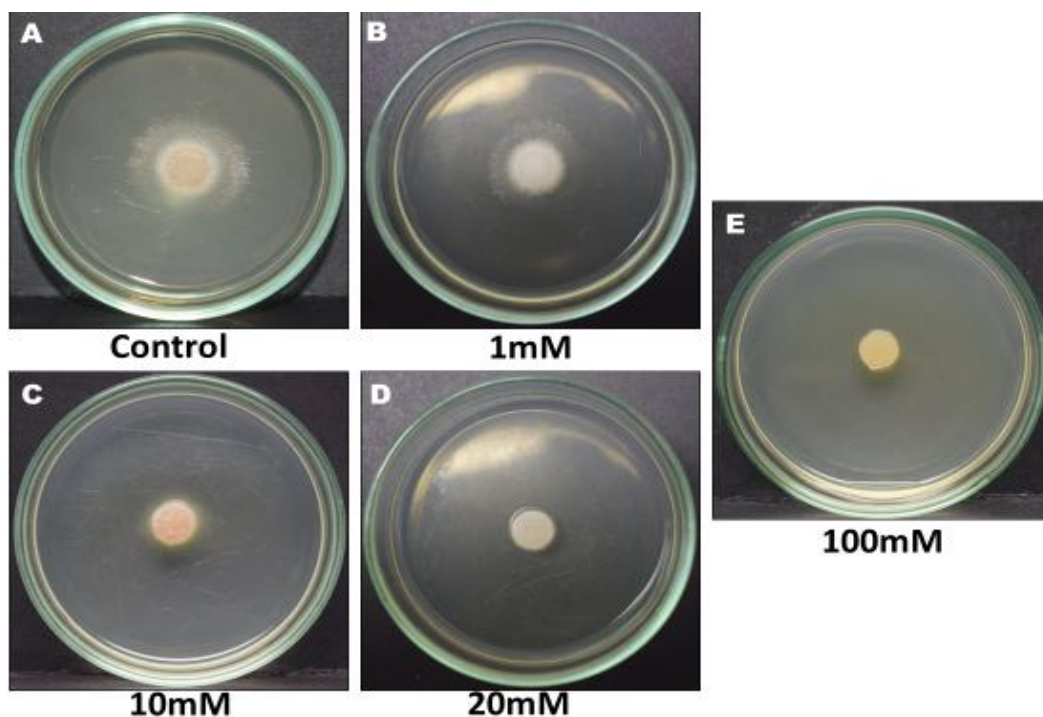
**Figura 101:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. A) Control (PDA puro sin EDTA); B) PDA + 1mM EDTA; C) PDA + 10mM EDTA; D) PDA + 20mM EDTA y E) PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium tricinctum*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



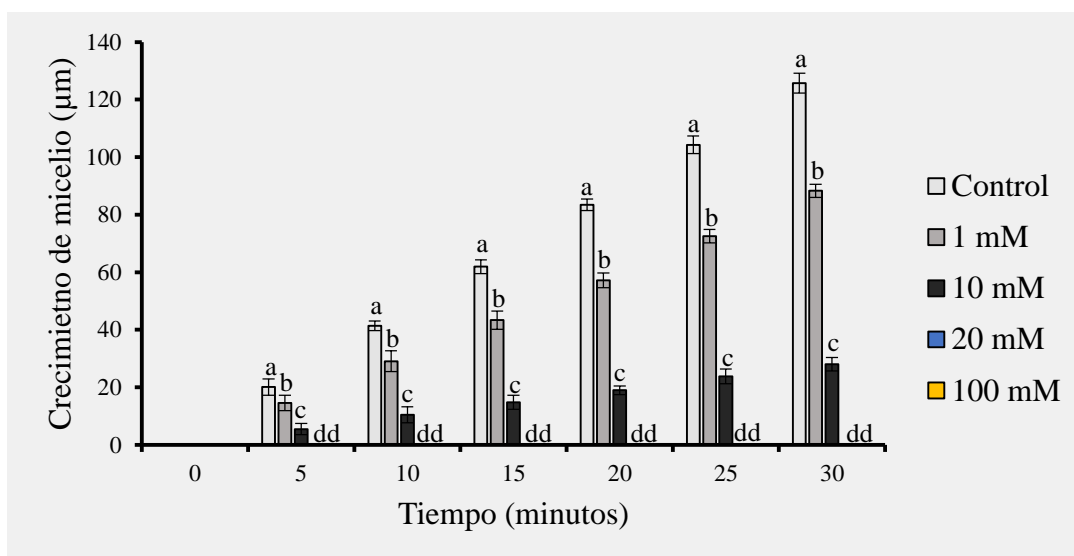
**Figura 102:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

## B. Cepa M2-C2: *Fusarium episphaeria*

### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA



**Figura 103:** Placas con PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A)** Control (PDA puro sin EDTA); **B)** PDA + 1mM EDTA; **C)** PDA + 10mM EDTA; **D)** PDA + 20mM EDTA y **E)** PDA + 100mM EDTA. En *Fusarium episphaeria*. (Fuente: fotos de Hugo Coz).



**Figura 104:** Crecimiento micelial monitoreado por un sistema time-lapse sobre diferentes intervalos de tiempo y condición de EDTA. Las barras muestran la media de 20 micelios de medidas en cinco replicas biológicas independientes (n=20 por cada réplica biológica). Comparación de medias por test de Tukey ( $p > 0,01$ ), medias muestran la desviación estándar. Letras distintas muestran diferencias significativas.

### 3.3.10. Discusión:

#### **Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de Calcio (1mM, 10 mM, 20 mM, 100 mM) y un testigo “Control”.**

Como se puede apreciar en estos resultados obtenidos mediante las pruebas de calcio, se determinó que el uso de un agente quelante, como EDTA, cumple la función de secuestrar calcio extracelular. El mismo que fue utilizado en diferentes concentraciones de: “1mM, 10 mM, 20 mM, 100 mM; más un testigo o Control. Llegando a la conclusión que la disponibilidad de calcio extracelular en el medio es esencial para el crecimiento micelial de siete especies *Fusarium* estudiadas en el presente trabajo de investigación.

Así mismo se observó que cada uno de estas especies, manifestaron diferentes comportamientos durante el crecimiento micelial de las colonias en los diferentes tratamientos con EDTA; algunas especies fueron afectadas más que otras a medida que se reducía disponibilidad de calcio.

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), no posee calcio; ya que es un agente quelante, que tiende a secuestrar iones de  $\text{Ca}^{+2}$ , además de formar varios complejos de sales y metales. Así mismo forma complejos muy estables con la mayoría de los cationes y a la estequiometría de los quelatos formados. Los complejos de EDTA son ampliamente utilizados en limpiadores y detergentes, en la agricultura o en el procesamiento de alimentos (Oviedo & Rodríguez, 2003). En la agricultura, el EDTA se utiliza en productos agroquímicos para estabilizar formulaciones o para proporcionar micronutrientes como zinc, manganeso, hierro, cobre, magnesio, calcio y potasio. El EDTA también se reconoce como un agente antibacteriano que rompe la integridad de la membrana y como un potenciador de otros agentes letales (Oita, 2003). Las propiedades antifúngicas de EDTA se probaron principalmente en levaduras (Kubo et al., 2005). De Lucca, (2006) determinó que el EDTA inhibió a las 48 h el crecimiento conidial no germinal a concentraciones de: *F. moniliforme* (25  $\mu\text{g/ml}$ ) y *F. solani* (400  $\mu\text{g/ml}$ ), concluyendo que el EDTA no fue significativamente letal para los conidios probados, además en condiciones de prueba, el EDTA no es fungicida, pero inhibe el desarrollo de hifas en conidios no germinados y en germinación. En cambio, Kim et al., (2016), estudiaron el efecto del EDTA contra *F. fujikuroi*, el EDTA tuvo un efecto fungistático en la inhibición reversible del crecimiento, además no causó cambios

morfológicos significativos, estos resultados indicaron que los agentes quelantes, como el EDTA, tiene diferentes modos de acción antimicrobiana en *F. fujikuroi*. Datos obtenidos por (Michniewicz et al., 2001) al estudiar “El efecto de calcio en la producción de etileno y ácido abscísico, por el hongo *Fusarium culmorum* con plántulas de trigo infectadas con ese patógeno” demostraron que al trabajar con las plántulas de trigo infectadas y las no infectadas con *Fusarium culmorum*, crecieron en medios con diferente contenidos de calcio a razón de (0, 2, 4 y 8 mM) y producto de ello descubrieron que cuanto mayor era el contenido de calcio en el medio, mayores eran las cantidades de etileno producidas tanto en plántulas de trigo infectadas, y las no infectadas, mientras que el nivel de ABA en sus tejidos disminuía. Considerando el hecho de que el etileno inhibe, mientras que ABA estimula el crecimiento y desarrollo de *Fusarium culmorum*, se puede suponer que la producción de etileno aumenta bajo la influencia del calcio y la disminución del nivel de ABA en las plántulas de trigo causa la reducción del crecimiento y desarrollo del patógeno y como resultado, disminuye el grado de infección de plántulas por este hongo. Por su parte, trabajos realizados en otros hongos fitopatógenos, como los realizados por Abrunhosa & Venâncio (2008), estudiaron el efecto antifúngico de Na<sub>2</sub>EDTA en *Aspergillus carbonarius*, *A. ibericus*, *A. niger* y una cepa de *A. niger* no ocratoxigénica, suplementado con 0, 1 y 10 mM/L de Na<sub>2</sub>EDTA. Los diámetros de las colonias se registraron diariamente, observando reducciones significativas de las tasas de crecimiento en presencia de Na<sub>2</sub>EDTA, siendo la CE50 (Concentración Efectiva) calculada de 2,1 mM/L para *A. carbonarius*, 0,9 mM/L para *A. ibericus*, 2,0 mM/L para *A. niger* y 4,1 mM/L para el *A. niger* no ocratoxigénico, concluyendo que Na<sub>2</sub>EDTA puede reducir significativamente las tasas de crecimiento de los hongos analizados.

Aunque la diferencia del crecimiento micelial de las tres fue muy notorio a simple vista tal y como se aprecia en los cuadros estadísticos. Las especies que solo crecieron en 2 Test con diferentes concentraciones de calcio; pero con mayor crecimiento micelial, en las pruebas de control, fueron las siguientes especies: *F. solani* (M32-C1), en sacha inchi; *F. lateritium* (M15-C1), en arroz variedad esperanza; y *F. moniliforme* (M3-C2), en plátano. Las otras especies que también crecieron en 2 Test con diferentes concentraciones de calcio; pero con mayor crecimiento micelial, en las pruebas de 1Mm, fueron las especies: *F. solani* (M38-C1), en café y *F. lateritium* (M19-C2), en arroz variedad feron. Todas estas especies solo lograron crecer con toda normalidad en

estas 2 pruebas de Control y en 1mM. Y la única especie que creció con toda normalidad en las 5 pruebas con captura de calcio, fue la especie *Fusarium moniliforme* (M33-C1), en sachá inchi. Las razones son inexplicables, razón por el cual sería necesario trabajar más a fondo y muy detallado con esta cepa en próximos trabajos de investigación.

## Conclusiones

### ❖ Se concluye que:

Se ha logrado mediante este trabajo de investigación, la identificación de 7 especies del género *Fusarium*, aislados de 9 cultivos agrícolas; colectadas en 10 localidades de 5 provincias de la Región San Martín, entre ellas: Picota (localidad: San Hilarión), San Martín (localidad: morales-el sector Bijao), Bellavista (localidad: Vainilla, Limón y Utcubamba), Lamas (localidad: Aucaloma y Pachilla) y El Dorado (localidad: San Juan de Talliquihui, Shucshuyacu y Leticia); en los cultivos de: Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), Cacao (*Theobroma cacao* L.), Arroz (*Oryza sativa*), Frijol Huasca poroto (*Phaseolus* sp.), Ají dulce (*Capsicum* sp.), Café (*Coffea arabica* L.), Maíz amarillo duro (*Zea mays*), Plátano (*Mussa* sp.) y Culantro castilla (*Coriandrum sativum*).

Así mismo se determinó el papel fundamental de la condición de pH inducida, evaluando el crecimiento micelial de las 7 especies descritas anteriormente en los 9 cultivos agrícolas, con 18 aislamientos puros, los cuales manifestaron ser dependientes del pH (rangos, 5; 6 y 7), en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA; medio óptimo para crecimiento de estas especies), obteniendo como resultados que, algunas especies son más sensibles que otras. La especie que demostró mayor crecimiento micelial en el proceso de evaluación monitoreada fue: *Fusarium lateritium* (M19-C2), tal como se aprecia en la Figura 48. Seguida de las demás especies (las cuales se tuvo como resultado final que, todas las especies *Fusarium*, fueron dependientes a estos rangos de pH).

En la disponibilidad de Calcio extracelular sobre el crecimiento micelial de las 7 especies encontrados en tejidos vasculares de 9 cultivos agrícolas con 18 aislamientos puros ya descritos anteriormente (se demostró que a medida que se aumenta las concentraciones de EDTA, el crecimiento micelial de las 6 especies se redujo, a excepción de una, fue el caso de la cepa *Fusarium moniliforme* (M33-C1), aislada en plantas de sachá inchi; se demostró que no tiene impedimento alguno para crecer con toda normalidad en las diferentes concentraciones de EDTA inducida).



## Recomendaciones

- ❖ Con la micoteca generada en el presente trabajo de investigación se recomienda realizar ensayos de Test de patogenicidad, identificación de especies empleando marcadores moleculares para cada especie.
  
- ❖ Así mismo, se recomienda ampliar los estudios de interacción específica hospedante-*Fusarium*, con la finalidad de poder entender mecanismos básicos de interacción.
  
- ❖ Como también, sería muy importante estudiar más a fondo la secreción de enzimas, la cual está relacionada con el crecimiento invasivo que se produce en hongos filamentosos tanto saprotróficos como biotróficos. Los primeros desempeñan un papel clave en la descomposición de los desechos vegetales, especialmente celulosa y lignocelulosa, y se sabe que muchos hongos producen las enzimas que hidrolizan estos polisacáridos.
  
- ❖ Explorar si estas nuevas especies *Fusarium*, segregan péptidos (F-RALF) responsables por atacar cultivos agrícolas importantes en la Región San Martín. Como es en caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, en tomate, el cual produce y secreta un péptido homólogo (F-RALF) originalmente encontrado en extractos proteicos de hojas de tabaco. Este péptido, así como su homólogo encontrado en tabaco causa una fuerte y rápida alcalinización extracelular

## Referencias bibliográficas

- Ade Rosmana\*, Iren P Papalangi, Sepsriyanti Kannapadang, Moh Danial Rahim,. (2014). Cultural and pathogenic characterization of *Fusarium* fungi isolated from dieback branches of cacao. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(10):1-6.
- Adu-Acheampong, R. A. (2012). Resistance to dieback disease caused by *Fusarium* and *Lasiodiplodia* species in cacao (*Theobroma cacao* L.) genotypes. *Exp. Agric.*, 48: 85-98.
- Agrios. (2005). *Plant pathology* (Quinta ed.). Nueva York: Elsevier Academic Press. Recuperado el 01 de 05 de 2017
- Agrios, G. (2006). Enfermedades de las Plantas ocasionadas por Hongos. *Editorial Limusa*, pp 356-360.
- Bacic, M. K. (1998). *In vivo* characterization of dimethylsulfoniopropionate lyase in the fungus *Fusarium lateritium*. . *Applied and Environmental Microbiology* 64: 106-111. (*lateritium*) .
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. *Burgess Publishing Company.*, 241 p.
- Batista, L. (2009). El Cultivo de Cacao. *CEDAF (Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal, Inc)*.
- Batlle & Pérez. (Setiembre de 2009). Variabilidad Genética de las Poblaciones de *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense en bananos y platanos de cuba. *Fitosanidad*, 13, vol. 13,n.3.
- Bayer, E., Shoham, Y., y Lamed, R. (2006). Cellulose-descomposing bacteria and their enzyme systems. *Prokaryotes*, 2: 578-617.
- Belalcázar, S. (1991). El cultivo del plátano (*Musa* AAB Simmonds) en el trópico. *Manual de Asistencia Técnica N° 50. ICA*, 376.
- Booth, A., y Johnston, C. (1983). *Plant Pathologist's Pocket Book*. kew surrey: 2nd edition, Commonwealth Mycological Institute.
- Booth, C. (1984). The *Fusarium* problem: historical, economic, and taxonomic aspects. En *The Applied mycology of Fusarium. Edited by Moss, M. O. and Smith, J. E.: Press Syndicate of the University of Cambridge.*, pp. 1-13.
- Borges García, M., Estrada Abeal, E., Pérez Rodríguez, I., y Meneses Rodríguez, S. (2009). Uso de distintos tratamientos de desinfección en el cultivo in vitro de *Dioscorea alata* L. clon caraqueño. *Revista Colombiana de Biotecnología. Volumen 11, Número 2*, p. 127-135.
- Boumaaza, B., Benkhalifa, M., y Belkhoudja, M. (2015). Effects of two salts compounds on mycelial growth, sporulation, and spore germination of six isolates of *Botrytis*

- cinerea in the Western North of Algeria. *International Journal of Microbiology*, 1-8.
- Brown, D. T. (1995). *Expression of the cyanide hydratase enzyme from Fusarium lateritium in Escherichia coli and identification of an essential cysteine residue*. . FEMS Microbiology Letters 134: 143-146. (*lateritium*).
- Céspedes, I. E. (Junio de 2016). Cultivo de Sacha inchi. Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología Estación Experimental Agraria “El Porvenir” - Tarapoto.
- Cessna, S. e. (2000). Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst. *Plant Cell*, 12(11): p. 2191-200.
- Chen, J. (2016). FERONIA interacts with ABI2-type phosphatases to facilitate signaling cross-talk between abscisic acid and RALF peptide in Arabidopsis. . *Proc Natl Acad Sci USA*. .
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical- Colombia). (2015). Obtenido de Centro Internacional de Agricultura Tropical | FAO: Centro Internacional de Agricultura Tropical-Colombia- CIAT. (2015). Manejo e identificación de enfermedades que afectan las raíces en el cultivo de frijol. Obtenido de <http://teca.fao.org/es/technology/manejo-e-identificaci%C3%B3n-de-enfermedades-que-afe>
- Córdoba, e. a. (2012). Estadística y Biometría. *Ilustraciones del uso de InfoStat en problemas de agronomía.*, 400 pp.
- Covey, P. (2010). A pollen-specific RALF from tomato that regulates pollen tube elongation. *Plant Physiol*, 153(2): p. 703-15.
- Cultural and pathogenic characterization of *Fusarium* fungi isolated from dieback branches of cacao. . (2014). *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(10):1-6.
- Desjardins. (2006). *Fusarium*. Micotoxins: Chemistry, Genetics and Biology. *The American Phytopathological Society.*, P 260.
- Díaz de Castro et al. (2007). *Microbiología de las infecciones humanas*. Medellín.Colombia: Primera Edición.
- DRASAM. (2016). <http://www.drasam.gob.pe/vista/web/docs/Diagnostico-Arroz-Maíz.pdf>.
- Edgar Martínez-Fernández<sup>1</sup>, Patricia Martínez-Jaimes<sup>1</sup>, Dagoberto Guillén Sánchez<sup>2</sup>, Guadalupe Peña-Chora<sup>1</sup>, Víctor Manuel Hernández-Hernández<sup>3</sup>. (2015). Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología* , vol. 42: 33-43 .
- El Peruano. (16 de Agosto de 2018). <https://elperuano.pe/noticia-cafe-peruano-para-todo-mundo-40740.aspx>. Obtenido de <https://elperuano.pe/noticia-cafe-peruano-para-todo-mundo-40740.aspx>.

- Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. (1995). *Phytophthora Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, MN, USA, 562 pp.*
- Figuroa et al., 2. (2010). Caracterización de especies de *Fusarium* asociada a la pudrición de raíz en Guanajato, Mexico. *Revista mexicana de Fitopatología Vol 28 N°2 Texacoco.*
- Gagkaeva, T. (2008). Introduction to *Fusarium* taxonomy.
- Galán, J. (2001). *Theobroma cacao* L. abc de la agricultura Dominicana, pp. 117-122.
- Germain, H. (2005). Characterization of five RALF-like genes from *Solanum chacoense* provides support for a developmental role in plants. *Planta.*, 220(3): p. 447-54.
- Gillespie, L. J. (1993). A synopsis of neotropical Plukenetia (*Euphorbiaceae*) including two new species. . *Systematic Botany* , 18 (4): 575 – 592.
- González, I., y Yailén, A. y. (2012). Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*-tomate. *Revista de Protección Vegetal* , 27(1), 1-7.
- González, J. (2011). Plagas y Enfermedades del Cacao. Instituto Dominicano de investigaciones Agropecuarias y Forestales (Idiaf). Plan de apoyo al manejo de las plantaciones del cacao para el clúster de Cacao y sus derivados.
- González, P. (06 de 26 de 2006). Enfermedades del Tomate. Obtenido de [http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium\\_tom.html](http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html): [http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium\\_tom.html](http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html)
- Groenewald, S. (2006). *Pathogenicity and diversity of Fusarium oxysporum F.sp. cubense*. Sudáfrica: Pretoria.
- Groenwel. (2006). *Fusarium oxysporum* as a multi host model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals infection and immunity. .
- Gudiel, M. (1987). Manual Agrícola Superb. Ged. *Guatemala, Superb.*, pp. 202-205 (N° 6. 1085-1987).
- Haruta et al. (2008). A cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> functional assay for identifying and purifying endogenous cell signaling peptides in Arabidopsis seedlings: identification of AtRALF1 peptide. *Biochemistry*, 47(24): p. 6311-21.
- Haruta et al. (2014). A peptide hormone and its receptor protein kinase regulate plant cell expansion. *Science*, 343(6169): p. 408-11.
- Henriksson, G. D. (1997). *Identification and retting efficiencies of fungi isolated from dew-retted flax in the United States and Europe*. Applied and Environmental Microbiology 63: 3950-3956. (*lateritium*).
- Hernández et al. (2007). Incidencia de Hongos potencialmente Toxígenos de maíz (*Zea mays* L.) Almacenado y Cultivado en el Norte de Tamaulipas,. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25:127-133.
- Hoog et al. (2000.). Atlas of clinical fungi. *Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.*, P 1126.

- INEI. (25 de Agosto de 2016). <http://www.americaeconomia.com/negocios-industrias/produccion-de-arroz-en-peru-totalizara-31-millones-de-toneladas-este-ano>.
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias- INIA. (2014). *Aspectos generales para el cultivo de Cilantro (Coriandrum sativum L.)*. Obtenido de [www.inia.cl](http://www.inia.cl): <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR40721.pdf>
- Jarret et al. (2009). Variability for free sugars and organic acids in *Capsicum chinens*. *Chemistry and Biodiversity*, 6:138-145.
- Jiménez. (2010). *Patología Vegetal II*. Madrid: MMAMRM.
- K. Chehri, B. Salleh, T. Yli-Mattila, K.R.N. Reddy, S. Abbasi. (2011). Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from kermanshah province, Iran. *Saudi Journal of Biological Sciences* .
- Khilare y Ahmed, 2. (2012). Effect of different media, ph and temperature on the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. ciceri causing chickpea wilt . *International Journal of Advanced Biological Research*, vol.2(1) 2012:99-102.
- Kubo, I.,S.H. Lee and T.J. Ha. (2005). Effect of EDTA alone and in combination with polygodial on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agric. Food Chem.*, 53:1818-1822.
- Leslie & Summerell. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell publishing., P 369.
- Link, H. F. (1809). *Observationes in ordines plantarum naturalis, Dissetatio I.* . Mag. Ges. Naturf. Freunde, Berlin 3: 3-42. (1, 8, 9).
- Linneo, C. v. (1735). *Sistema natural*.
- López et al. (2004). Influencia del pH y de los medios de cultivos en la expresión de los de valor diagnóstico de las especies del género *Fusarium* en Cuba. *Fitosanidad [en línea] 2004, 8 (Septiembre-Sin mes) : [Fecha de consulta: 2 de julio de 2018] Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209117853002>> ISSN 1562-3009* .
- Luo et al. (2011). Recent advances in the study on capsaicinoids and cap-sinoids. *European Journal of Pharmacology*, 650:1-7.
- M Shahadat Hossain<sup>1\*</sup>, M Ayub Ali<sup>2</sup>, ZR Moni<sup>3</sup>, M Sirajul Islam<sup>4</sup>, MR Islam<sup>5</sup>. (2015). Effect of temperature and pH on the growth and sporulation of *Fusarium moniliforme*: Causing bakanae disease of rice. *Scientia Agriculturae*, 151-154.
- Ma, et al. (2013). *Fusarium Pathogenomics*. *Annual review of microbiology*, 67,399-416.
- Marasas et al. (1984). *Toxigenic Fusarium Species*. Pennsylvania State Univ. Press, University Park.

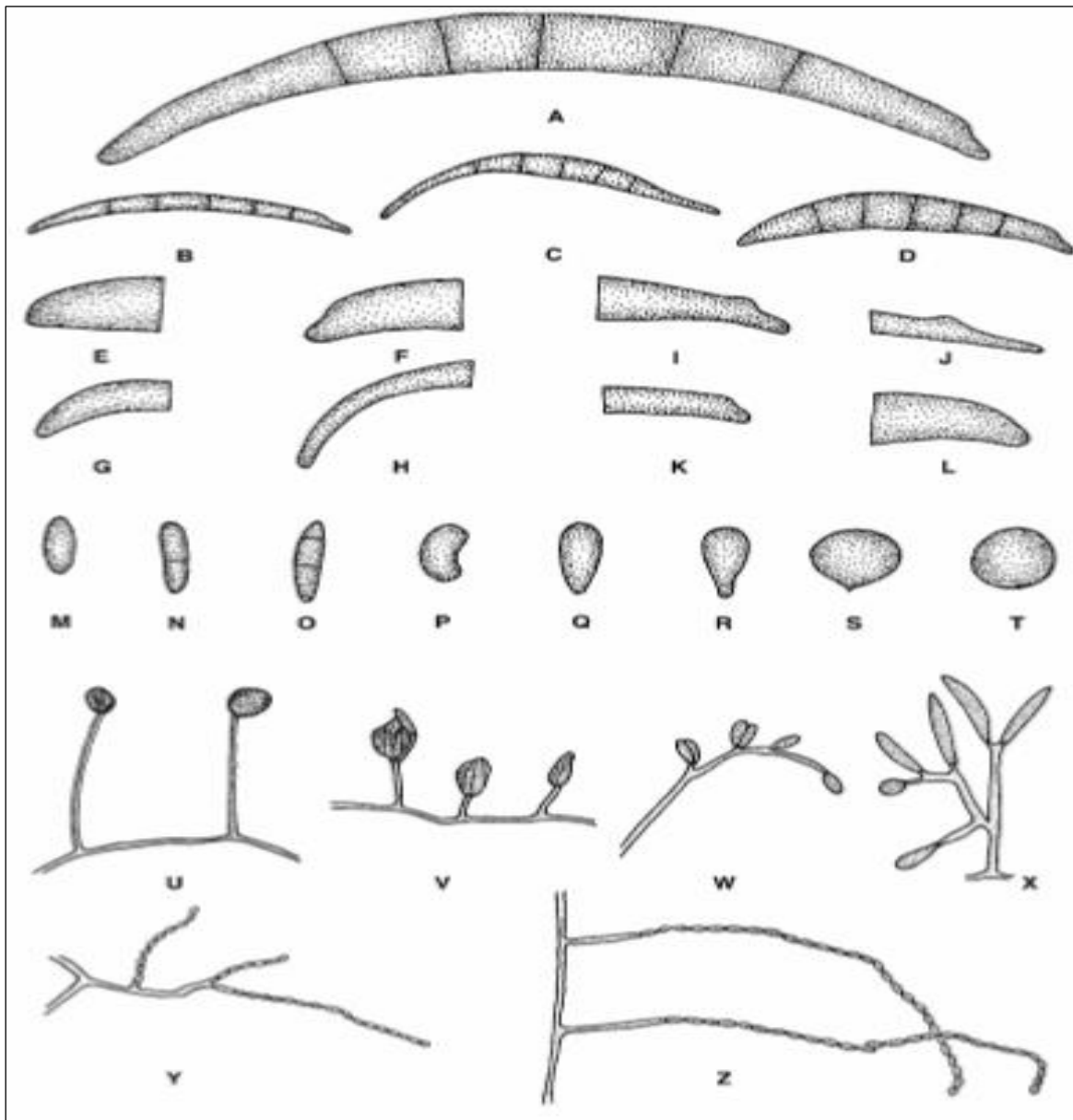
- Martínez-Fernández et al. (2015). Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología*, vol. 42: 33-43.
- Masachis et al. (2016). A Fungal Pathogen secretes plant alkalizing peptides to increase infection. *Nature Microbiology*, 1, 16043.
- Materska M. (2008). Quercetin and its derivatives: chemical structure and bioactivity – A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58:407-413.
- Matos, J. (2008). A conserved dibasic site is essential for correct processing of the peptide hormone AtRALF1 in *Arabidopsis thaliana*. . *FEBS Lett*, 582(23-24): p. 3343-7.
- Matthäus, B. (2009). Chemical evaluation of some paprika (*Capsicum annum* L.). seed oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111:1249-1254.
- Michniewicz et al. (9 de Setiembre de 2001). El efecto de calcio en la producción de etileno y ácido abscísico, por el hongo *Fusarium culmorum* y por las plántulas de trigo infectadas con ese patógeno. *Departamento de Fisiología Vegetal y Morfogénesis, Instituto de Biología General y Molecular. Universidad Nicholas Copernicus*, Vol.23.No.1.2001:79-85.
- Mingossi, F. (2010). SacRALF1, a peptide signal from the grass sugarcane (*Saccharum* spp.), is potentially involved in the regulation of tissue expansion. *Plant Mol Biol*, 73(3): p. 271-81.
- Mohsen, L., y Jebor, J. K.-J. (2016). The effect of some environmental conditions on the growth and activity of the external enzymes for five sp. of *Fusarium*. *Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences*, No.(3)/ Vol.(24).
- Mondico, P. (24 de Abril de 2009). *Preparación de medios de cultivo*. Obtenido de <https://docplayer.es/21550807-Preparacion-de-medios-de-cultivo-y-metodos-de-siembra-informe.html>: <https://docplayer.es/21550807-Preparacion-de-medios-de-cultivo-y-metodos-de-siembra-informe.html>
- Moore et al. (1995). *Fusarium wilt of banana. Musa Disease Fact Sheet N.5. International Of Bananan and Plantain (INIBAP)*, 4.
- Morato do Canto, A. (2014). Biological activity of nine recombinant AtRALF peptides: implications for their perception and function in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem*, 75: p. 45-54.
- Nelson. (1983). *Fusarium species and illustrated Manual for identification. University State Pennsylvania*, 193.
- Nolan, L. M. (2003). *The cyanide hydratase enzyme of Fusarium lateritium also has nitrilase activity*. *FEMS Microbiology Letters*221: 161-165. (*lateritium*).
- Oirsa. (2009). América Latina discute programa para la protección del cultivo del banano y plátano. *Mirador Agrosanitario No. 3*, 12.
- Oita, S. 2. (2003). Synergistic bactericidal effect of  $\alpha$ -purothionin and chelating agents for gram-negative food-poisoning bacteria. . *Bull. Natl. Agric. Res. Cent.*, 2:59-66.

- Orteneda et al., 2004; Groenwel, 2006. (s.f.). *Fusarium oxysporum as a multi host model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals infection and immunity.*
- Pardo y Duran (1999); Summerell et al. (2001). *Fusarium. American Phytopathological Society Press.*, 408 pp.
- Pearce. (2001 a). RALF, a 5-kDa ubiquitous polypeptide in plants, arrests root growth and development. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 98(22): p. 12843-7.
- Pearce. (2001 b). Production of multiple plant hormones from a single polyprotein precursor. *Nature*, 411 (6839): p. 817-20.
- Pérez, D. E. (2017). *Cilantro (Coriandrum sativum L.) un cultivo ancestral con potencial sub-utilizado.* México: Comité Editorial del CIR-CENTRO.
- Prusky, D. a. (2003). Pathogenic fungi: leading or led by ambient pH? *Mol Plant Pathol*, 4(6): p. 509-16.
- Prusky, D. e. (2001). Local modulation of host pH by *Colletotrichum* species as a mechanism to increase virulence. *Mol Plant Microbe Interact*, 14(9): p. 1105-13.
- Robson, G. D., Wiebe, M. G., & Trinci, A. P. (1991). Low calcium concentrations induce increased branching in *Fusarium graminearum*. *Mycological Research*. 95 (5), 561-565.
- S. S. Rathore, S. N. Saxena, Y. K. Shurma, B. K. Mishra and B. Singh. (2015). Effect of pH and salt levels on growth of *Fusarium oxysporum* f.sp.cumini isolate from cumin. *ICAR-National Research Centre on Seed spices, Tabiji, Ajmer*, 100-101.
- Saicon. (2007). Anuario Estadístico de Producción Agrícola. *SAGARPA*, 603 P.
- Seung Won Kim. Jae Kweon Park. Cho Heun Lee. Bum-Soo Hahn. Bum-Soo Hahn. (Received: 3 September 2015 / Accepted: 22 November 2015.). Comparison of the Antimicrobial Properties of Chitosan Oligosaccharides (COS) and EDTA against *Fusarium fujikuroi* Causing Rice Bakanae Disease. *Curr Microbiol*.
- Sharma, M. M. (2012). Cilantro. *Manual de hierbas y especias.*, Pág. 525.
- Sneh, et al. (1991). Identification of Rhizoctonia species. *The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, MN, USA*, 358 p.
- Snyder Snyder, W.C.; Hansen, H.N. . (1940). *The species concept in Fusarium.* . American Journal of Botany. 27 : 66 - 67.
- Srivastava, R. (2009). Regulation and processing of a plant peptide hormone, AtRALF23, in Arabidopsis. . *Plant J.*, 59(6): p. 930-9.
- Sumalan et al. (2013). Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chemistry Central Journal*, 7 (1), 1-12.

- Summerell BA, Leslie JF, Backhouse D, Bryden WL, Burgués LW. (2001). *Fusarium*: Paul E. Nelson Memorial symposium: . *American Phytopathological Society Press.*, 408 pp.
- Swati Tyagi and Rajan Paudel. (2014). Effect of different pH on the growth and sporulation of *Fusarium oxysporum*: The causal organism of wilt disease of Tomato. *International Journal of Basic and Applied Biology (IJBAB)*, Volume 2, Number 1; October, 2014 pp. 103 – 106.
- Sykes, G. (Volumen 1 , 1969.). Capítulo III Métodos y equipos para la esterilización de aparatos de laboratorio y medios. *Methods in Microbiology* , páginas 77-121.
- Taylor et al. (1999). The Evolution of asexual fungi: reproduction, speciation and classification. *Annu Rev Phytopathol.*, Vol., 37, p 197- 246.
- Villela, J. (1993). El Cultivo de Tomate. Ministerio de Agricultura, ganadería y Alimentación. Proyecto de desarrollo agrícola AID-USAID., 147 p.
- Wong. C., Chen, A., Behr, B. & Shen. (2013). Time-lapse microscopy and image analysis in basic and clinical embryo development research. *Reproductive BioMedicine Online*, 26:120-129.
- Wu, J. (2007). a peptide signal essential for the regulation of root hair tip apoplastic pH in *Nicotiana*. *Plant J.*, 52(5): p. 877-90.

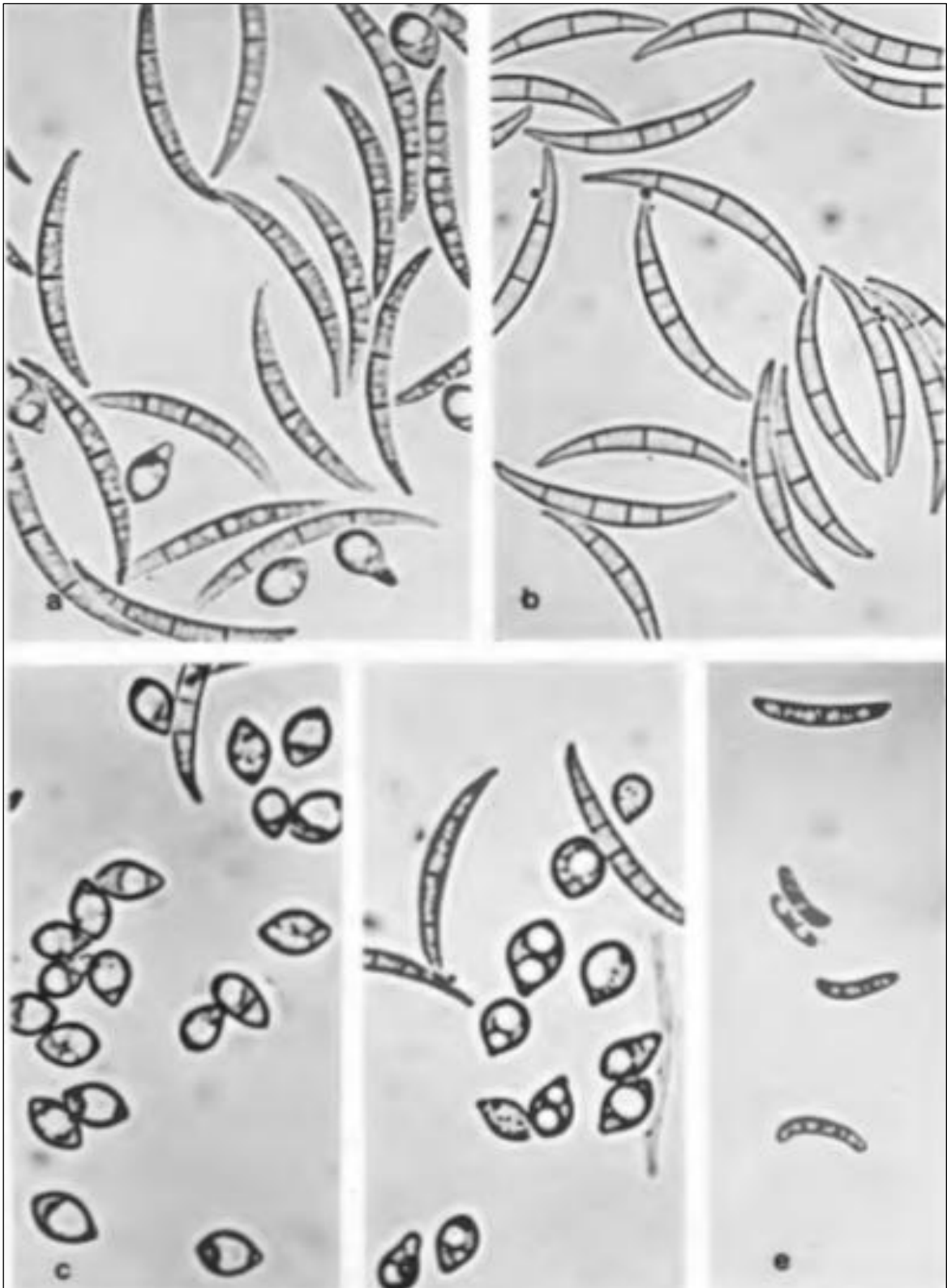


## Anexo: 1

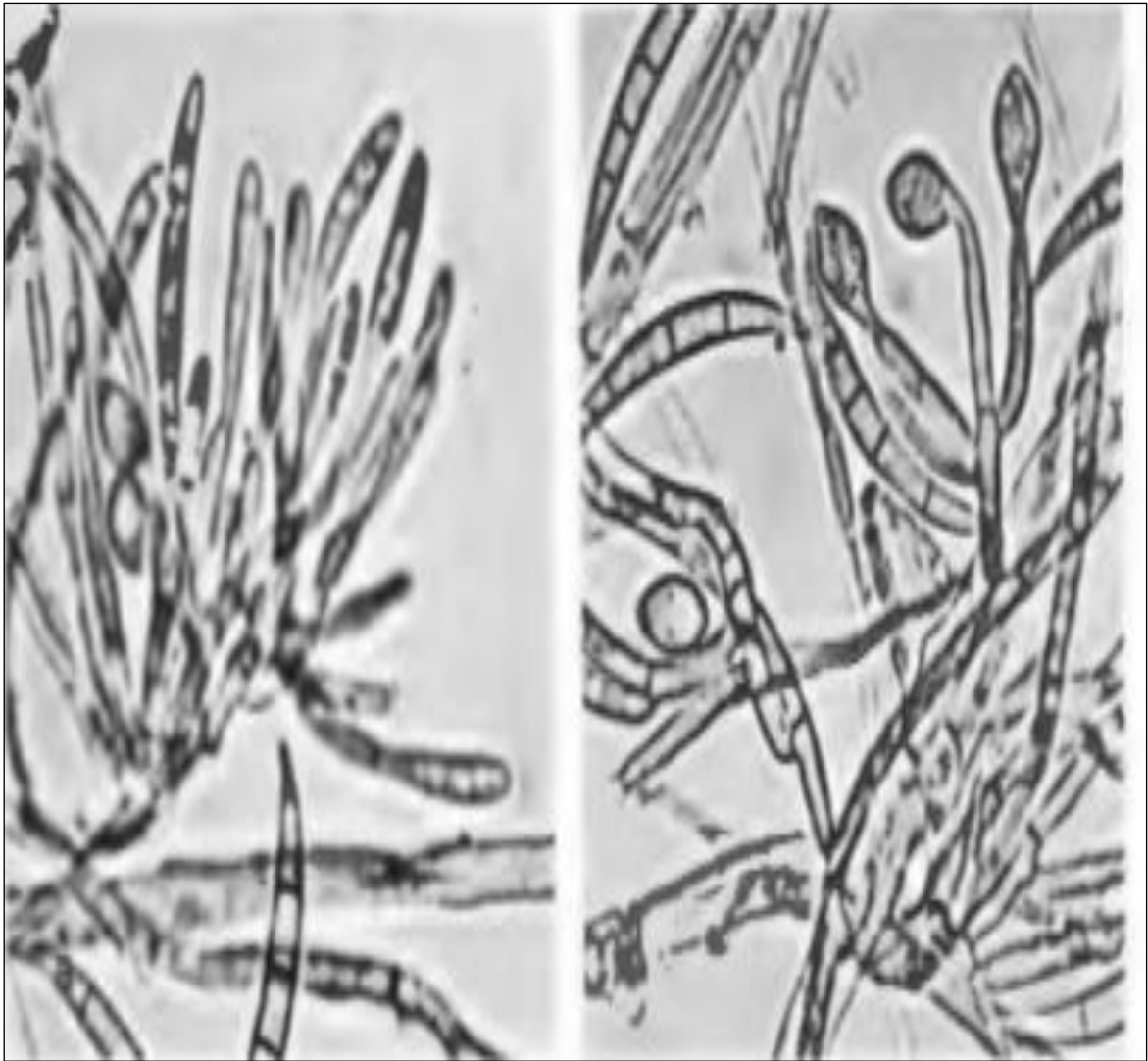


**Figura 105:** Características morfológicas idealizadas utilizadas para la identificación de especies de *Fusarium*. **A-D)** Formas Macroconidiales. **A)** Macroconidias típicas de *Fusarium*. Célula apical a la izquierda, célula basal a la derecha. **B.** Macroconidia Delgada, directamente, casi parecida a una aguja, e.g., *F. avenaceum*. **C)** Macroconidia con curvatura dorsiventral, e.g., *F. equiseti*. **D)** Macroconidia con el lado dorsal más curvado que el ventral, e.g., *F. crookwellense*. **E-H)** Forma apical de célula Macroconidial. **E)** Blunt, e.g., *F. culmorum*. **F)** Papillate, e.g., *F. sambucinum*. **G)** Forma enganchada, e.g., *F. lateritium*. **H)** Forma afilada, e.g., *F. equiseti*. **I-L)** Forma celular Macroconidial. **I)** forma de pié, e.g., *F. crookwellense*. **J)** forma alargada de pié, e.g., *F. longipes*. **K)** forma claramente marcada, e.g., *F. avenaceum*. **L)** forma medianamente marcada, e.g., *F. solani*. **M-T)** forma de esporas Microconidiales. **M)** Oval. **N)** doblemente oval. **O)** Triple oval. **P)** Reniforme. **Q)** Obovoide con forma truncada. **R)** Piriforme. **S)** Napiforme. **T)** Globosa. **U-X)** Morfología de Fiálides. **U)** Monophialides, e.g., *F. solani*. **V)** Monophialides, e.g., *F. oxysporum*. **W)** Polifialides, e.g., *F. polyphialidicum*. **X)** Polifiálides, e.g., *F. semitectum*. **Y(-Z)** Microconidias en cadena. **Y)** Cadenas cortas, e.g., *F. nygamai*. **Z)** Cadenas largas, e.g., *F. verticillioides*. (Fuente: Leslie & Summerell, 2006).

## Anexo: 2



**Figura 106:** *Fusarium tricinctum*: A) macroconidia y microconidia; B) Macroconidia; C-E) Microconidia (X1000). Fuente: Nelson et al., (1983).



**Figura 107:** *Fusarium tricinctum*: A) Macroconidióforos (monofialidos); B) Microconidió (monofialidos) (X1000). Fuente: Nelson et al., (1983).

## Anexo: 3

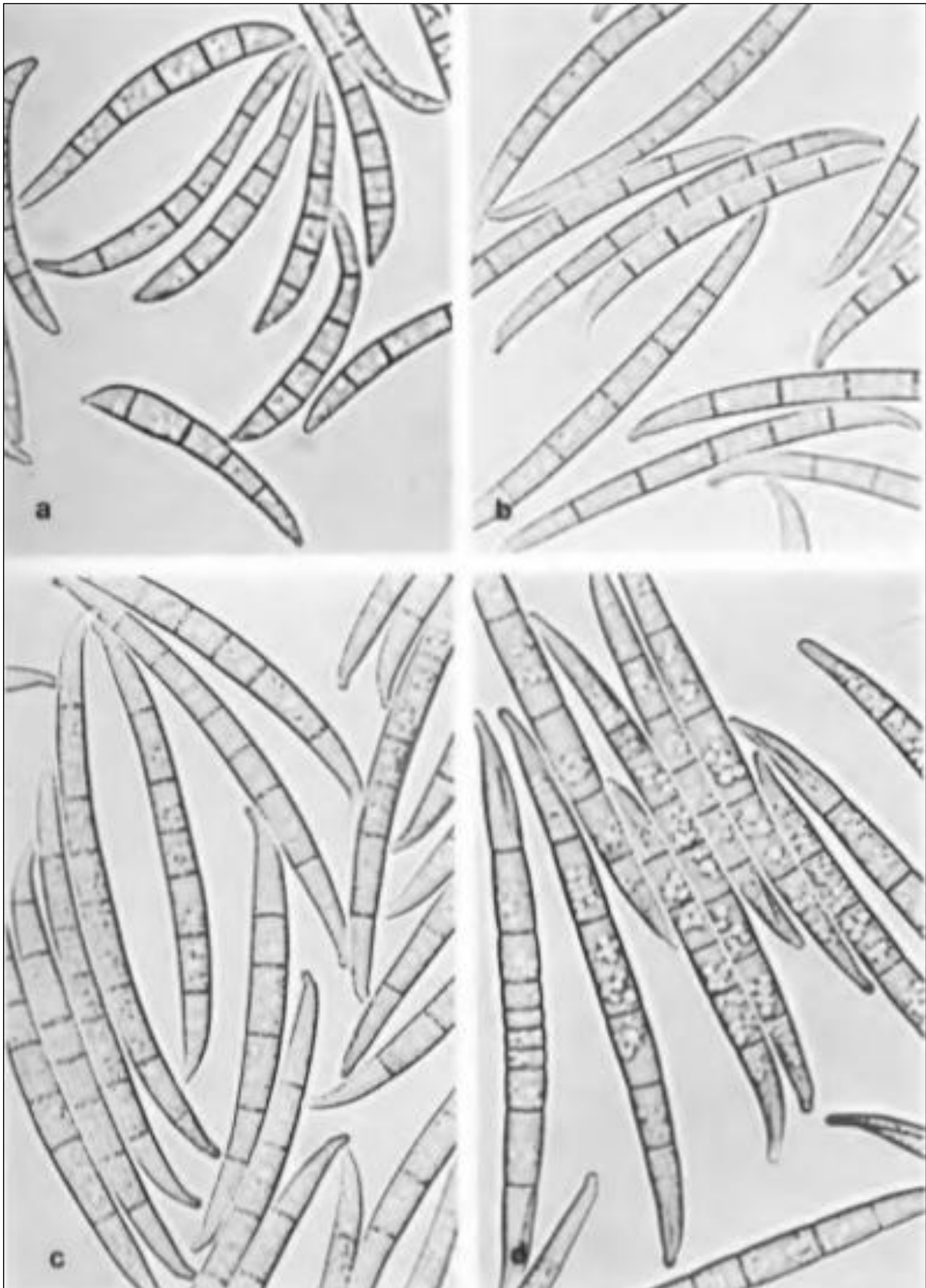


**Figura 108:** *Fusarium equiseti*: A-D) Macroconidia (X1000). Fuente: Nelson et al., (1983).

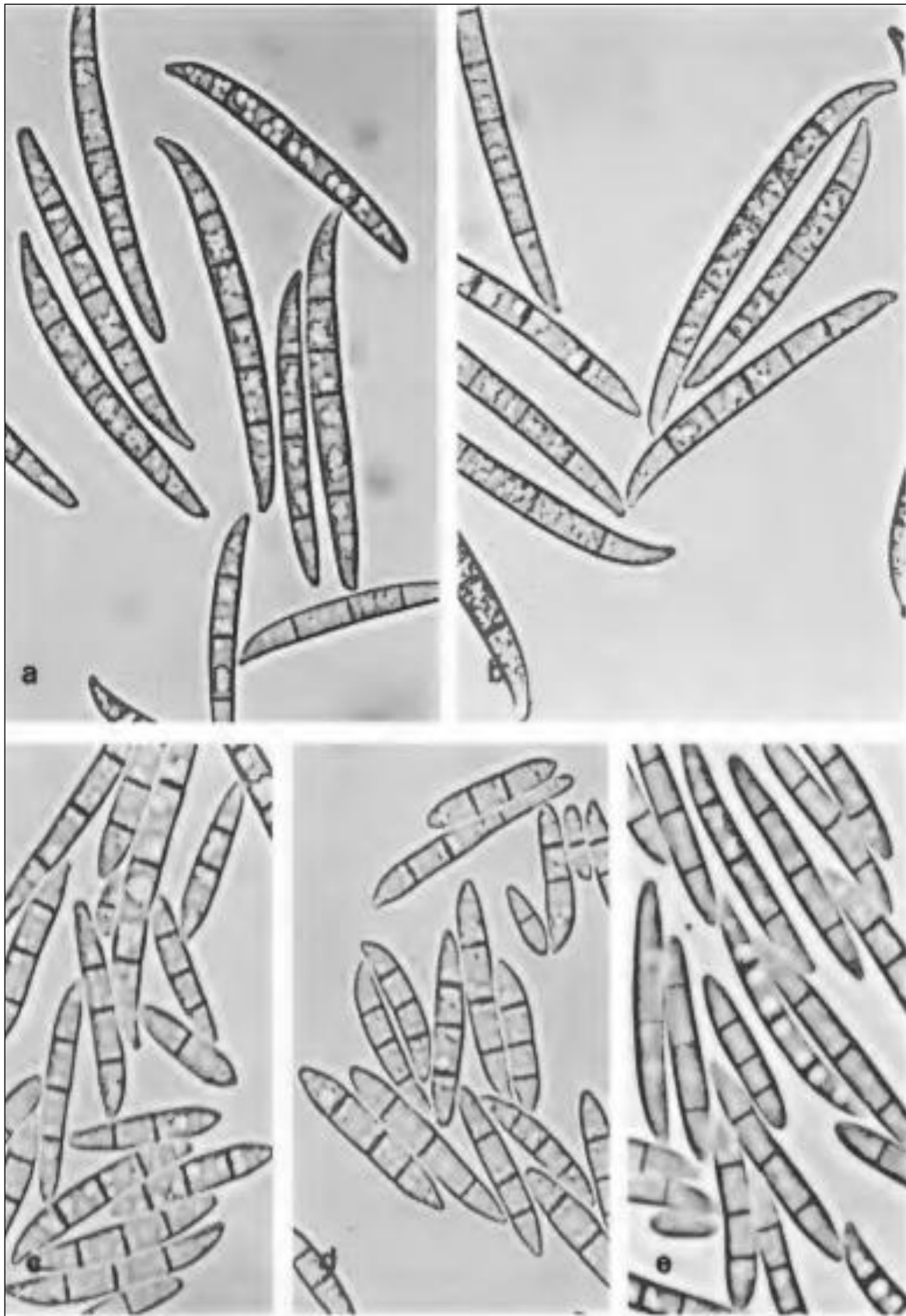


**Figura 109:** *Fusarium equiseti*: A) Microconidióforos (monofialidos); B) Microconidia; C-F) Clamidosporas (X1000). Fuente: Nelson et al., (1983).

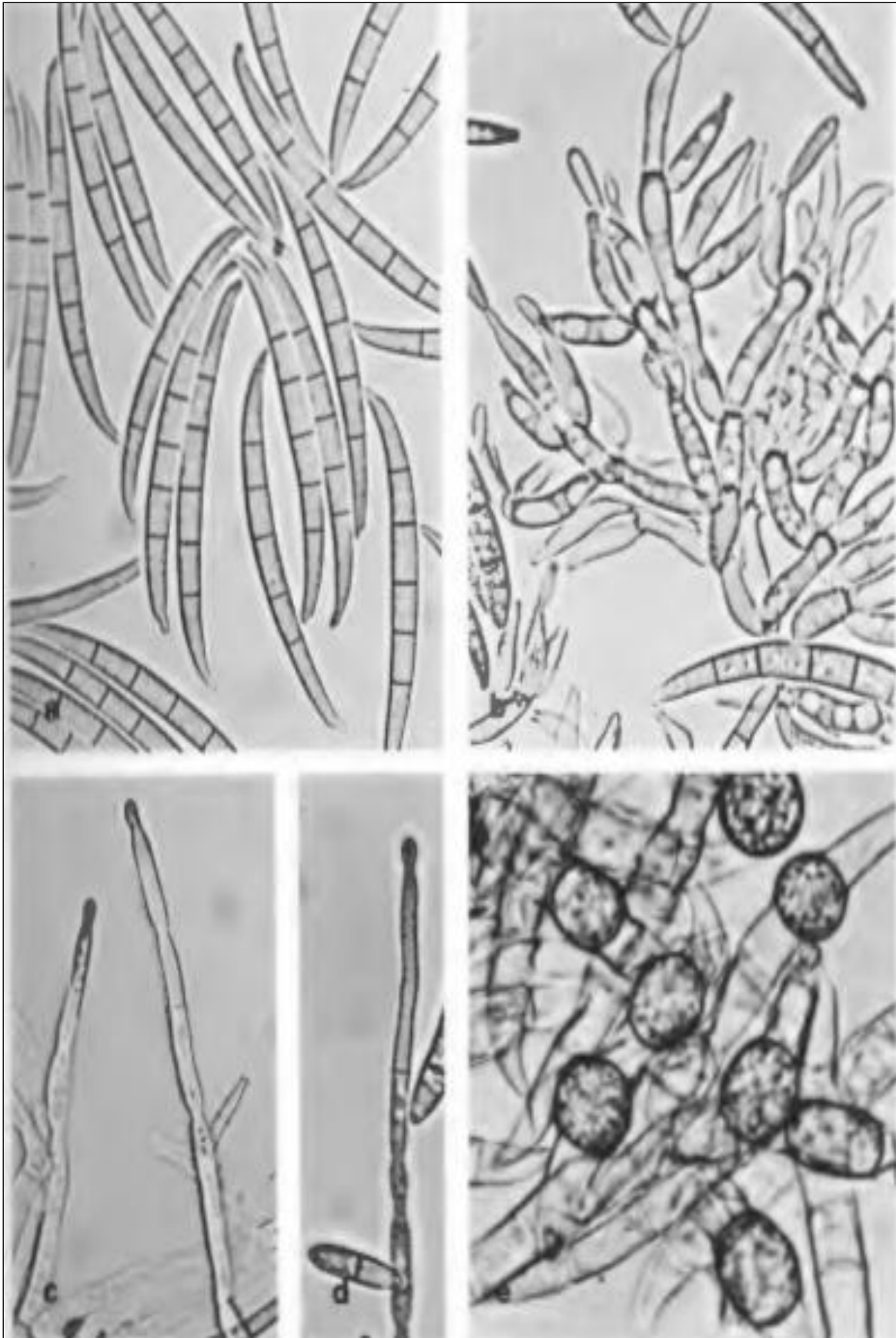
## Anexo: 4



**Figura 110:** *Fusarium lateritium*: A-D) Macroconidia producida en esporoquio (X1000). Fuente: Snyder Wc., Hansen H.N (1940).



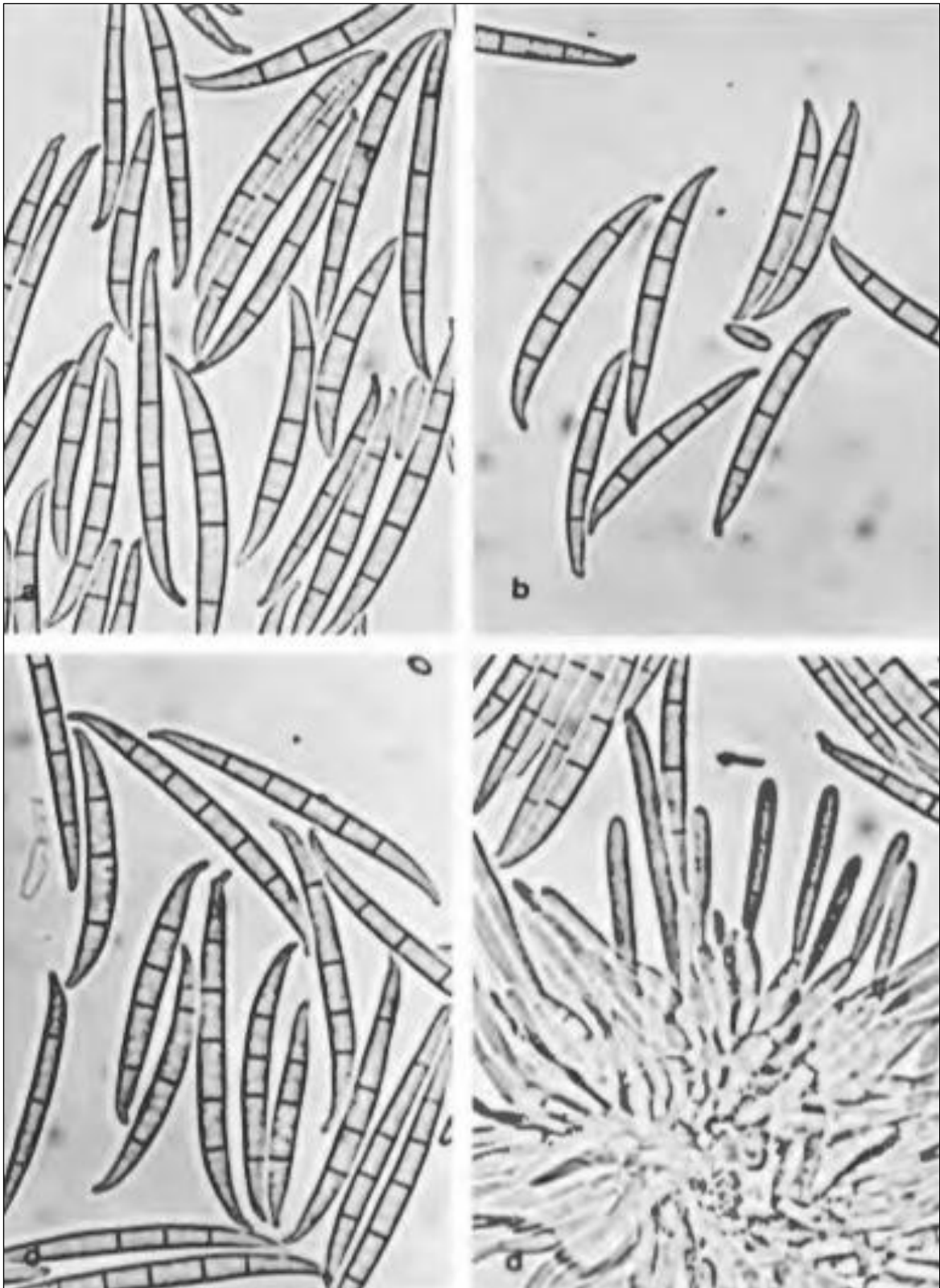
**Figura 111:** *Fusarium lateritium*: A-B) Macroconidia producida en esporoquio; C-E) Microconidia producido en el micelio aéreo (X1000). Fuente: Snyder Wc., Hansen H.N (1940).



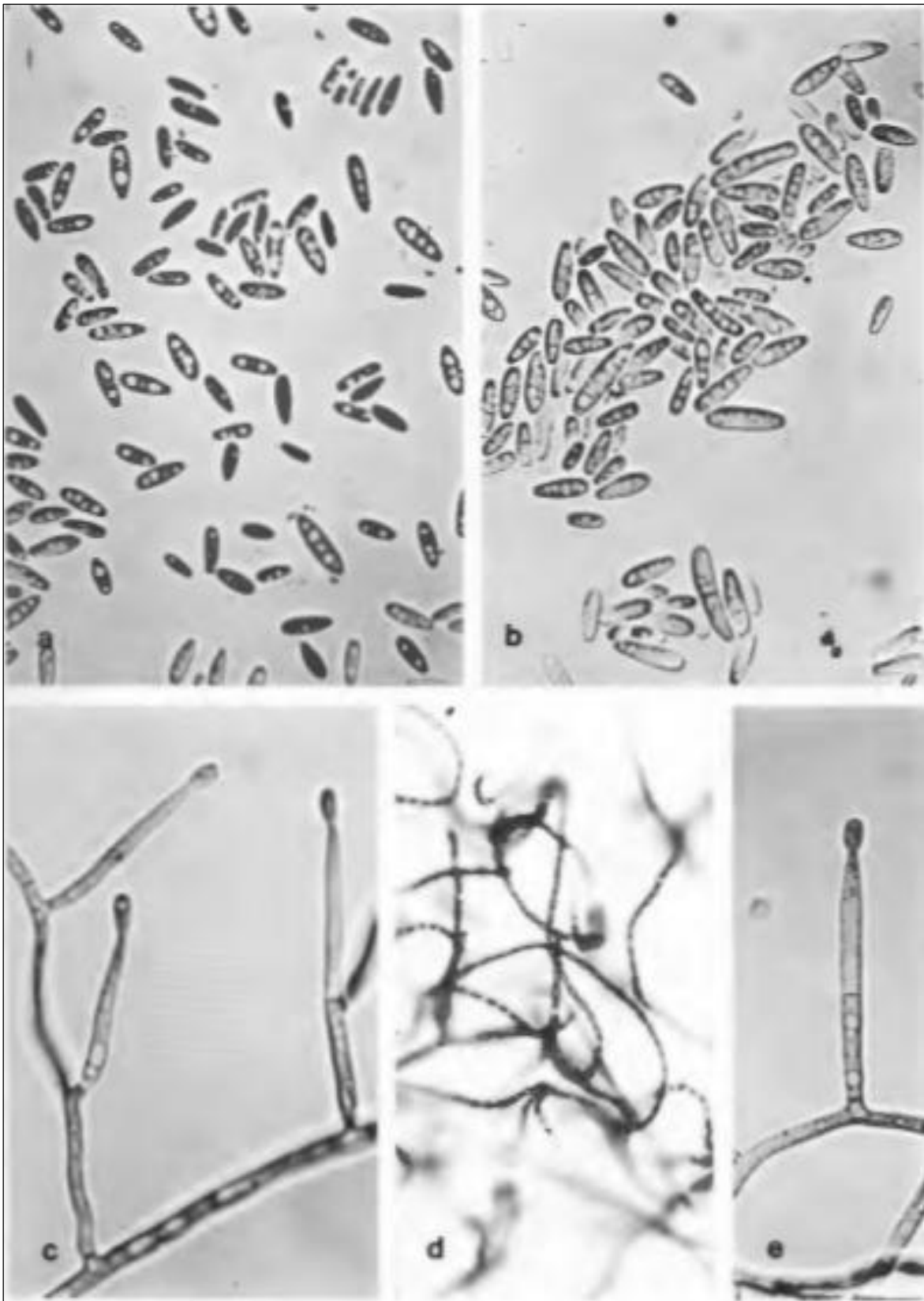
**Figura 112:** *Fusarium lateritium*: A) Macroconidia producida en esporoquicio (X1000); B-D) Conidióforos (monofialidas); E) Clamidiosporas. Fuente: Snyder Wc., Hansen H.N (1940).



## Anexo: 5



**Figura 113:** *Fusarium moniliforme*: A-C) Macroconidia producida en esporodoquio; D) Macroconidioforos (monofialides) (x1000). Fuente: Nelson et al., (1983).

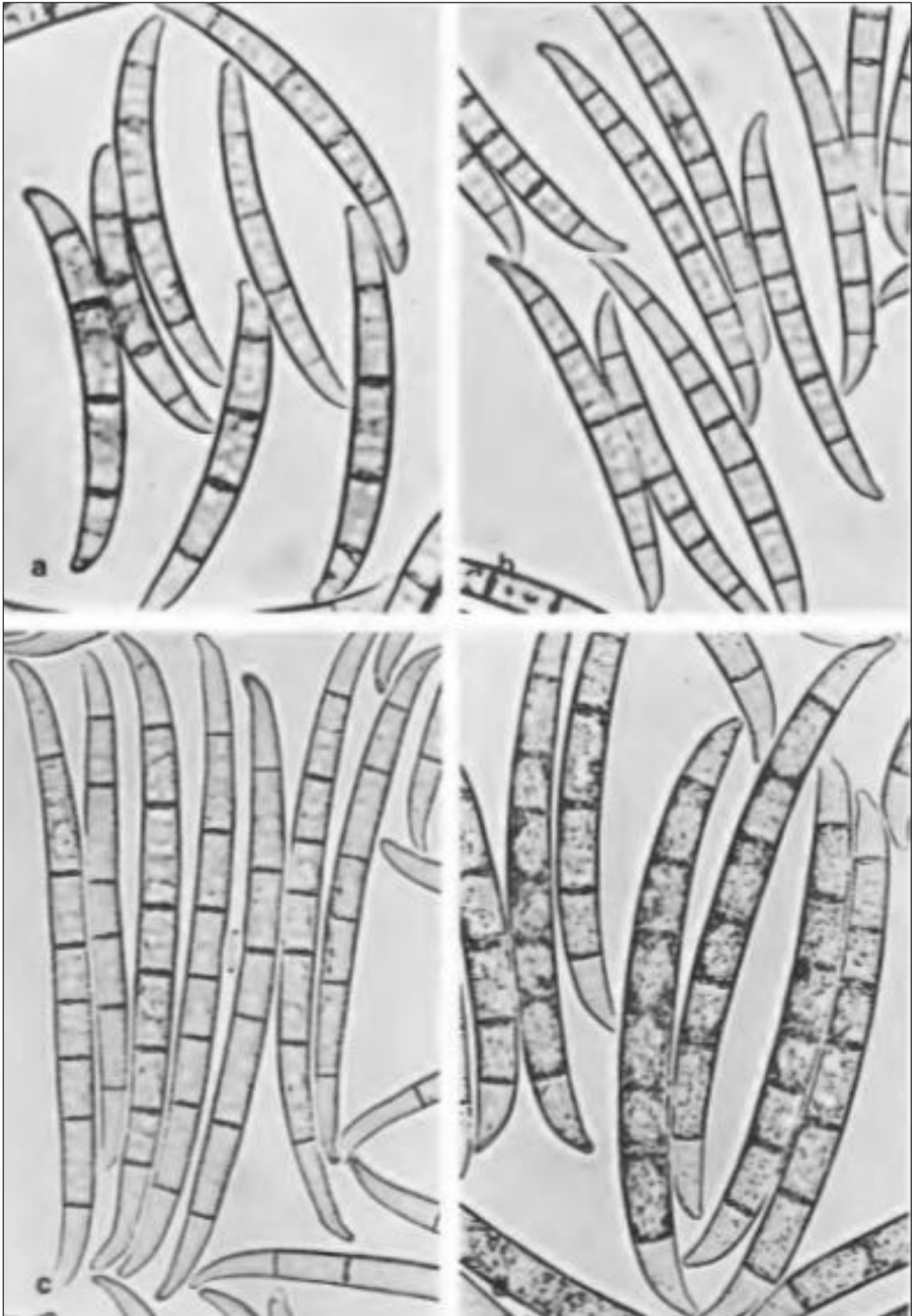


**Figura 114:** *Fusarium moniliforme*: A-B) Microconidia producidos en el micelio aéreo; C, E) Microconidióforos (monofialidas); D) Microconidia en cadenas (A-C, E X1000; D X190). Fuente: Nelson et al., (1983).

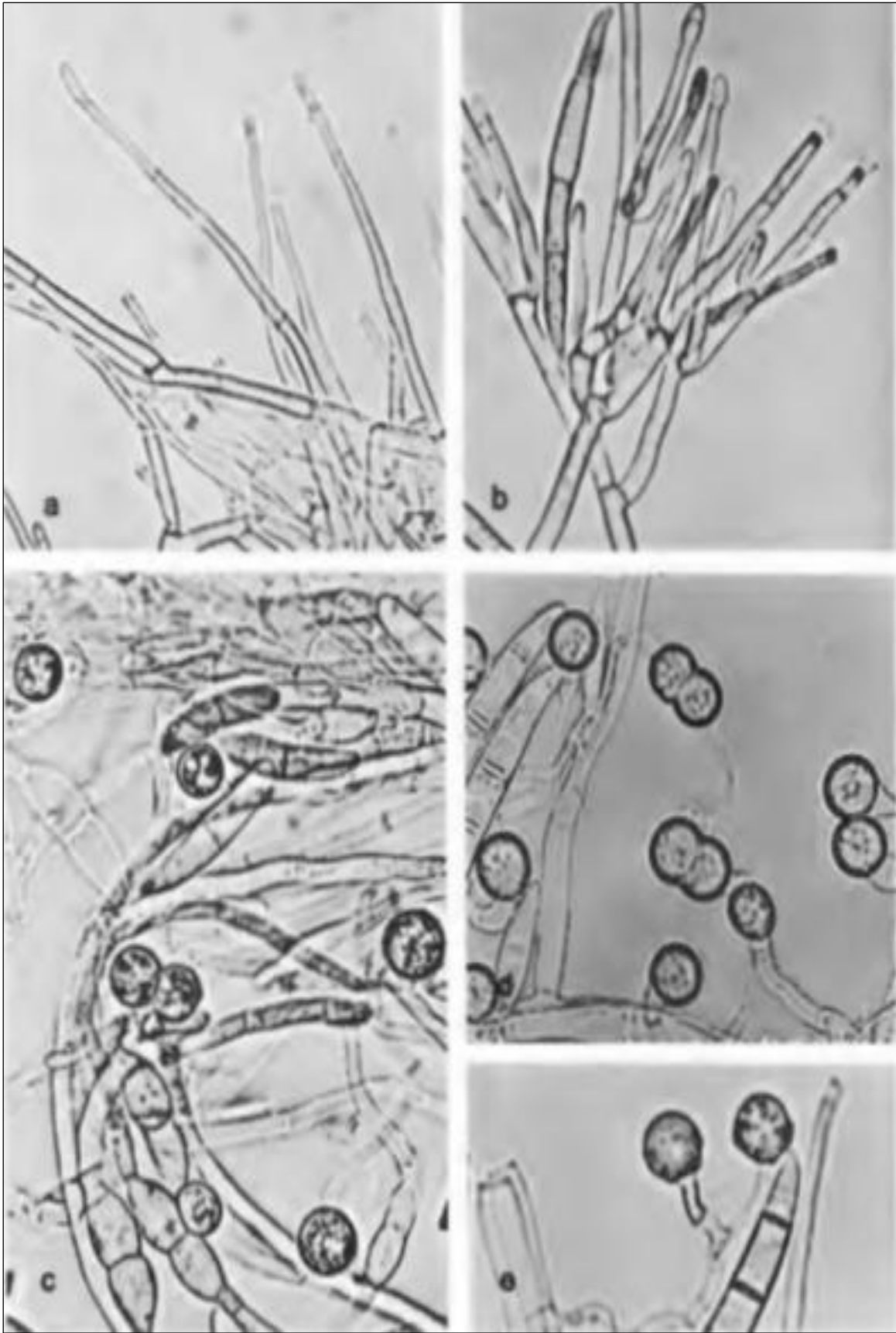
## Anexo: 6



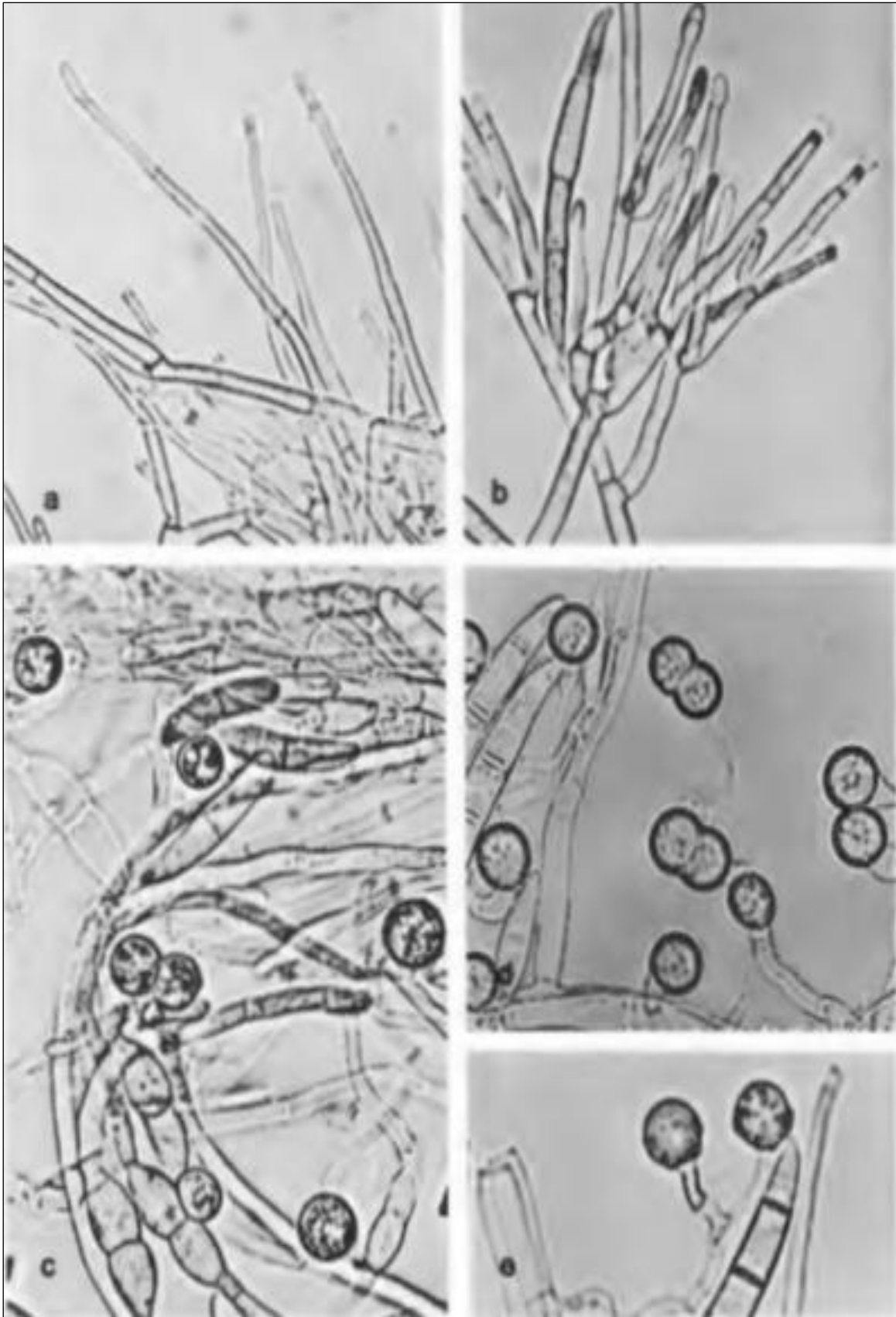
**Figura 115:** *Fusarium solani*: A-D) Macroconidia producida en esporoquicio (X1000). Fuente: Nelson et al., (1983).



**Figura 116:** *Fusarium solani*: A-D) Macroconidia producida en esporoquio (X1000). Fuente: Nelson et al., (1983).



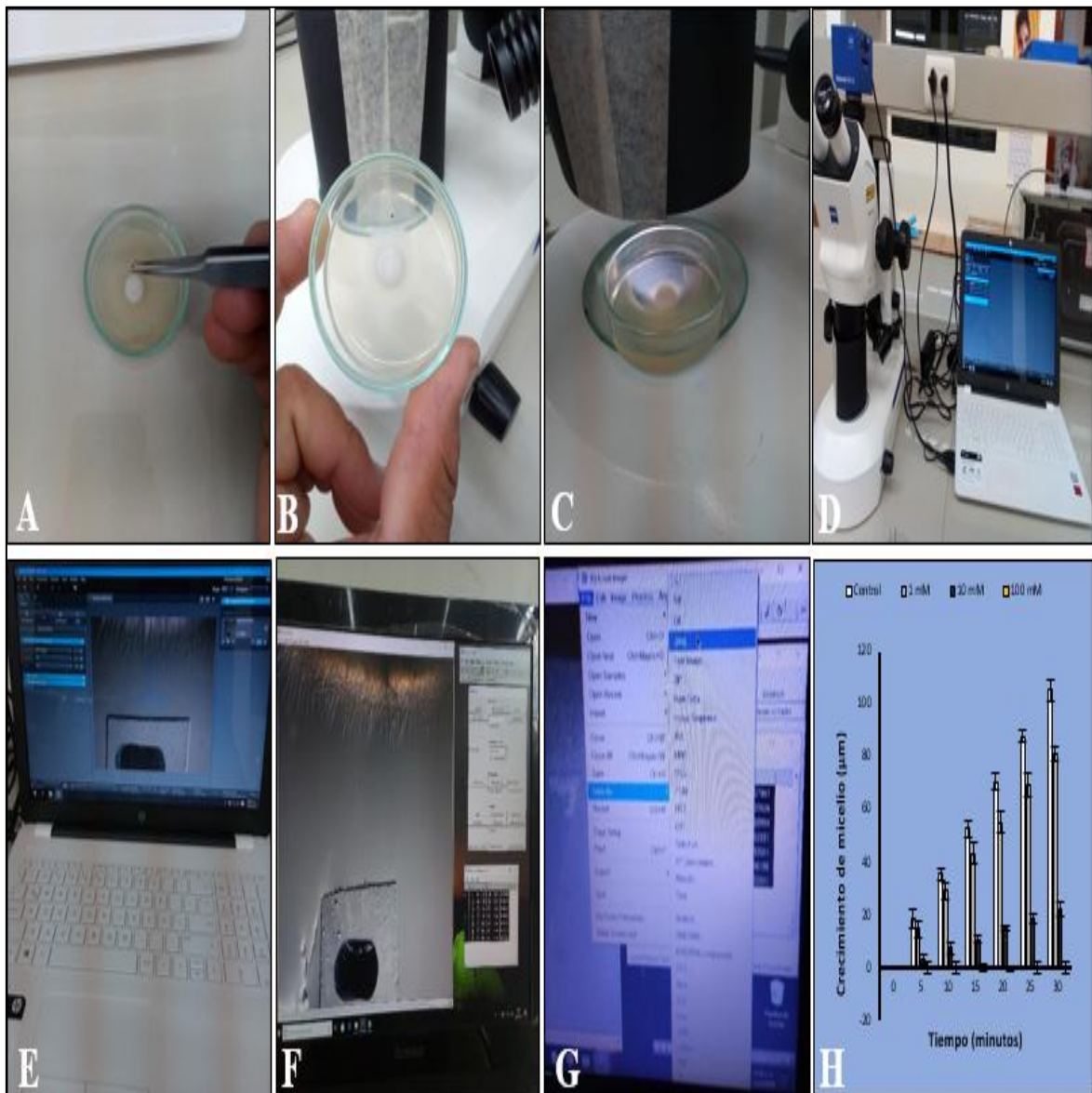
**Figura 117:** *Fusarium solani*: A,B) Macroconidioforos (monofialidos); C-E) Microconidia producida en el micelio aéreo (X1000). Fuente: Nelson et al., (1983).



**Figura 118:** *Fusarium solani*: A, B) Microconidioforos (monofialidas); C-E) Clamydosporas. Fuente: Nelson et al., (1983).

## Anexo: 7

Pasos previos antes de realizar las pruebas de pH y Calcio, a través del sistema *Time lapse*.



**Figura 119:** A) Colocando la escala dentro de la placa Petri, con cepa pura de *Fusarium*; B) vista panorámica de la cepa más la escala de 0.5 cm; C) Acondicionamiento de la placa, antes de ser monitoreada el crecimiento micelial de *Fusarium*; D) Programación del Sistema Time lapse; E) Captura de imagen cada 5 minutos por un lapso de 30 minutos consecutivos en forma remota; F-G) Tabla de datos obtenidos a través de las capturas de fotos mediante la programación del sistema Time lapse; H) Datos procesados estadísticamente del sistema Time lapse. (Fuente: fotos de Hugo Coz).

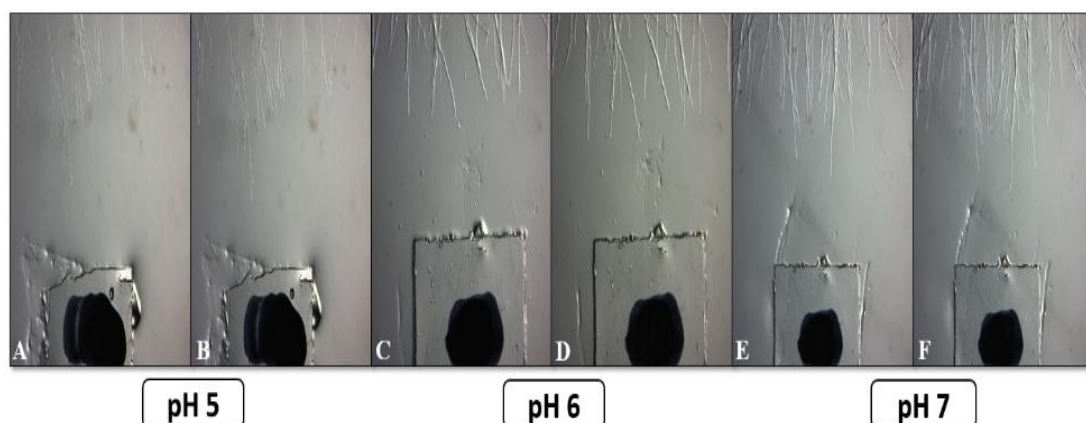
## Anexo: 8

Evaluación del crecimiento micelial de 7 especies *Fusarium*, aisladas en 18 cepas sobre diferentes condiciones de pH. Observadas a través del sistema *Time lapse* en las pruebas de pH.

### 1. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.).

#### a) Cepa M11-C2: *Fusarium equiseti*.

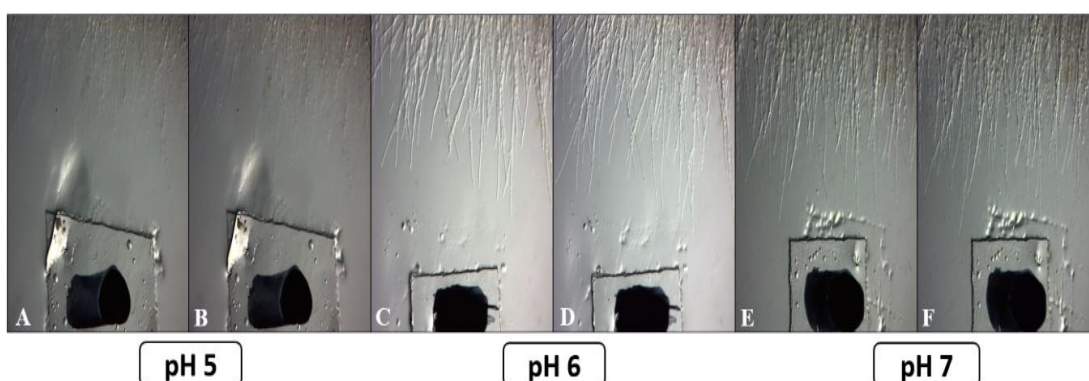
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 120:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium equiseti*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B**) Desarrollo micelial en pH5; **C-D**) Desarrollo micelial en pH6; **E-F**) Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

#### b) Cepa M11-C3: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



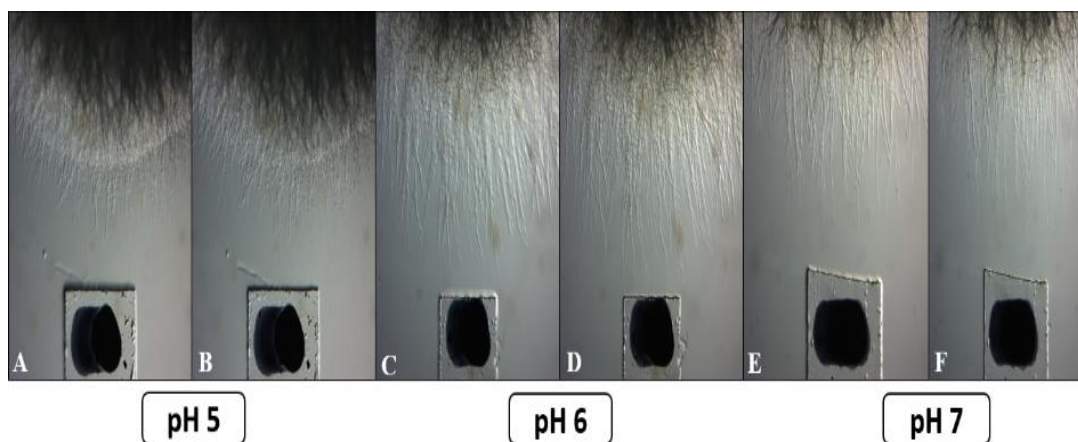
**Figura 121:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B**) Desarrollo micelial en pH5; **C-D**) Desarrollo micelial en pH6; **E-F**) Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).



2. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) son:

a) Cepa M32-C1: *Fusarium solani*.

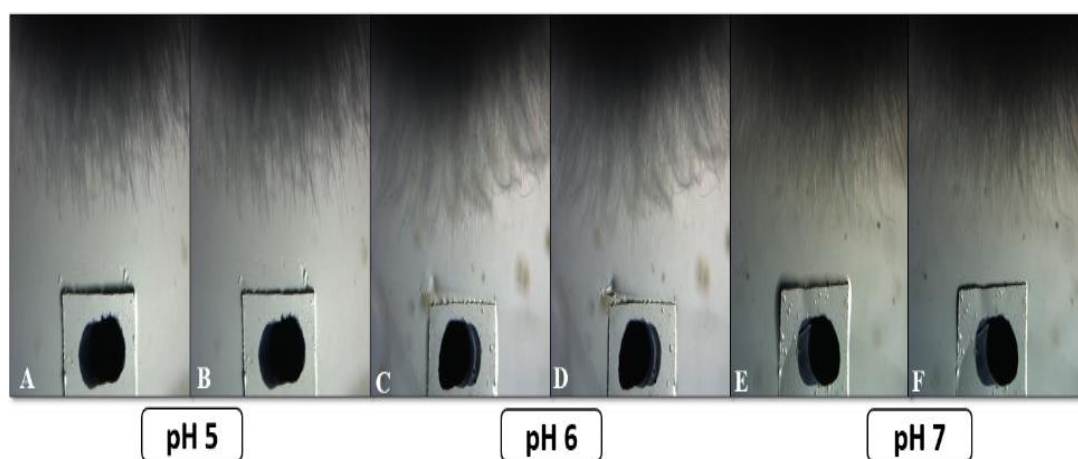
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 122:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M33-C1: *Fusarium moniliforme*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

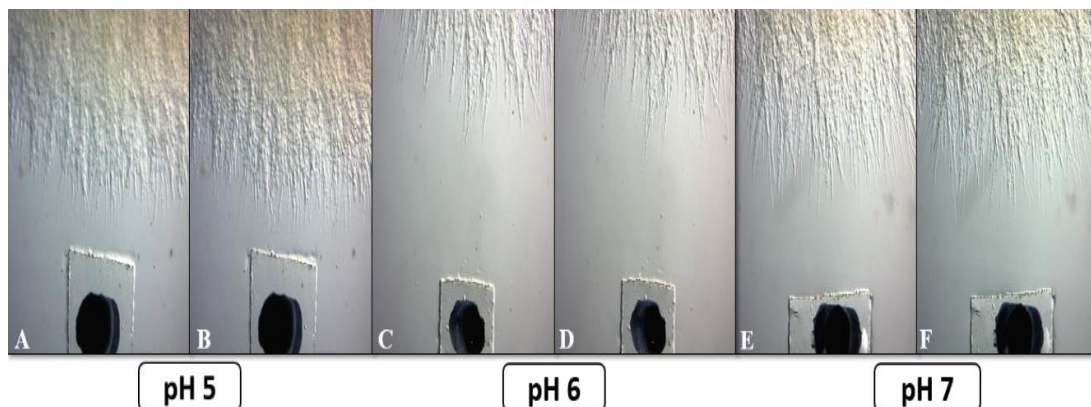


**Figura 123:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

3. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Ají dulce (*Capsicum* spp.) son:

a) Cepa M28-C1: *Fusarium solani*.

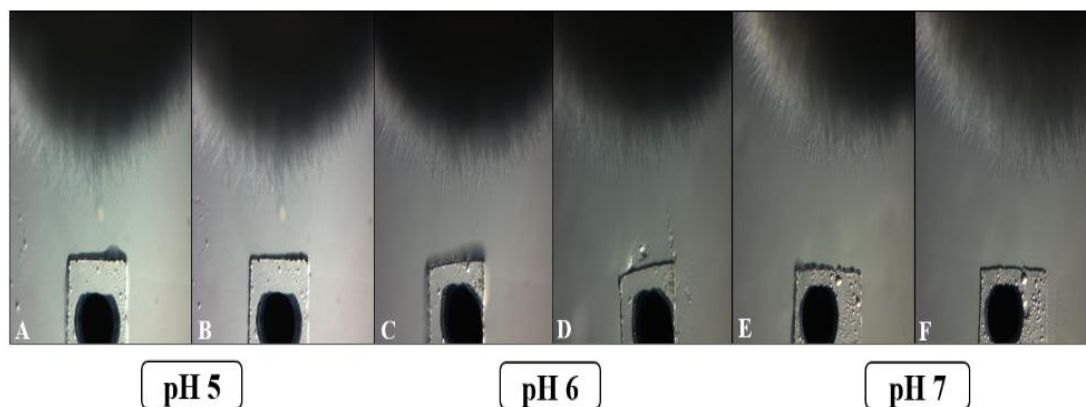
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 124:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M12-C1: *Fusarium moniliforme*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

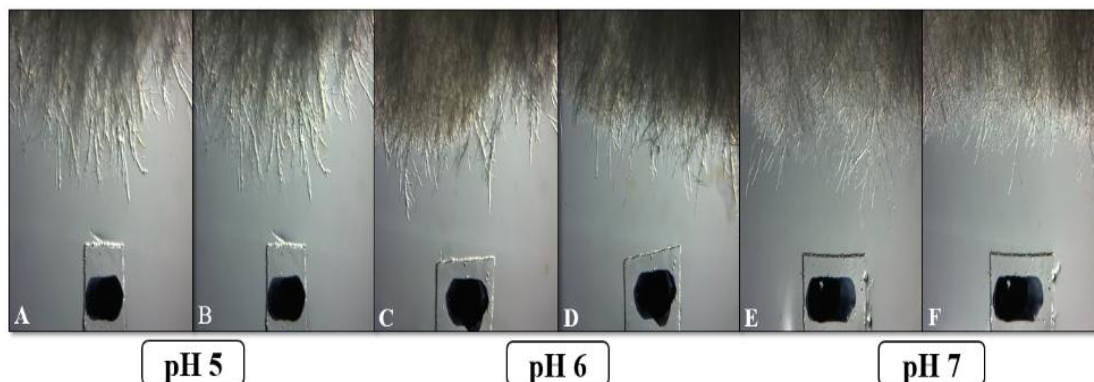


**Figura 125:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

4. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Arroz (*Oryza sativa* L.) son:

a) Cepa M15-C1: *Fusarium lateritium*.

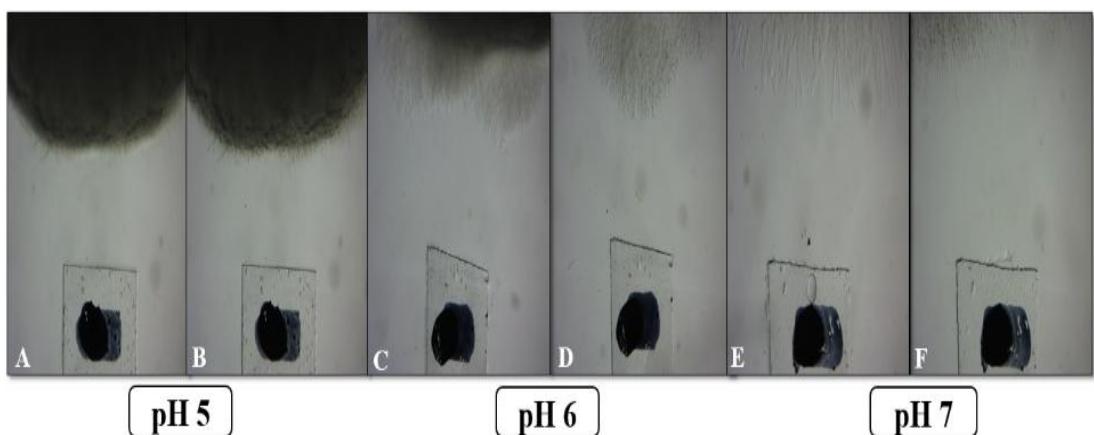
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 126:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium lateritium*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M19-C2: *Fusarium lateritium*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

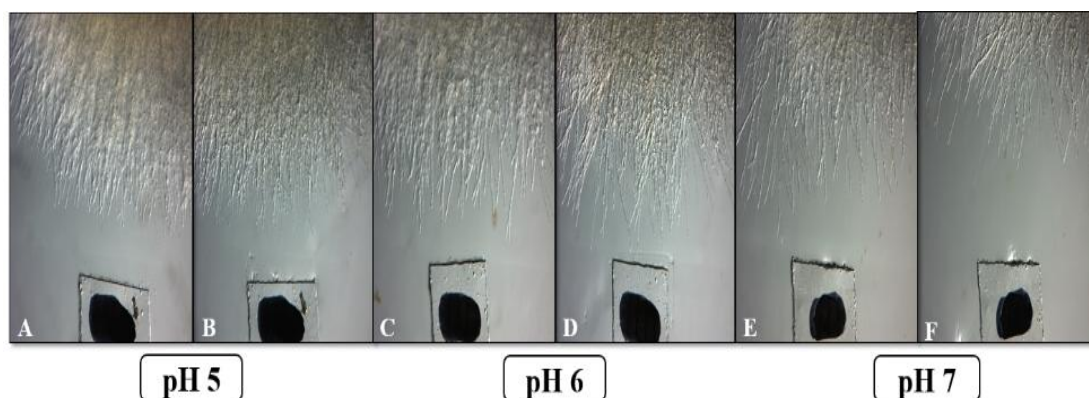


**Figura 127:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium lateritium*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

5. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Café (*Coffea arabica* L.) son:

a) Cepa M38-C1: *Fusarium solani*.

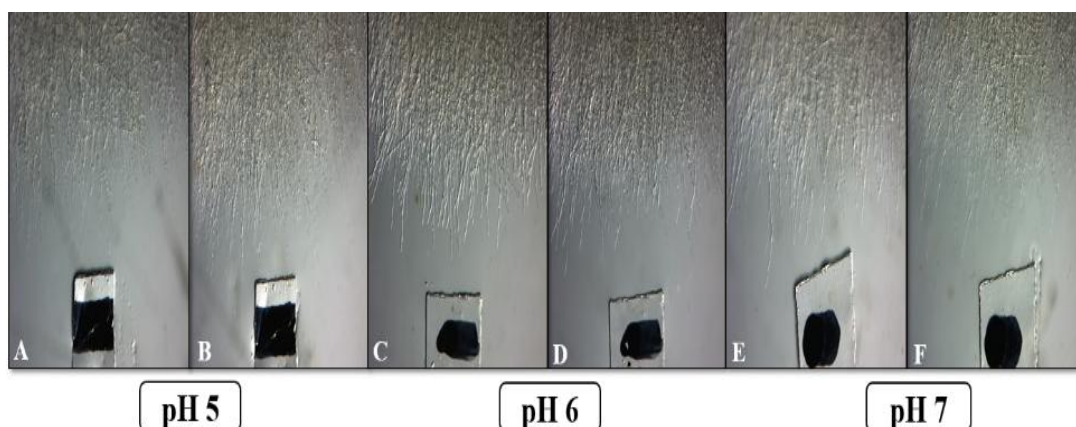
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 128:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M39-C1: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

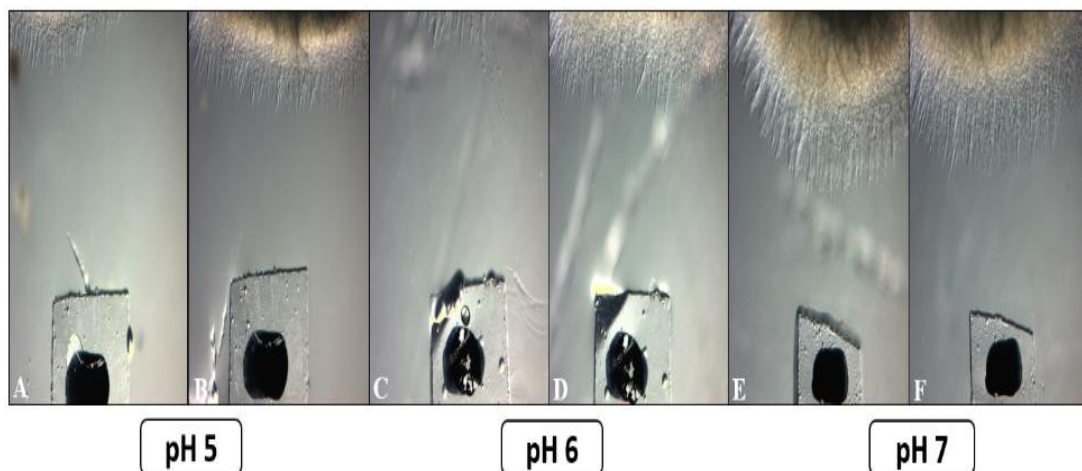


**Figura 129:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

6. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Plátano (*Musa spp.*) son:

a) Cepa M3-C2: *Fusarium moniliforme*.

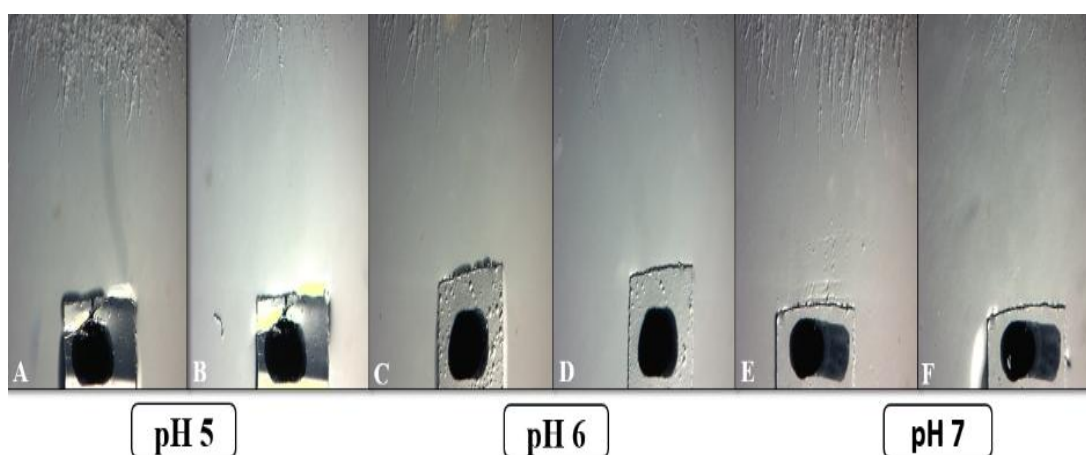
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 130:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M6-C4: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

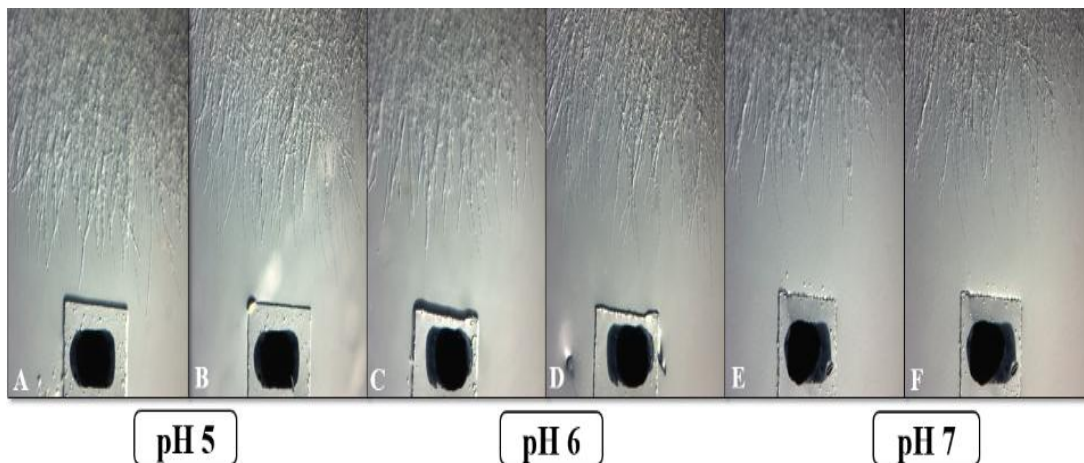


**Figura 131:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

7. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Plátano (*Musa spp.*) son:

a) Cepa M37-C1: *Fusarium moniliforme*.

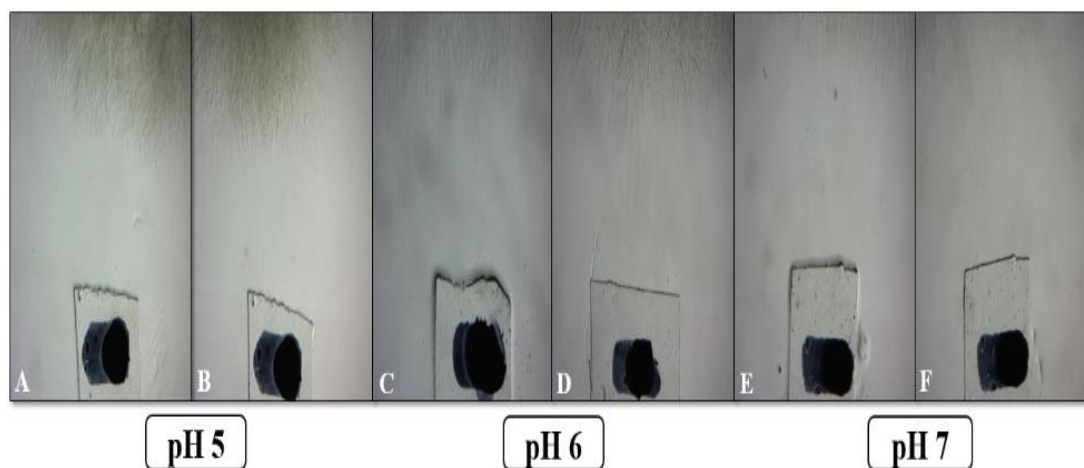
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 132:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M36-C1: *Fusarium moniliforme*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

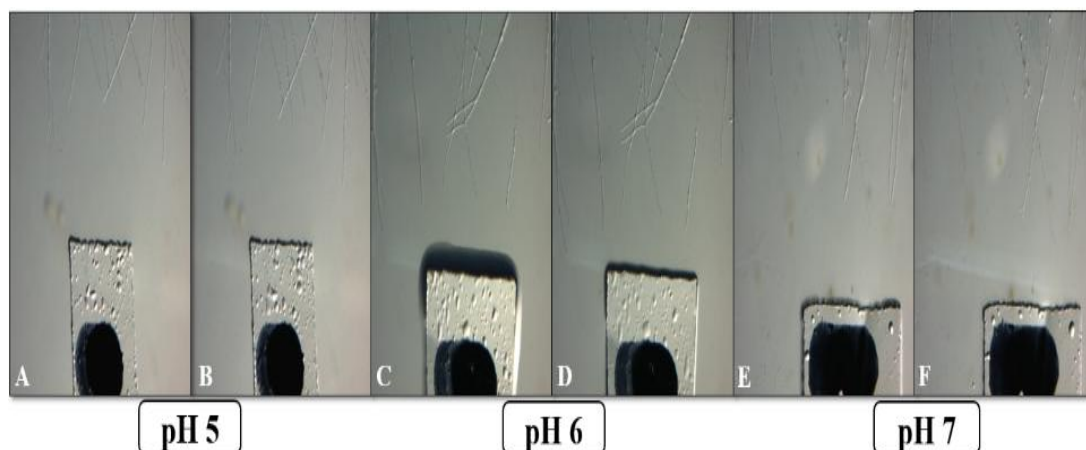


**Figura 133:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

8. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Plátano (*Musa spp.*) son:

a) Cepa M14-C1: *Fusarium rigidiuscula*.

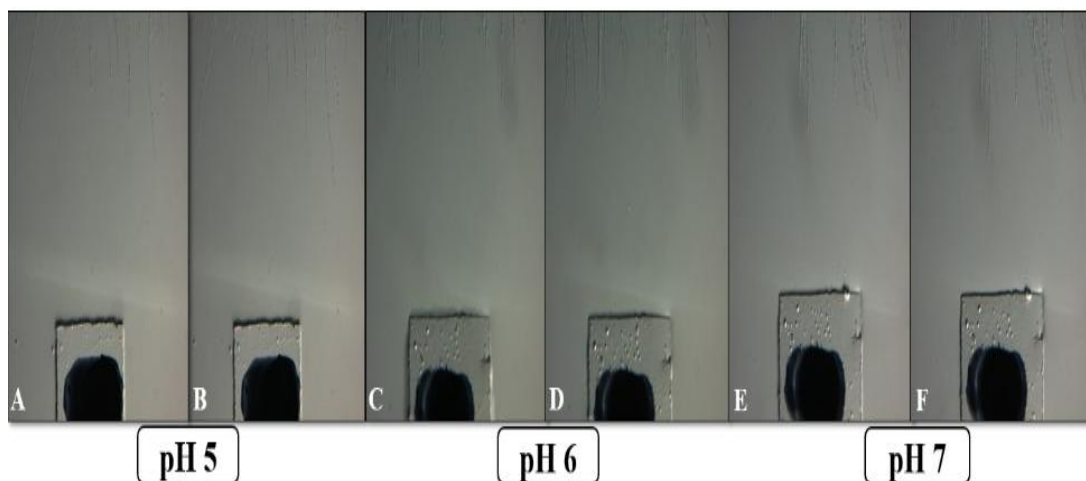
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 134:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium rigidiuscula*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M31-C1: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).

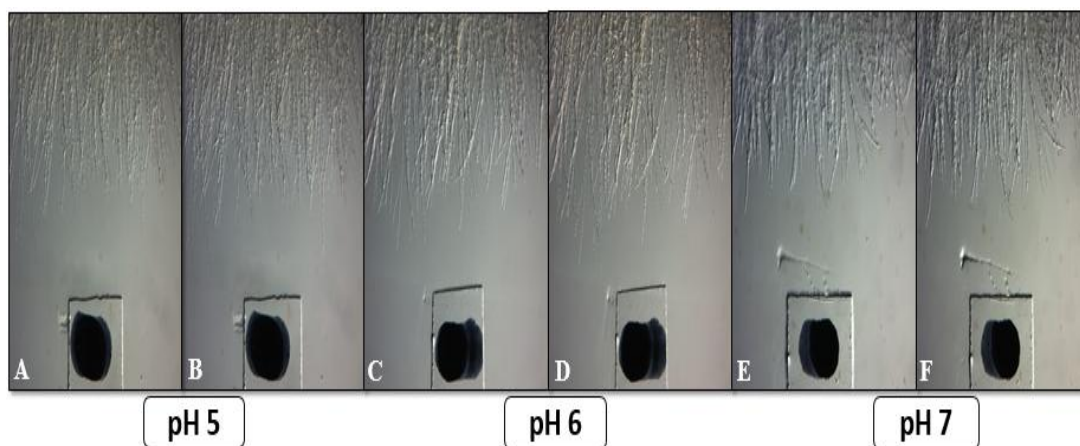


**Figura 135:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

9. Prueba de pH con especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Culantro Castilla (*Coriandrum sativum* L.) son:

a) Cepa M2-C5: *Fusarium tricinctum*.

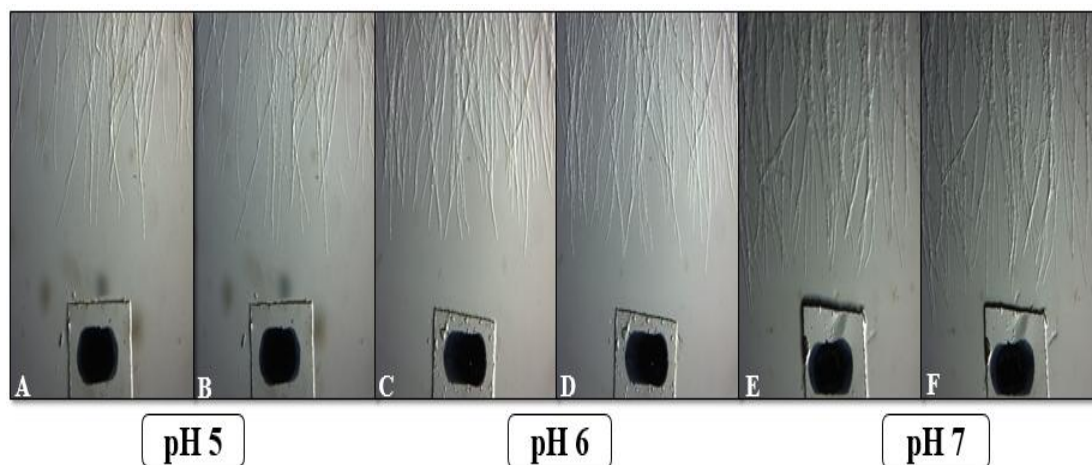
Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 136:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium tricinctum*., en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M2-C2: *Fusarium episphaeria*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes condiciones de pH (5, 6 y 7).



**Figura 137:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium episphaeria*., en medio de cultivo PDA a diferentes concentraciones de pH (5, 6 y 7). **A-B)** Desarrollo micelial en pH5; **C-D)** Desarrollo micelial en pH6; **E-F)** Desarrollo micelial en pH7. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).



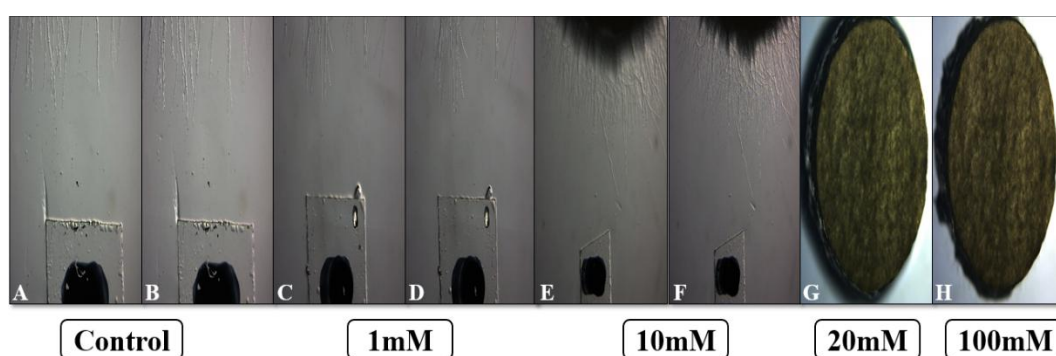
## Anexo: 9

Pruebas de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular monitoreado en el crecimiento micelial de 18 especies *Fusarium* encontradas en 9 cultivos agrícolas de importancia en la Región San Martín. Observadas a través del sistema *Time lapse*.

### 1. Prueba de secuestro de calcio extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.).

#### a) Cepa M11-C2: *Fusarium equiseti*

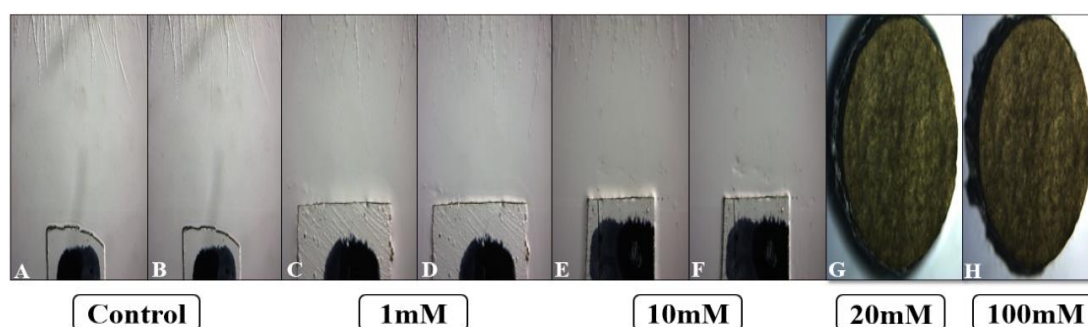
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 138:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium equiseti*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. A-B) Control (PDA puro sin EDTA); C-D) PDA + 1mM EDTA; E-F) PDA + 10mM EDTA; G) PDA + 20mM EDTA y H) PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema *Time lapse* por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

#### b) Cepa M11-C3: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:

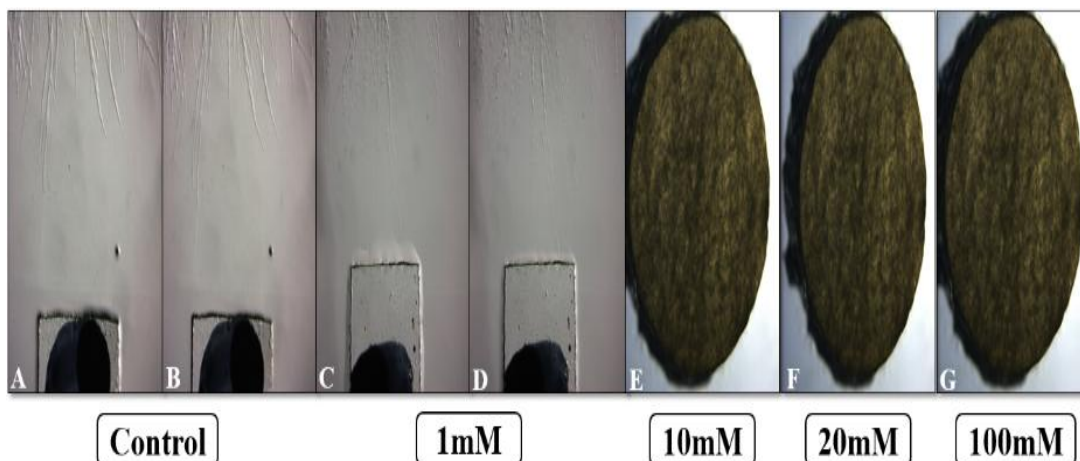


**Figura 139:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. A-B) Control (PDA puro sin EDTA); C-D) PDA + 1mM EDTA; E-F) PDA + 10mM EDTA; G) PDA + 20mM EDTA y H) PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema *Time lapse* por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

2. Prueba de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) son:

a) Cepa M32-C1: *Fusarium solani*.

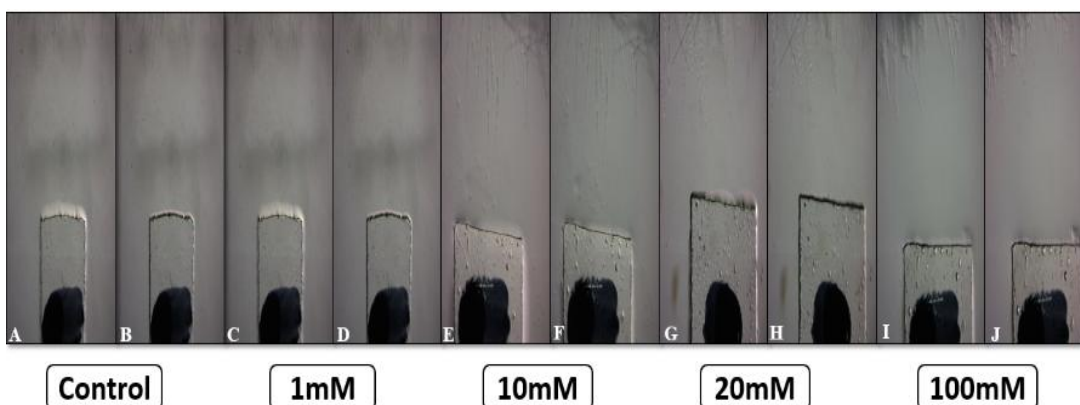
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 140:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E)** PDA + 10mM EDTA; **F)** PDA + 20mM EDTA; **G)** PDA + 100mM EDTA; en estas tres últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M33-C1: *Fusarium moniliforme*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:

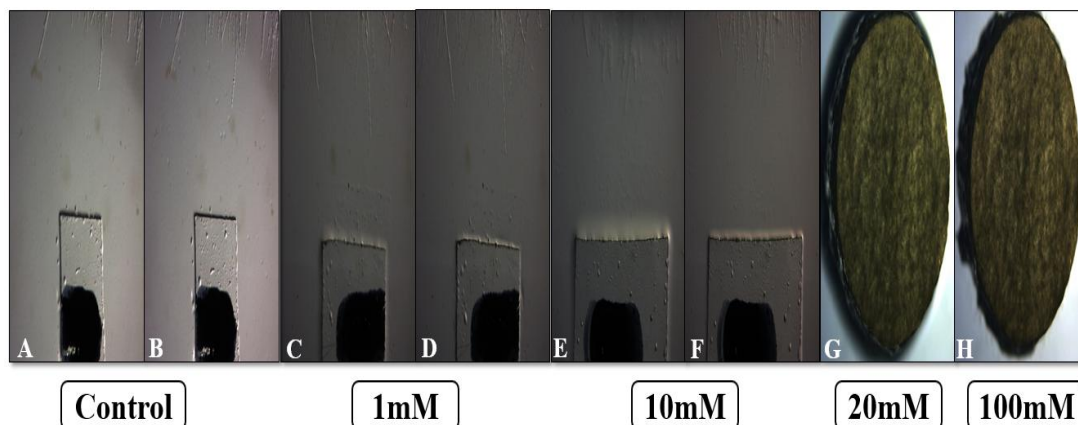


**Figura 141:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G-H)** PDA + 20mM EDTA y **I-J)** PDA + 100mM EDTA; en todas estas muestras *Fusarium* creció con toda normalidad, fue la única muestra que manifestó este comportamiento ante la presencia de  $\text{Ca}^{++}$ . Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

### 3. Prueba de secuestro de $\text{Ca}^{++}$ extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Ají dulce (*Capsicum* spp.) son:

#### a) Cepa M28-C1: *Fusarium solani*.

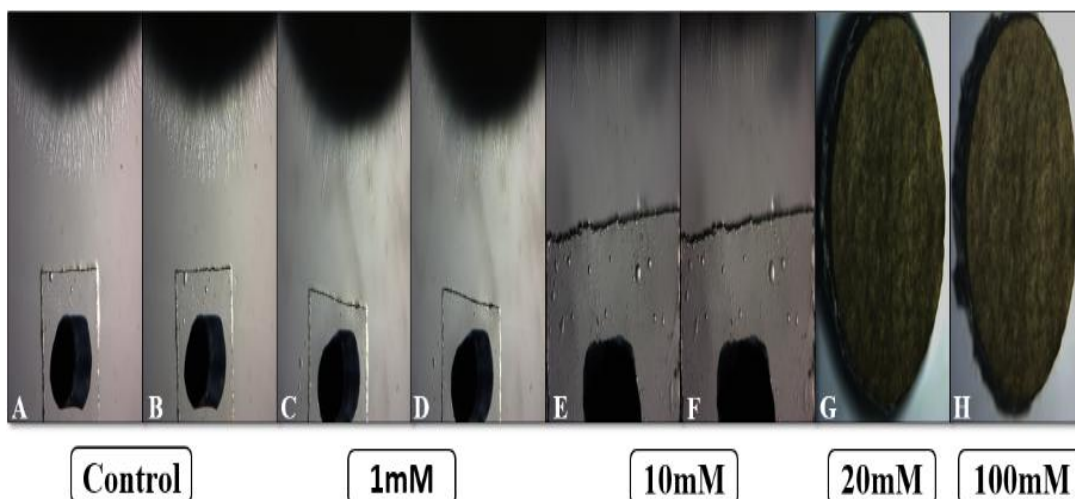
##### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 142:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium solani*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

#### b) Cepa M12-C1: *Fusarium moniliforme*.

##### Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:

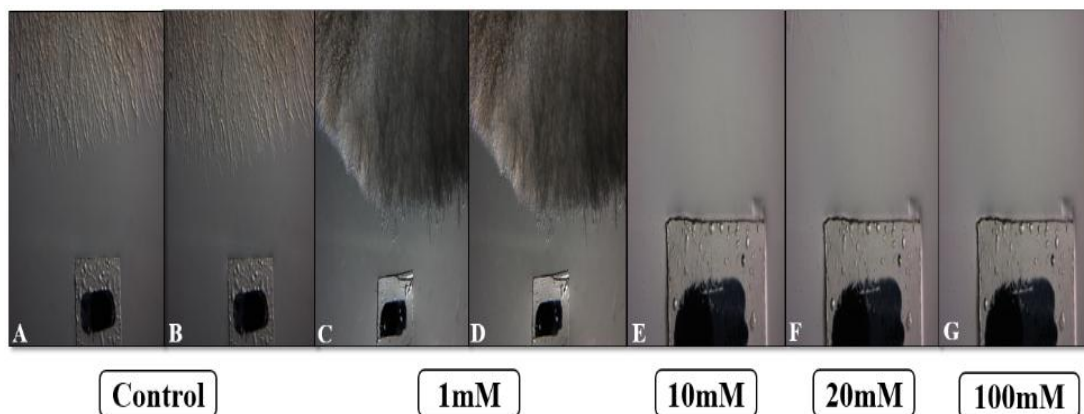


**Figura 143:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

4. Prueba de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Arroz (*Oryza sativa* L.) son:

a) Cepa M15-C1: *Fusarium lateritium*.

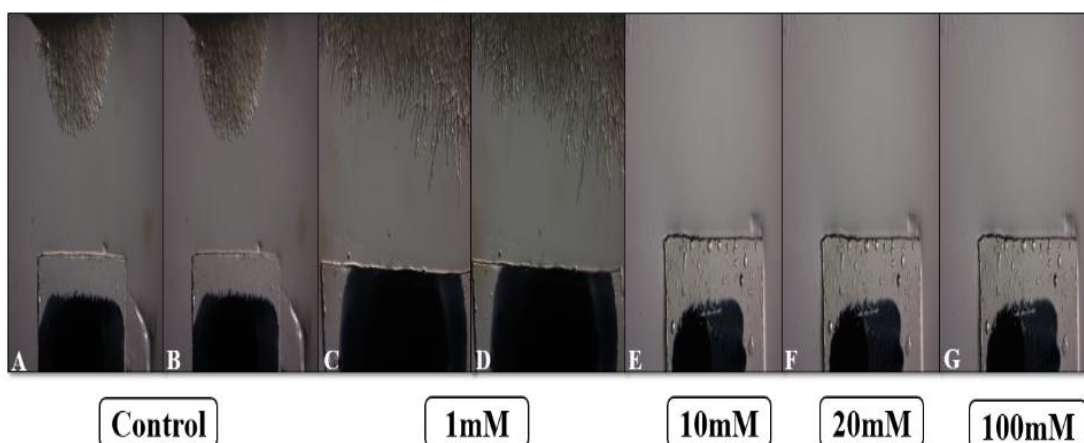
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 144:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium lateritium*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E)** PDA + 10mM EDTA; **F)** PDA + 20mM EDTA; **G)** PDA + 100mM EDTA; en estas tres últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M19-C2: *Fusarium lateritium*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:

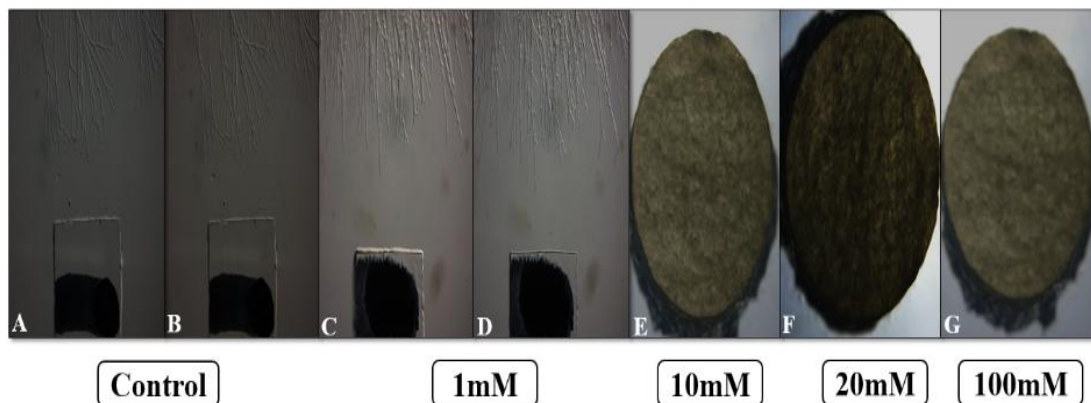


**Figura 145:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium lateritium*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E)** PDA + 10mM EDTA; **F)** PDA + 20mM EDTA; **G)** PDA + 100mM EDTA; en estas tres últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

5. Prueba de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Café (*Coffea arabica* L.) son.

a) Cepa M38-C1: *Fusarium solani*.

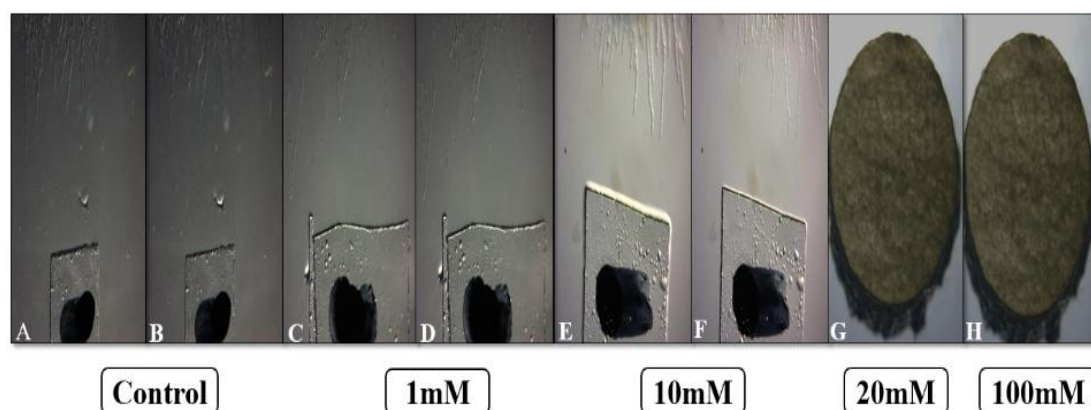
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 146:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium lateritium*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E)** PDA + 10mM EDTA; **F)** PDA + 20mM EDTA; **G)** PDA + 100mM EDTA; en estas tres últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M39-C1: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:

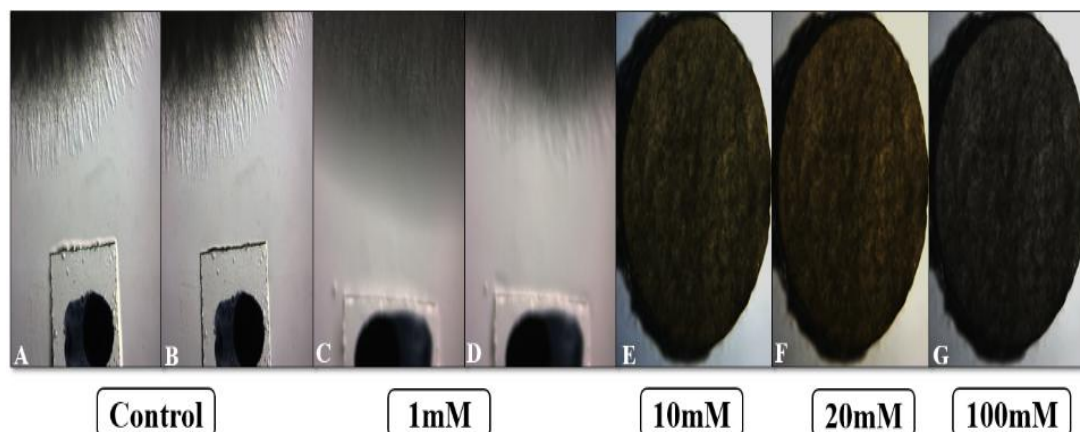


**Figura 147:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

6. Prueba de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Plátano (*Musa spp.*) son:

a) Cepa M3-C2: *Fusarium moniliforme*.

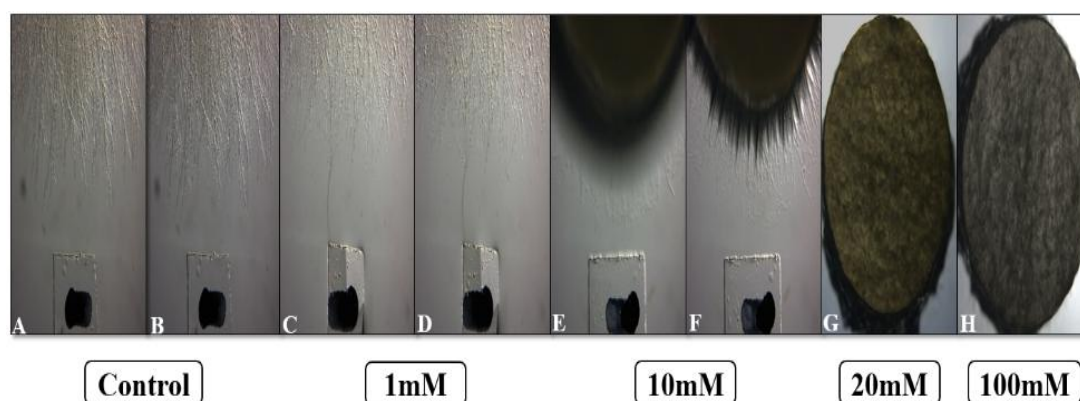
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 148:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium lateritium*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E)** PDA + 10mM EDTA; **F)** PDA + 20mM EDTA; **G)** PDA + 100mM EDTA; en estas tres últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M6-C4: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:

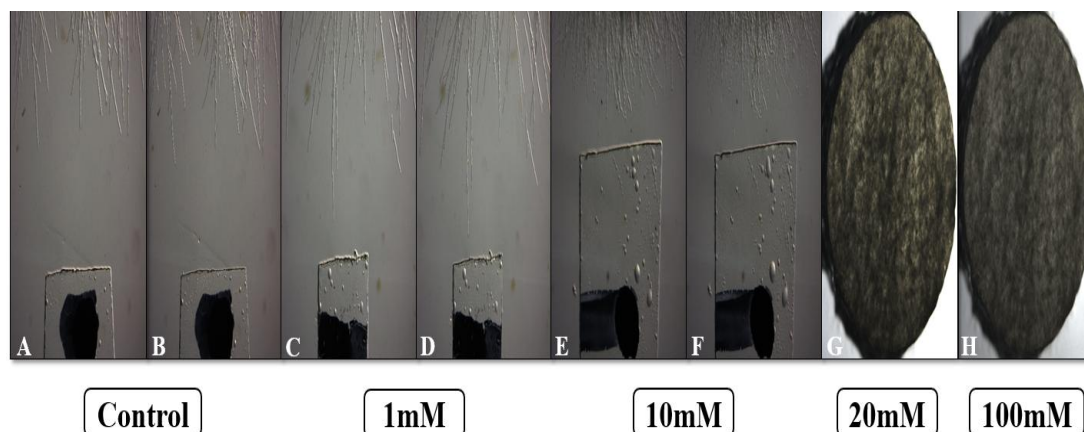


**Figura 149:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

7. Prueba de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Frijol huasca poroto (*Phaseolus sp.*) son:

a) Cepa M37-C1: *Fusarium moniliforme*.

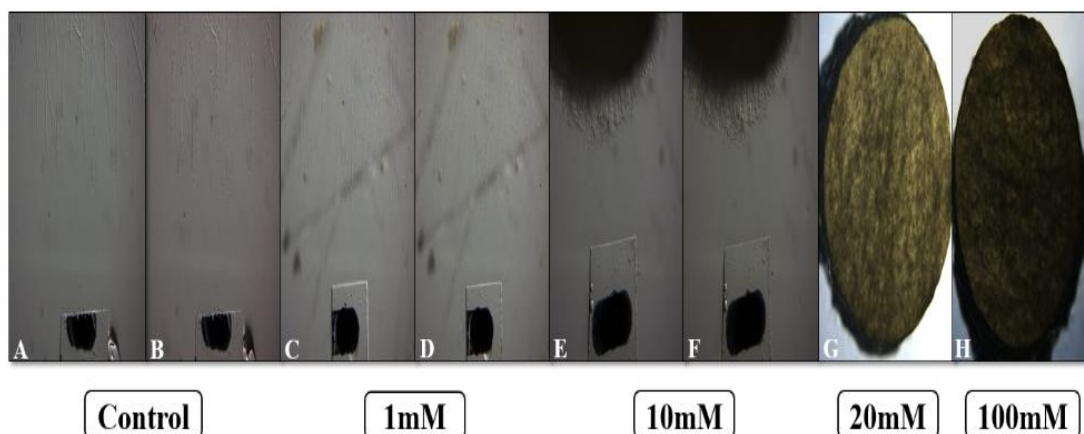
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 150:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M36-C1: *Fusarium moniliforme*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:

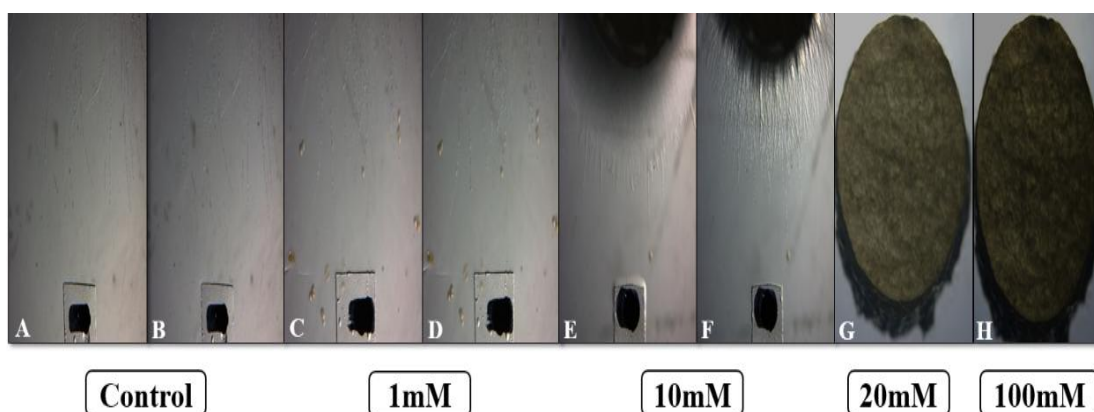


**Figura 151:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

8. Prueba de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Maíz amarillo duro en grano (*Zea mays* L.) son:

a) Cepa M14-C1: *Fusarium rigidiuscula*.

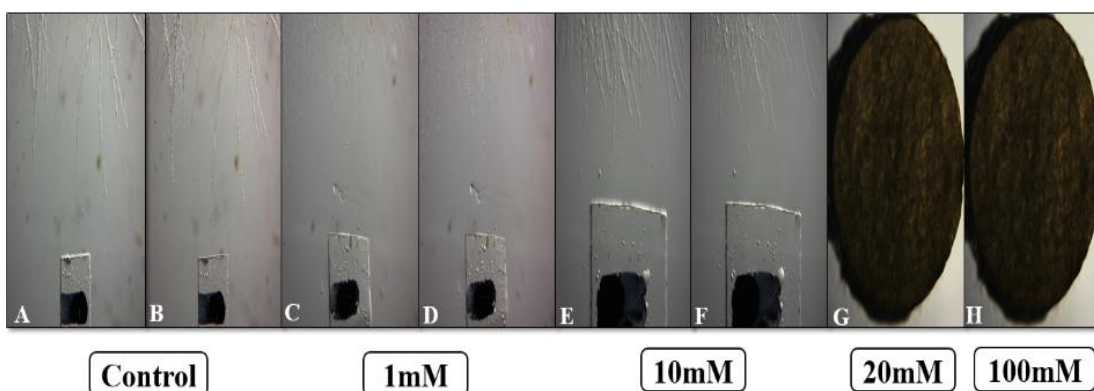
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 152:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M31-C1: *Fusarium solani*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



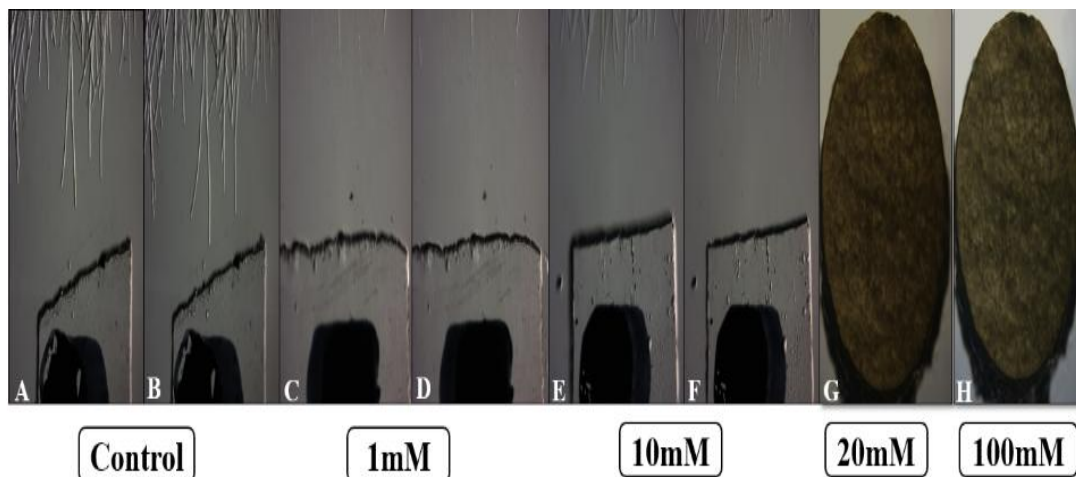
**Figura 153:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).



9. Prueba de secuestro de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular en especies *Fusarium* obtenidas del cultivo de Culantro castilla (*Coriandrum sativum* L.) son:

a) Cepa M2-C5: *Fusarium tricinctum*.

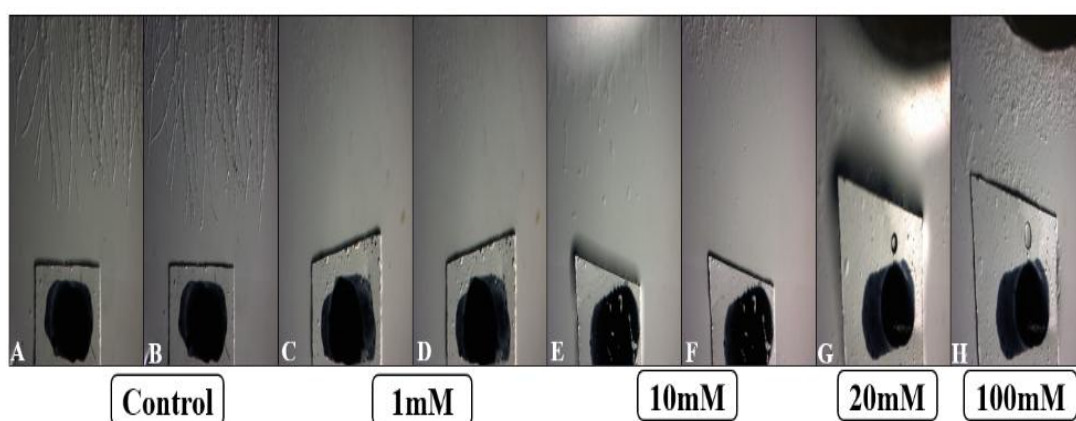
Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 154:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo Coz).

b) Cepa M2-C2: *Fusarium episphaeria*.

Crecimiento de micelio sobre diferentes concentraciones de EDTA:



**Figura 155:** Esquema de crecimiento micelial de *Fusarium moniliforme*, en medio de cultivo PDA sobre diferentes concentraciones de EDTA. **A-B)** Control (PDA puro sin EDTA); **C-D)** PDA + 1mM EDTA; **E-F)** PDA + 10mM EDTA; **G)** PDA + 20mM EDTA y **H)** PDA + 100mM EDTA; en estas dos últimas muestras no creció *Fusarium*. Estos datos se obtuvieron a través del sistema Time lapse por un periodo de 30 minutos, con intervalos de 5 minutos. Escala 0.5 cm (punto negro). (Fuente: fotos de Hugo coz).

