

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología - Microbiología

**Caracterización morfológica y análisis molecular del
agente fúngico de la pudrición de la corona y raíz
en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano),
Candarave, Tacna**

TESIS

Presentada por:

Bach. Rubí Adelin Quispe Mamani

Para optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO MICROBIÓLOGO

TACNA - PERÚ

2024

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 421

En la ciudad de Tacna, en el auditorio de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, siendo las 9:20 horas del día 16 de agosto del 2024, estando presente el jurado calificador nominado por Resolución de Facultad N°11002-2024-FACI-UN/JBG, conformado por los siguientes docentes:

Dr. Daladier Miguel Castillo Cotrina **Presidente**

Dr. Carlos Francisco Tito Vargas **Secretario**

Dra. Liduvina Sulca Quispe **Vocal**

Acto seguido se dio lectura a la Resolución correspondiente, y del mismo modo se dio lectura al Artículo 22 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

A continuación, el Presidente del Jurado instó a la Bachiller Rubí Adelin Quispe Mamani a exponer la tesis titulada: Caracterización morfológica y análisis molecular del agente fúngico de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano), Candarave, Tacna., para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo

Siendo las 09:57 horas, la tesista concluye su exposición, luego se procedió a la formulación de las preguntas por parte de los miembros del jurado calificador. Terminado este proceso, se invitó a que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo al reglamento. El promedio de la calificación dio el siguiente resultado: **APROBADO POR UNANIMIDAD**, con el calificativo de **SOBRESALIENTE NOTA 18**, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias. Siendo las 10:45 horas se dio por concluido el acto de sustentación de la tesis, firmando los señores miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.

Dr. Daladier Miguel Castillo Cotrina

Presidente

Dr. Carlos Francisco Tito Vargas

Secretario

Dra. Liduvina Sulca Quispe

Vocal

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Liduvina Sulca Quispe** en mi condición de asesora acreditada por la Resolución de Facultad N° **10257-2022-FACI-UN/JBG** de la tesis de investigación titulada: **“Caracterización morfológica y análisis molecular del agente fúngico de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano), Candarave, Tacna”**. Presentado por la Bachiller **Rubí Adelin Quispe Mamani** para optar el título de **Biólogo Microbiólogo**.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual **TURNITIN** cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es de **5%**. Por lo que **CERTIFICO LA SIMILARIDAD** de la tesis que está de acuerdo al nivel **PERMITIDO**, para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado con fines de continuar con los tramites respectivos para su obtención del título profesional.

Dra. Liduvina Sulca Quispe
DNI: 28219298



DEDICATORIA

A Dios, por guiarme en cada etapa de mi vida universitaria, por ser mi fuente de fortaleza y entendimiento en este logro académico.

A mí, por nunca rendirme, cada página es un recordatorio de todo lo que soy capaz de lograr cuando me esfuerzo y creo en mí misma.

A mis padres, Antonia Inés Mamani Suca y Néstor Quispe Cayo, gracias por su apoyo incondicional y amor, por ser mi fortaleza durante toda mi carrera, mi más grande ejemplo de perseverancia, por haberme edificado como una mujer de bien. Esta tesis es mi modesta forma de agradecer por todo lo que han hecho por mí.

A Fabian, mi mejor amigo, el amor de mi vida, gracias por creer en mí y motivarme a no darme por vencida. Tu paciencia, amor y comprensión han sido mi mayor fortaleza, ayudándome a superar mis propios límites y alcanzar mi mejor versión. Gracias por ser mi mayor apoyo y por demostrarme que, con esfuerzo y determinación, todo es posible.

A Marina Oyarce y Víctor Flores por darme un segundo hogar que me permitió cumplir metas en esta etapa, por su amor, consejos y apoyo incondicional les estoy muy agradecida.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Liduvina Sulca Quispe, mi asesora, por haber confiado en mí desde que era estudiante de pregrado y creer en mis capacidades. Gracias por su apoyo, orientación y por su disponibilidad durante el desarrollo de la tesis, le estoy muy agradecida.

Al Dr. German Sepúlveda Chavera, mi co asesor, por permitirme realizar una pasantía en el laboratorio de fitopatología vegetal de la Universidad de Tarapacá que fue esencial para el desarrollo de mi tesis, por todo su apoyo y consejos que me dio estoy muy agradecida.

Al Dr. Wilson Huanca Mamani, por confiar en mí e impulsarme a ser mejor, gracias por brindarme la oportunidad de ser su aprendiz y por introducirme al fascinante mundo de la biología molecular. Sus enseñanzas y orientación han sido fundamentales en mi crecimiento profesional y personal.

A la Dra. Mirna Grisel García Castillo, por la confianza depositada en mí, los conocimientos impartidos, por su paciencia y disponibilidad de tiempo, le estoy muy agradecida.

Al Dr. Daladier Castillo Cotrina por permitirme utilizar el laboratorio de Investigación en Biotecnología Microbiana para diversas actividades relacionadas con mi tesis.

Al Dr. Pablo Juan Franco León por facilitarme el uso del microscopio del Laboratorio de Investigación de Procesos Ecológicos (LEP), herramienta esencial para la identificación morfológica de los aislados fúngicos.

Al Vicerrectorado de Investigación de la UNJBG por el financiamiento con fondos del canon, sobrecanon y regalías mineras que permitió la ejecución de mi tesis de pregrado.

A mis compañeros del curso de fitopatología por ayudarme en las pruebas de patogenicidad, en especial a Fabia Quinteros, Britney Flores, Joao Santos y Arely Tacora. También, a José Sandoval, gracias por tu apoyo y tus consejos en el trabajo, siempre estaré muy agradecida contigo. Así mismo, quiero expresar mi sincero agradecimiento a todas las personas que contribuyeron de manera significativa a la concreción de mi tesis.

CONTENIDO

I.INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema	2
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivo específico.....	4
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Fundamento teórico.....	9
2.2.1. Orégano	9
2.2.2. Hongos fitopatógenos	16
2.2.3. Enfermedades del cultivo de orégano	19
2.2.4. Hongos nectriáceos	20
2.2.5. Análisis molecular.....	27
2.2.6. Postulados de Koch.....	29

III. MARCO METODOLÓGICO	31
3.1. Tipo y diseño de estudio	31
3.2. Material biológico	31
3.3. Aislamiento de los hongos asociados a pudrición de la corona y raíz del orégano	34
3.4. Purificación de los hongos asociados a pudrición de la corona y raíz del orégano	35
3.5. Caracterización morfológica e identificación de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano	35
3.6. Identificación molecular de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano	36
3.6.1. Extracción de ADN	36
3.6.2. Amplificación por PCR	37
3.6.3. Electroforesis en gel de agarosa	42
3.6.4. Secuenciación	43
3.6.5. Análisis filogenético	43
3.7. Prueba de patogenicidad de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano	44

3.7.1. Evaluación de la prueba de patogenicidad	47
IV. RESULTADOS	59
4.1. Aislamiento de los hongos asociados a la pudrición de la corona y raíz del orégano	59
4.2. Caracterización morfológica de los aislados asociados a la pudrición de la corona y raíz del orégano	59
4.2.1. FARU03-10, FARU03-11	59
4.2.2. LUAD03-16	62
4.2.3. LUAD03-14, LUAD03-15	64
4.2.4. LUAD03-12, LUAD03-13, LUAD03-17	66
4.3. Identificación morfológica de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano	69
4.4. Identificación molecular y análisis filogenético de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano	70
4.5. Prueba de patogenicidad de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano	77
4.5.1. <i>Dactylonectria torresensis</i>	77
4.5.2. <i>Fusarium iranicum</i>	78
4.5.3. <i>Fusarium oxysporum</i>	78

4.5.4. <i>Fusarium redolens</i>	79
V. DISCUSIÓN.....	84
VI. CONCLUSIONES	94
VII. RECOMENDACIONES	95
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
IX. ANEXOS	125

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Primers utilizados en la amplificación de PCR.....	38
Tabla 2. Condiciones de PCR para el gen factor de elongación de la traducción	40
Tabla 3. Condiciones de PCR para el gen tubulina.....	40
Tabla 4. Condiciones de PCR para el gen histona	41
Tabla 5. Condiciones de PCR para 28S	41
Tabla 6. Condiciones de PCR para ITS4 y ITS5	42
Tabla 7. Escala de severidad para <i>Dactylonectria torresensis</i> y <i>Fusarium oxysporum</i>	48
Tabla 8. Escala de severidad para <i>Fusarium iranicum</i> y <i>Fusarium redolens</i>	49
Tabla 9. Especies de <i>Dactylonectria</i> e <i>Ilyonectria</i> utilizados en el análisis filogenético.....	50
Tabla 10. Especies del complejo de <i>Fusarium tricinctum</i> utilizados en el análisis filogenético.....	55
Tabla 11 Especies del complejo de <i>Fusarium redolens</i> y otros utilizados en el análisis filogenético.....	57
Tabla 12. Especies del complejo de <i>Fusarium oxysporum</i> y otros utilizados en el análisis filogenético.....	58
Tabla 13. Aislados obtenidos de la corona y raíz del cultivo de orégano, Candarave, Tacna	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales distritos de producción del orégano según cada provincia del departamento de Tacna	11
Figura 2. Esquema de un hongo fitopatógeno penetrando directamente en una planta.....	18
Figura 3. Diagrama que ilustra el ciclo de infección de <i>Fusarium</i> spp.	24
Figura 4. Cultivo de orégano en el distrito de Alto Camilaca, Candarave	32
Figura 5. Síntomas a nivel foliar del cultivo de orégano, Alto Camilaca, Candarave	32
Figura 6. Síntomas a nivel radicular del cultivo de orégano, Alto Camilaca, Candarave.....	33
Figura 7. Esquema de muestreo en cinco de oros	34
Figura 8. Prueba de patogenicidad de los aislados del cultivo de orégano, Alto Camilaca, Candarave.....	46
Figura 9. Características macroscópicas y microscópicas de los aislados de FARU03-10 y FARU03-11.....	61
Figura 10. Características macroscópicas y microscópicas de los aislados de LUAD03-16	63
Figura 11. Características macroscópicas y microscópicas de los aislados LUAD03-14 y LUAD03-15.....	65

Figura 12. Características macroscópicas y microscópicas de los aislados de LUAD03-12, LUAD03-13 y LUAD03-17	68
Figura 13. Árbol multilocus de máxima verosimilitud de los aislados de <i>Dactylonectria</i>	73
Figura 14. Árbol multilocus bayesiano del complejo <i>Fusarium tricinctum</i>	74
Figura 15. Árbol multilocus bayesiano del complejo <i>Fusarium redolens</i>	75
Figura 16. Árbol de inferencia bayesiana del complejo <i>Fusarium oxysporum</i> ...	76
Figura 17. Prueba de patogenicidad de la planta control	79
Figura 18. Prueba de patogenicidad de los aislados de <i>Dactylonectria torresensis</i>	80
Figura 19. Prueba de patogenicidad de los aislados de <i>Fusarium iranicum</i>	81
Figura 20. Prueba de patogenicidad de los aislados de <i>Fusarium oxysporum</i>	82
Figura 21. Prueba de patogenicidad del aislado de <i>Fusarium redolens</i>	83
Figura 22. Reaislamiento de los aislados inoculados en la prueba de patogenicidad	83

RESUMEN

El cultivo de orégano (*Origanum vulgare*) es de gran importancia económica después del cultivo de olivo en Tacna. Sin embargo, la presencia de hongos fitopatógenos representa un desafío para su producción. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar a nivel morfológico y molecular el agente causal de la pudrición de la corona y raíz en un campo de cultivo en el distrito de Alto Camilaca, Candarave, Tacna. En marzo del 2023, se observaron síntomas de amarillamiento, necrosis apical y marginal, defoliación, abarquillamiento, marchitez de ramas y muerte ascendente. A nivel radicular, se observó necrosis negra en la raíz principal, secundaria y corona, mientras que las raicillas mostraron necrosis marrón oscuro, descortezamiento generalizado y decoloración vascular en la corona. Se recolectaron muestras de las que se aislaron e identificaron 8 aislados puros en función a las características macroscópicas y microscópicas de las estructuras fúngicas, las cuales fueron identificadas como pertenecientes a los géneros *Fusarium* y *Dactylonectria*. El análisis filogenético, agrupó los aislados como *Dactylonectria torresensis*, *Fusarium oxysporum*, *F. iranicum*, *F. redolens*. Las pruebas de patogenicidad demostraron que la pudrición radicular de la corona y raíz del cultivo de orégano es causada por un complejo de hongos fitopatógenos.

Palabras clave: Orégano, Pudrición de corona y raíz, *Dactylonectria* y *Fusarium*.

ABSTRACT

The cultivation of oregano (*Origanum vulgare*) is of great economic importance after the cultivation of olive trees in Tacna. However, the presence of phytopathogenic fungi represents a challenge for its production. This study aimed to characterize at a morphological and molecular level the causal agent of crown and root rot in a crop field in the district of Alto Camilaca, Candarave, Tacna. In March 2023, symptoms of yellowing, apical and marginal necrosis, defoliation, curling, branch wilting, and dieback were observed. At the root level, black necrosis was observed in the main root, secondary root and crown, while the rootlets showed dark brown necrosis, generalized barking and vascular discoloration in the crown. Samples were collected from which 8 pure isolates were isolated and identified based on the cultural and microscopic characteristics of the fungal structures, which were identified as belonging to the genera *Fusarium* and *Dactylonectria*. The phylogenetic analysis grouped the isolates as *Dactylonectria torresensis*, *Fusarium oxysporum*, *F. iranicum*, *F. redolens*. Pathogenicity tests demonstrated that root rot of the crown and root of the oregano crop is caused by a complex of phytopathogenic fungi.

Keywords: Oregano, Crown and root rot, *Dactylonectria* and *Fusarium*

I.INTRODUCCIÓN

El Perú sobresale como uno de los principales productores y exportadores de orégano en Sudamérica. A nivel regional, Tacna se posiciona como líder en la producción de esta especia, destacando especialmente el distrito de Camilaca en Candarave como el segundo mayor productor según el informe del DRAT en 2023. Por lo tanto, la producción de orégano constituye una de las principales fuentes de ingreso para la población de Candarave.

Los hongos fitopatógenos causan pérdidas económicas debido a que comprometen el rendimiento y la calidad de los cultivos. De esto se desprende la importancia de identificar al agente causal de una enfermedad. A nivel global, en el orégano se han reportado especies fitopatógenas asociadas a diferentes géneros, con un soporte a nivel morfológico (Zimowska,2015; Gaetán et al., 2007a, b; Chugnas, 2018; Hume, 2007).

En la actualidad se considera que las descripciones morfológicas no son suficientes para determinar una especie según el *Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Hongos y Plantas* (CINB) (Turland et al., 2018). De modo que ofrecer una identificación robusta requiere de la parte morfológica y molecular, siendo esto apenas la primera parte de todo un programa para la

implementación de medidas de control. Es por ello que el objetivo de este estudio fue caracterizar morfológica y molecularmente a los agentes fúngicos causales de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de orégano.

1.1. Planteamiento del problema

El cultivo de orégano es de gran importancia económica después del cultivo de olivo en nuestra región. A nivel regional, Tacna es considerado el principal productor de orégano con 2 085 ha y una producción de 10 182 t, debido a las ventajas de clima y suelo, siendo Candarave la segunda provincia con mayor superficie de cosecha de este cultivo (DRAT, 2023). Su producción y comercialización constituye la principal fuente de ingreso de su población; sin embargo, las enfermedades por hongos fitopatógenos constituyen una limitante en la producción agrícola, provocando pérdidas en cuanto al rendimiento, calidad y su valor económico conjuntamente con la disminución del tiempo de vida útil de las plantaciones de orégano, además de aumentar el costo de producción asociado a medidas de control.

Este trabajo de investigación surgió por observaciones personales de los síntomas de la enfermedad en la parte aérea de plantas de orégano debido a la pudrición de la corona y raíz, en los campos de cultivo de Candarave, sin ninguna solución. Asimismo, la escasa información de los hongos asociados a la pudrición radicular demandaba hacer este estudio al constituirse en un problema para los agricultores. Por tal motivo se planteó la siguiente interrogante: ¿Cuál es el agente

fúngico causal de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano) caracterizado mediante análisis morfológico y molecular en Candarave, Tacna?

1.2. Justificación

Esta investigación es crucial por varias razones fundamentales. En primer lugar, desde un punto de vista teórico, genera nuevo conocimiento sobre el agente causante de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de orégano en Candarave, Tacna. Asimismo, este conocimiento no solo profundizará nuestra comprensión científica de la fitopatología del orégano, sino que también servirá como base para futuras investigaciones en el campo. En segundo lugar, tiene relevancia práctica porque contribuirá al diseño y desarrollo de programas efectivos para la prevención y manejo de enfermedades, lo cual no solo prolongará el ciclo productivo de los cultivos, sino que también se espera que aumente la producción. Además, tiene un impacto social, al elevar la conciencia entre los agricultores sobre la importancia de la gestión integrada de enfermedades, fomentando prácticas agrícolas más sostenibles. Por otro lado, económicamente, asegura la estabilidad y rentabilidad de las operaciones agrícolas, beneficiando tanto a los productores como a la economía regional en Tacna, impulsando un desarrollo agrícola más sostenible y resistente.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Caracterizar al agente fúngico causal de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano) mediante análisis morfológico y molecular en Candarave, Tacna.

1.3.2. Objetivo específico

Aislar y caracterizar mediante análisis morfológico al agente fúngico causal de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano) en Candarave, Tacna.

Caracterizar mediante análisis molecular al agente fúngico causal de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano) en Candarave, Tacna.

Determinar la patogenicidad de las especies de hongos aislados de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano) en Candarave, Tacna.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

A nivel global existen estudios acerca de hongos fitopatógenos que causan la pudrición de la corona y raíz en las plantaciones de orégano que producen daños significativos durante su desarrollo. En Polonia, Zimowska (2015) en la investigación titulada “Hongos que amenazan el cultivo de orégano (*Origanum vulgare* L.) en el sureste de Polonia” reportó el aislamiento de *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* a partir de raíces con necrosis y desintegración del tejido en tres plantaciones de cultivo de orégano de dos años de edad que mostraron síntomas de manchas necróticas, marchitez y defoliación prematura a nivel del follaje en la provincia de Lublin en las comunas Fajslawice y Suchodoly del 2012 a 2014. Asimismo, en Italia, Martini et al. (2009) en su estudio titulado “Primer informe de *Phytophthora tentaculata* causante de pudrición de la raíces y tallos de orégano en Italia” reportaron a *Phytophthora tentaculata* como agente causal asociado a pudrición de raíces y tallo en plantaciones de orégano que mostraron síntomas de enrojecimiento, clorosis de las hojas, marchitez, defoliación, muerte regresiva de ramas, oscurecimiento del tallo basal y la muerte de las plantas de orégano, en un vivero en Lujuria en octubre del año 2007, el mismo que fue confirmado mediante prueba de patogenicidad. También, en Argentina, Gaetán et al. (2007b) en su estudio titulado “Brote reciente de pudrición de corona y raíz por *Fusarium* causada por *Fusarium solani* en orégano en Argentina” reportaron a *Fusarium solani* como

agente causal de la enfermedad que fue confirmada mediante prueba de patogenicidad. Los síntomas mostrados a nivel aéreo fueron: amarillamiento, marchitez, necrosis de hojas, defoliación prematura y decoloración del tallo y a nivel de raíz y corona fue la pudrición seca ocasionando la muerte del cultivo de orégano en la provincia de Córdoba, Luyaba en el año 2005. Adicionalmente, Gaetán et al. (2007a) en la investigación titulada “Ocurrencia reciente de marchitez por *Fusarium* causada por *Fusarium oxysporum* en orégano en Argentina” en un campo en Luyaba, en el año 2006 reportaron a *Fusarium oxysporum* como agente causal asociado a marchitez vascular que fue confirmada mediante prueba de patogenicidad. Los síntomas observados fueron: marchitamiento, necrosis foliar y decoloración vascular que ocasionaron la muerte de plantaciones de orégano.

Además, a nivel global existen estudios sobre la enfermedad a nivel de cuello y raíces en diversos cultivos agrícolas, que es transmitida por el suelo que involucra varios géneros de la familia Nectriaceae, como *Cylindrocarpon*, *Campilocarpon*, *Cilindrocladiella*, *Dactylonectria*, *Ilyonectria*, *Neonectria* y *Thelonectria*, lo cual constituye un problema significativo en la agricultura, siendo *Dactylonectria torresensis* el agente causal más común en Europa en vid (Gramaje et al., 2018).

Sin embargo, no existen reportes de *Dactylonectria torresensis* en el cultivo de orégano, pero se ha registrado su presencia en otros cultivos afectando la corona y la raíz. En el cultivo de vid, en República Checa, (Pečenka et al., 2018), en el

Olivo, Italia, (Nigro et al., 2019), en fresas, en Kirguistán (Erper et al., 2021), en *Bletilla striata* en Yunnan, China (Li et al., 2021), en *Astragalus membranaceus* en el noreste de China (Guan et al., 2021). Además, se ha reportado en España a *Dactylonectria novozelandica*, *Dactylonectria macrodidyma*, *Ilyonectria liriodendri* en el cultivo de vid junto con *Dactylonectria torresensis* y *Dactylonectria alcacerensis* (Tolosa, 2015) y estas dos últimas en Turquía (Güngör-Savaş et al., 2020). En Ecuador, la enfermedad del pie negro en la mora andina es causada por *Dactylonectria torresensis*, *Ilyonectria vredehoekensis*, *Ilyonectria robusta*, *Ilyonectria venezuelensis* (Sánchez et al., 2019). Por otro lado, la pudrición oxidada de la raíz del ginseng es causada por un complejo fúngico que incluye esta especies: *Ilyonectria robusta*, *Ilyonectria communis*, *Ilyonectria mors-panacis*, *Ilyonectria pseudodestructans*, *Ilyonectria changbaiensis*, *Ilyonectria qitaiheensis*, *Neonectria obtusispora*, *Dactylonectria torresensis*, y *Rhexocercosporidium panacis*, y cuatro especies nuevas, *Thelonectria ginsengicola*, *Thelonectria jixiensis*, *Thelonectria mulanensis* y *Thelonectria fusongensis*, entre todas, *Ilyonectria robusta* destaca como la especie más prevalente y dañina (Guan et al., 2020). En China, se ha observado la presencia de *Dactylonectria novozelandica*, *Dactylonectria pauciseptata* y *Dactylonectria torresensis* asociadas a la pudrición negra de la raíz en fresas (Chen et al., 2021).

También, a nivel global, no se han documentado casos de *Fusarium redolens* en el cultivo de orégano; sin embargo, se ha observado su presencia en otros cultivos, donde afecta principalmente la corona y las raíces. Ha sido reportada en el cultivo de espárrago (Baayen et al., 2000), soja en Minnesota (Bienapfl et al., 2010), ginseng en China (Fan et al., 2021), trigo y cebada en Marruecos (Qostal et al., 2021), trigo en Kazajistán (Bozoğlu et al., 2021), comino negro en Turquía (Ölmez et al., 2021), tabaco en China (Gai et al., 2023), baya de Goji en China (Xu et al., 2024). Además, se ha reportado a *Fusarium commune* y *Fusarium redolens*, causantes de podredumbre de corona y raíz en Argelia (Hamini et al., 2010). En Finlandia a *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum* y *Fusarium redolens* asociados con la podredumbre basal de la cebolla (Haapalainen et al., 2016) y en Francia a *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium redolens* y *Fusarium solani* como causantes de pudrición de la raíz en guisantes (Gibert et al., 2022).

Así mismo, a nivel nacional en Cajamarca, Chugnas (2018) en su tesis titulada “Etiología y patogénesis de fungosis del orégano (*Origanum vulgare* L.) en la provincia de Cajamarca”, reportó a *Fusarium moniliforme*, *Fusarium roseum* y *Fusarium oxysporum* como agentes asociados a la pudrición en la raíz. Los síntomas observados a nivel del sistema radicular fueron necrosis y en la parte aérea clorosis y muerte regresiva.

A nivel local, hay información sobre la reducción en la producción del cultivo de orégano por fitopatógenos causantes de pudrición de la raíz. En Tacna, Hume (2007) en su tesis titulada “Efecto protector de diferentes dosis de *Glomus* spp. frente al hongo patógeno causante de pudrición radicular en plantas de *Origanum vulgare* (Orégano) bajo condiciones de invernadero”, reportó a *Cylindrocarpon destructans* como agente causal de la pudrición radicular en el orégano mediante caracterización morfológica y prueba de patogenicidad. Los síntomas fueron: marchitez, clorosis y defoliación a nivel foliar. A nivel radicular, pudrición seca, necrosis y descortezamiento a nivel de raíces conduciendo a la muerte de las plantas de un año de edad del centro poblado menor de Cambaya, provincia Jorge Basadre Grohmann. También, se reportó el aislamiento de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* en plantaciones de orégano.

2.2. Fundamento teórico

2.2.1. Orégano

2.2.1.1. Origen. Según la Comisión para la promoción de exportaciones (PROMPEX, 1997 citado por Villalobos, 2018) en el Perú la incorporación del orégano es desconocida, probablemente sea a través de inmigrantes europeos que se ubicaron en Tacna y Arica en el transcurso de la ocupación española.

2.2.1.2. Variedades. En distintas zonas del Perú se cultivan diversas variedades de orégano. En la región de Tacna se han identificado variedades como

mejorado, chinito, floración temprana 1, floración temprana 2, nigra común, oreja de elefante, italiano y cocotea (Southern Copper Perú; citado por Salas & Alagón, 2016). Según Arela (2017), en Candarave las variedades de orégano que hay, son todas excepto las dos últimas mencionadas.

2.2.1.3. Distribución geográfica y producción del orégano. El orégano tiene una distribución amplia que abarca todo el Mediterráneo, incluyendo regiones de Europa, Asia, América e incluso el Norte de África. Se destacan dos especies principales de esta planta: *Origanum vulgare*, originaria de Europa, y *Lippia graveolens*, propia de América (García et al., 2012).

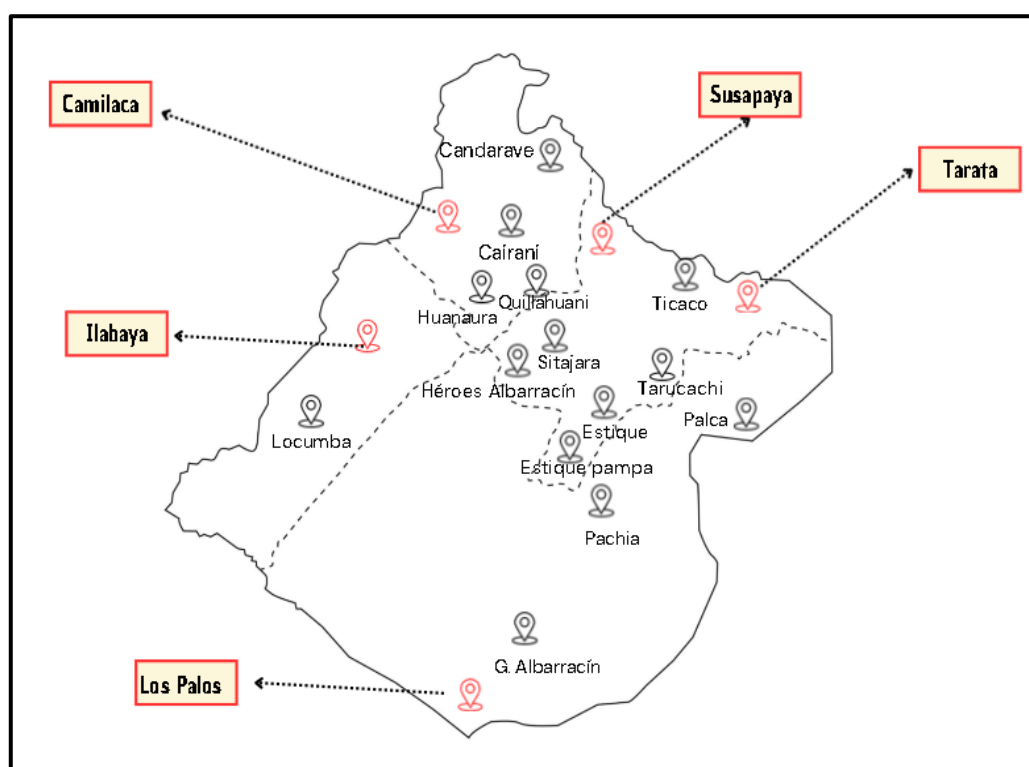
Según el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, 2001 citado por Limache, 2012), los principales países productores de orégano a nivel mundial son: Turquía, Albania, Grecia, Marruecos, Egipto y México. En Sudamérica, Argentina, Chile, Perú y Bolivia destacan como los mayores productores (Tarapa, 2010). Según el Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI, 2019) en el Perú, las regiones con mayor producción de orégano durante el año 2019 fueron: Tacna con 11,2 mil seguido por Arequipa con 2,6 mil y Moquegua con 2,1 mil toneladas. Además, Tacna concentra la mayor producción nacional de orégano, representando el 69,6 % del total (MINAGRI, 2019).

Según la Dirección Regional de Agricultura de Tacna, (DRAT, 2023) en la región de Tacna los principales distritos productores del orégano son: En Tacna, el

distrito de Los Palos destaca con una producción anual de 3 262 t, en Candarave, Camilaca 2 133 t, en Jorge Basadre, Ilabaya registró 787 t y en Tarata, Susapaya lideró con 635 t, seguido de Tarata con 519 t (Figura 1).

Figura 1

Principales distritos de producción del orégano según cada provincia de la región de Tacna



Nota. Se destacan los distritos con mayor producción por provincia en la región de Tacna. Tomado de DRAT (2023).

2.2.1.4. Taxonomía. Según el Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS), presenta la siguiente clasificación taxonómica del cultivo de orégano (Goetz & Ghedira, 2012 citado por Pineda, 2021).

Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Infrareino: Streptophyta

Superdivisión: Embryophyta

División: Tracheophyta

Subdivisión: Spermatophytina

Clase: Magnoliopsida

Superorden: Asteranae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Origanum*

Especie: *Origanum vulgare*

2.2.1.5. Descripción botánica del orégano. El orégano es una planta de tipo herbácea y de apariencia leñosa, conocida por su polimorfismo que se ve influenciado por factores como las condiciones del suelo, el clima, la estación del año y las prácticas de cultivo. Estas variables pueden provocar variaciones en las características morfológicas de las plantas de orégano (Klauer, 2009; Aros, 2021).

El orégano desarrolla hojas de forma elíptica a ovalada y muy pequeñas con dimensiones generalmente comprendidas entre 15 y 42 x 8 a 25 mm (Benítez et al., 2014). El Centro de Investigación Biológica (CIB, 2013 citado por Miranda, 2016) menciona que las hojas se disponen de manera opuesta, tienen vellosidades en el envés y son lisas en el haz. El color de las hojas es verde, aunque más claro en el envés, y las diminutas vellosidades contienen esencia en ambas caras (Klauer, 2009).

Sus flores son pequeñas, generalmente de color blanco, aunque ocasionalmente pueden ser rosadas o lilas. Estas flores se agrupan en inflorescencias formando glomérulos. Los pétalos tienen una longitud que varía entre 2 y 3 mm (CIB, 2013 citado por Miranda, 2016). El cáliz es tubuloso y mide aproximadamente 3 a 3,5 mm mientras que la corola puede alcanzar hasta los 10 mm de longitud (Benítez et al., 2014).

Los tallos son ramificados de manera cuadrangular y erectos, alcanzando hasta 1 m de altura. Presentan dos caras con pelos y las otras dos sin ellos (Benítez

et al., 2014; Binda et al., 2010). Su color típico es verde, aunque puede variar hacia tonos verde rojizos o violáceos dependiendo de su genotipo (Klauer, 2009).

La raíz del orégano es fasciculada o fibrosa altamente ramificada y presenta pequeñas raicillas. La raíz principal se desarrolla desde el nudo inferior del esqueje. Esta planta es muy vulnerable a enfermedades fúngicas, especialmente cuando hay un exceso de humedad (Villalobos, 2018; Klauer, 2009).

2.2.1.6. Características ecológicas del cultivo de orégano. El cultivo de orégano es polimorfo, debido a las condiciones edafoclimáticas donde se desarrolla y la estación del año, lo cual da origen a las diferentes variedades de orégano. Se desarrolla mejor a una altura comprendida entre los 2 200 a 4 200 m s. n. m. (Villalobos, 2018). Para su crecimiento ideal el orégano tiene que tener una temperatura mínima de 7 °C durante la noche y alrededor de los 15 °C durante el mediodía, aunque temperaturas superiores a 30 °C como inferiores a 5 °C pueden retardar su crecimiento, siendo las temperaturas por debajo de 5 °C capaces de quemar los bordes de las hojas (Klauer, 2009). Las condiciones ideales oscilan entre 17,7 °C y 22,7 °C durante el día, y de 15 °C a 17 °C por la noche. En cuanto a la humedad relativa esta no debe exceder el 75% (Delgado & Padilla, 2010 citado por Zúñiga, 2016).

El orégano es adaptable a diversos climas, aunque su rendimiento óptimo se observa en climas templados y soleados. En estas condiciones, es capaz de producir

un mayor rendimiento de aceite esencial, especialmente cuando recibe alrededor de 7 a 8 horas diarias de radiación solar (Villalobos, 2018).

El orégano se desarrolla mejor en suelos ricos en materia orgánica, pero muestra una preferencia particular por los suelos franco arenosos, donde puede prosperar y producir de manera óptima hasta 14 años. En contraste, en suelos arcillosos, su vida útil se reduce a unos 5 años (Klauer, 2009). No obstante, el orégano puede adaptarse a una variedad de tipos de suelos siempre y cuando tengan un buen drenaje. Además, prospera bien en suelos pedregosos e incluso tolera valores de pH alcalinos. Es crucial asegurar una adecuada disponibilidad de fósforo y nitrógeno a lo largo de su ciclo de crecimiento mediante prácticas de fertilización (Argüello et al., 2012). Sin embargo, en suelos con alta salinidad, la planta requiere más energía para absorber agua y nutrientes, lo que puede llevar a una marchitez más rápida y afectar negativamente su crecimiento óptimo (Jiaping & Wenjuan, 2021).

El orégano muestra una leve sensibilidad al estrés hídrico, lo cual puede resultar en una reducción del crecimiento y del rendimiento de la planta (Hancioglu et al., 2021). Debido a esta sensibilidad, es necesario aplicar riegos frecuentes pero moderados, ya que un exceso de agua puede causar el ahogamiento del cultivo y la pudrición de las raíces, creando condiciones propicias para la infección por fitopatógenos (Estrada, 2020).

2.2.2. Hongos fitopatógenos

Los hongos destacan como patógenos vegetales con mayor relevancia ecológica y económica. Las especies de hongos fitopatógenos se encuentran primordialmente en los filos Ascomycota y Basidiomycota.

Las infecciones por hongos causan una amplia gama de síntomas. Tradicionalmente, los hongos fitopatógenos se clasifican en dos grupos principales: biotróficos, que establecen interacciones cercanas con las plantas y utilizan sus tejidos vivos, en cambio los necrotróficos, causan la descomposición del tejido para obtener nutrientes (Doehlemann et al., 2017).

2.2.2.1. Mecanismos de infección de hongos fitopatógenos. Los hongos fitopatógenos causan enfermedades mediante diferentes mecanismos para adherirse a la superficie de la planta hospedera, siguiendo una secuencia de etapas conocida como patogénesis.

A) Unión a la superficie de la planta

Las hifas generalmente están envueltas en sustancias mucilaginosas, y parece que su adhesión a la planta ocurre mediante fuerzas intermoleculares que se generan cuando el patógeno se une estrechamente a la superficie de la planta (Agrios, 2005).

B) Germinación y formación de estructuras de infección

Tras el contacto inicial, la porción de la hifa que se adhiere a la superficie del hospedador evalúa la disponibilidad de nutrientes y las condiciones ambientales favorables, como la alta humedad, temperatura y luz. Esta se incrementa y forma una estructura aplanada en forma de bulbo conocida como apresorio. Esta estructura facilita la unión entre ambos organismos y permite que el patógeno se adhiera a la planta (Agrios, 2005).

C) Penetración en el huésped

Después de que se forma el apresorio, se desarrolla un punto de penetración delgado que atraviesa la cutícula y la pared celular de la planta. Este punto puede usar métodos mecánicos, digestión enzimática o aberturas naturales para penetrar. Las cutinasas producidas por ciertos hongos son cruciales porque hidrolizan la cutina, componente clave de la cutícula de las plantas. Además, las pectinasas degradan la pectina en las paredes celulares, facilitando la penetración al descomponer las capas externas de la pared celular y permitir el acceso a polímeros internos (Agrios, 2005).

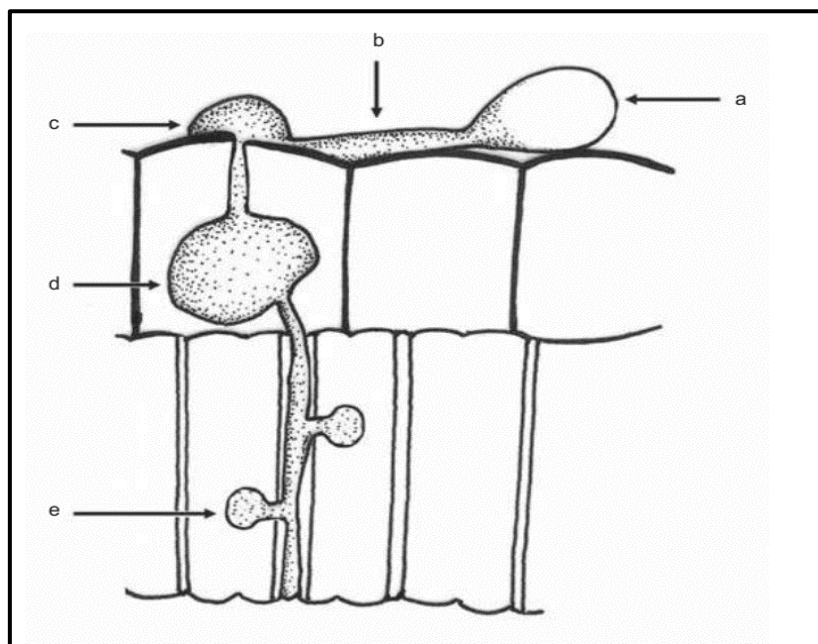
D) Colonización de los tejidos del huésped

Las hifas que penetran en la planta generan hifas primarias y múltiples hifas secundarias filamentosas que colonizan el tejido vegetal a través de crecimiento intercelular e intracelular. Los hongos biotróficos se caracterizan por colonizar con

hifas ramificadas mediante crecimiento intercelular, mientras que los hongos necrotróficos utilizan el crecimiento intracelular, a menudo provocando la muerte de la célula huésped mediante la secreción de enzimas pectolíticas y toxinas (Figura 2) (Agrios, 2005).

Figura 2

Esquema de un hongo fitopatógeno penetrando directamente en una planta



Nota. La figura describe: a) propágulo; b) tubo germinal; c) apresorio; d) hifa de penetración y vesícula; e) haustorio. Adaptado de Biología de hongos (p. 9), por Cepero et al., 2012, Uniandes-Universidad de los Andes.

2.2.3. Enfermedades del cultivo de orégano

Los cultivos pueden enfermarse cuando las condiciones ideales para el desarrollo están presentes, tales como exceso de humedad, intensidad solar, desequilibrio nutricional que puede acidificar el pH y el uso excesivo de fertilizantes sintéticos. Estos dos últimos factores propician la proliferación de hongos, bacterias e incluso insectos (Klauer, 2009).

A nivel global, se han identificado varios hongos del suelo que causan pudrición en el cuello y raíces de las plantas de orégano. Entre ellos destacan *Rhizoctonia* sp, *Fusarium* sp. y *Phytophthora cryptogea*, que afectan a hierbas como el salvia, tomillo y romero (Klauer, 2009), así como *Phytophthora tentaculata* (Martini et al., 2009) y *Pythium* sp. (Alarcón, 2011)

En Chile, diversos hongos fitopatógenos afectan el cultivo de orégano, siendo *Cylindrocarpon* sp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* que provocan síntomas como amarillamiento, marchitez y necrosis foliar. Estos patógenos también causan necrosis y pudrición en las raíces, afectando tanto las raicillas como el cuello de la planta. Además, *Rhizoctonia solani* ocasiona amarillamiento y necrosis foliar, junto con lesiones necróticas en el cuello y las raíces (Acuña, 2008). En Argentina, mediante pruebas de patogenicidad se confirmó a *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum* causantes de síntomas a nivel foliar como amarillamiento, marchitez, necrosis y defoliación. A nivel

radicular, necrosis de la raíz y corona a nivel radicular en el orégano (Yossen et al., 2010; Yossen & Conles, 2012, citado por Yossen & Conles, 2014).

2.2.4. Hongos nectriáceos

Los hongos de la familia Nectriaceae tienen una distribución global y se encuentran de forma natural en áreas tropicales y subtropicales. Son patógenos que afectan a una amplia variedad de cultivos agrícolas y forestales en todo el mundo (Crous, 2002; Chaverri et al., 2011).

La mayoría de las especies pertenecientes a la familia Nectriaceae se encuentran en el suelo y desempeñan una variedad de roles como saprófitos, patógenos débiles, patógenos obligados, patógenos oportunistas, micoparásitos o entomopatógenos (Lombard et al., 2015). Muchas de estas especies son de gran importancia en la agricultura, y se ha observado que varias causan daños severos en las raíces transmitidos a través del suelo, como es el caso de *Fusarium* spp. y *Dactylonectria* spp. que es responsable del pie negro de la vid (Lombard et al., 2014a), mientras que *Calonectria ilicicola*, provoca enfermedades agresivas en varios hospedantes, incluida la pudrición negra de la raíz del aguacate (Dann et al., 2012).

2.2.4.1. *Fusarium*. El género *Fusarium* fue descrito por primera vez por Link en 1809 en plantas de Malamaceae, y desde entonces se han identificado más de mil especies de *Fusarium* (Wei & Wu, 2020). Este hongo se considera ubicuo y

saprófito común del suelo, asociado tanto con insectos y materia orgánica en descomposición. Su amplia distribución se debe a su capacidad para crecer en diversos sustratos y a los mecanismos de dispersión que involucran lluvia y viento (Linares, 2010). Además, es reconocido como un patógeno multihuésped con grandes implicaciones tanto en la salud humana como en la agricultura, causando múltiples enfermedades en plantas, humanos y animales (Van Baarlen et al., 2007). La mayoría de las especies fitopatógenas de *Fusarium* producen micotoxinas, que representan una amenaza significativa para la seguridad alimentaria humana y animal (Munkvold, 2017; Suga & Hyakumachi, 2004).

Los factores ambientales, como las altas temperaturas, intensa luminosidad, elevada humedad relativa entre 75% y 95% y alta densidad de plantas juegan un papel crucial en la incidencia y gravedad de las enfermedades (Chen et al., 2013; Paulitz & Belanger, 2001). La temperatura puede alterar los mecanismos de defensa de las plantas huésped, lo que puede aumentar su susceptibilidad a enfermedades, como se ha observado en garbanzos y lechugas, que al superar los 22 °C y 28 °C, respectivamente, pasan de ser moderadamente resistentes a susceptibles cuando se inoculan con especies de *Fusarium* específicas (Landa et al., 2006; Stuthman et al., 2007; Scott et al., 2010). Además, el pH del suelo influye en el comportamiento de *Fusarium* spp., afectando su crecimiento, la adherencia de esporas a las raíces de las plantas y la manifestación de síntomas en las plantas huéspedes en diferentes condiciones de temperatura (Chen et al., 2013; Gatch & du Toit, 2017).

El cultivo tiene mayor probabilidad de ser atacado por *Fusarium* spp. cuando se utiliza una alta cantidad de fertilizante de nitrógeno. Esto hace que las plantas retengan más agua y tengan defensas naturales menos resistentes, lo que aumenta su susceptibilidad a ser afectadas por plagas (Paulitz & Belanger, 2001).

Las especies patógenas de *Fusarium* tienen diversas estrategias reproductivas. Algunas producen esporas sexuales y tres tipos de esporas asexuales: macroconidias, microconidias y clamidosporas, aunque no todas generan ambos tipos (Hassan, 2020; Rana et al., 2017). La reproducción asexual es la principal forma de reproducción de los hongos, mientras que la reproducción sexual es la forma de reproducción menos común en las especies de *Fusarium*, se caracteriza por la producción de ascosporas contenidas en ascas dentro de un peritecio (Leslie & Summerell, 2006).

A) Taxonomía

Según Leslie & Summerell (2006), *Fusarium* presenta la taxonomía que sigue:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes.

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

B) Ciclo de vida de *Fusarium* spp.

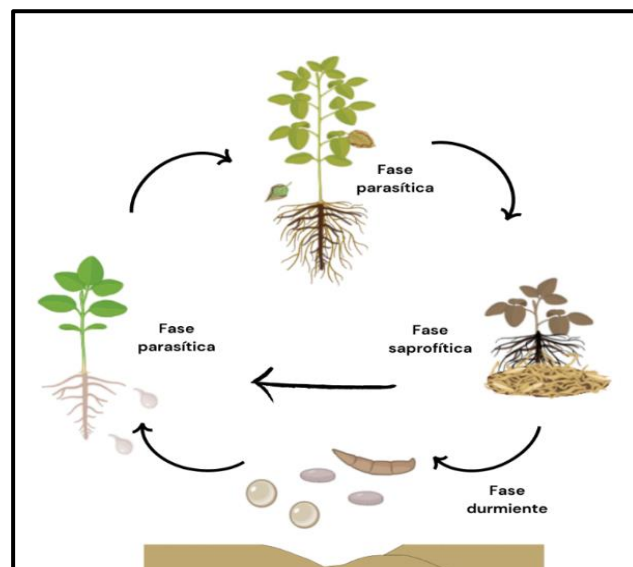
El proceso de enfermedad en las diversas especies de *Fusarium* generalmente muestra similitudes y puede dividirse en tres etapas: latente, parasitaria y saprofitica (Figura 3).

Primero, en la etapa latente, los propágulos presentes en el suelo, tales como el micelio del hongo, esporas como macroconidias o microconidias, y estructuras de resistencia denominadas clamidosporas, permanecen inactivos debido a condiciones desfavorables. No obstante, estos pueden reactivarse al entrar en contacto con los exudados de raíz liberados en la rizosfera por una planta hospedadora (Steinkellner et al., 2008). Es importante señalar que también pueden activarse a través de exudados de una planta no hospedadora los cuales sirven como fuente de carbono, nitrógeno y ácidos orgánicos, estimulando su germinación o mediante restos vegetales remanentes (Steinkellner et al., 2008; Castillo et al., 2022). En la etapa parasítica, el proceso comienza cuando el propágulo se activa y penetra los tejidos de la planta a través de alguna apertura en la epidermis, generalmente causada por la formación de nuevas raíces secundarias, lesiones por otros parásitos o por las prácticas de manejo del cultivo (Rodríguez-Molina, 2003).

Una vez dentro, el hongo prolifera y sus hifas invaden el tejido de la planta, desencadenando una variedad de síntomas. Durante la infección, se producen numerosas esporas y clamidosporas que pueden liberarse al suelo a medida que se descomponen los restos de la planta infectada, permitiendo así que el hongo pueda infectar otras plantas o permanecer latente en el suelo hasta que encuentre un nuevo hospedador. Algunas cepas de *Fusarium* pueden colonizar los tejidos de las plantas sin mostrar síntomas visibles. Estos hospederos alternativos actúan como reservorios del hongo y representan posibles fuentes de infección. En especies de *Fusarium* capaces de penetrar el xilema de la planta, la proliferación del micelio del hongo causa el colapso de estos vasos, generando una carencia de agua y nutrientes en la planta infectada (Walter et al., 2010).

Figura 3

Diagrama que ilustra el ciclo de infección de *Fusarium* spp.



2.2.4.2. *Ilyonectria*. La forma asexual del género *Ilyonectria* presenta una gran cantidad de microconidias y clamidosporas de color pardo dispuestas de manera intercalar, siendo globosas, simples o agrupadas en cadenas. Tanto los macroconidios como los microconidios son transparentes y tienen hilios visibles, cicatrices en la base donde se unen al conidióforo (Chaverri et al., 2011). Los macroconidios tienen forma cilíndrica de 1 a 3 septos, normalmente con longitudes que van de 25 a 55 μm , mientras que los microconidios varían de elipsoidales a ovoides y de aseptados a 1 septa típicamente midiendo entre 3 y 15 μm de longitud (Lombard et al., 2014a; Chaverri et al., 2011). Ambos tipos de conidios se originan en el mismo conidióforo. Estos conidióforos pueden ser simples, sin ramificaciones o escasamente ramificados en ocasiones, de forma irregular o verticilada, y raramente densamente ramificados (Chaverri et al., 2011).

2.2.4.3. *Dactylonectria*. La forma asexual del género *Dactylonectria* se distingue por su morfología que incluye conidióforos simples dispuestos individualmente o en pequeños grupos para formar esporodoquios. Estos conidióforos son septados y tienen escasa o nula ramificación, produciendo hasta tres fiálides. Estas últimas tienen forma más o menos cilíndrica, con una ligera constricción en la parte superior hacia el ápice (Lombard et al., 2014a).

Los macroconidios se caracterizan por ser rectos, aunque ocasionalmente ligeramente curvados, de forma cilíndrica y transparente, con uno y cuatro septos. La célula apical presenta un diminuto pico que a menudo se inclina levemente hacia

un lado, mientras que en la base se observa un hilio central o lateral visible. En contraste, los microconidios son elipsoides u ovoides, hialinos, rectos y generalmente sin septos o con uno, y poseen un hilio lateral. Las clamidosporas de *Dactylonectria* son globosas o subglobosas, lisas, aunque a menudo parecen rugosas debido a los depósitos, de paredes gruesas, y se encuentran principalmente en cadenas, aunque son poco frecuentes (Lombard et al., 2014a).

Las formas sexuales se presentan como peritecios superficiales de tono rojo oscuro, ya sea en forma singular o agrupados, con una estructura que varía de ovoide a obpiriforme, y una superficie que puede ser lisa o ligeramente verrugosa, destacando un ápice papilado (Lombard et al., 2014a; Lombard et al., 2015). Las ascas, con capacidad para 8 esporas, tienen una forma que va de clavada a estrechamente clavada, con un ápice redondeado que muestra un anillo minúsculo a la vista. Las ascosporas exhiben una forma elipsoide a oblongo elipsoide, con un estrechamiento hacia los extremos, tienen una cantidad moderada de septos y una textura que varía de lisa a finamente verrugosa (Lombard et al., 2014a; Lombard et al., 2015).

Inicialmente, se consideró que *Dactylonectria* spp. formaban parte de *Ilyonectria* spp., dado que ambos géneros compartían características morfológicas similares. Sin embargo, en el 2014, mediante un análisis multigenético de diferentes aislados se reveló la existencia de un nuevo grupo, *Dactylonectria*, que engloba

especies previamente clasificadas como parte de *Ilyonectria* (Lombard et al., 2014a).

No obstante, en cuanto a su morfología, *Dactylonectria* se distingue de *Ilyonectria* por tener peritecios de forma ovoide a obpiriforme, de color rojo oscuro y superficie lisa a finamente verrugosa, mientras que *Ilyonectria* presenta peritecios globosos a subglobosos, de tonos naranja a rojo, con una textura escamosa o ligeramente verrugosa (Lombard et al., 2014a). Además, ambos géneros producen abundantes macroconidios y microconidios, pero *Dactylonectria* raramente forma clamidosporas en cultivo, a diferencia de *Ilyonectria*, que las produce con frecuencia (Lombard et al., 2014a).

2.2.5. Análisis molecular

En el análisis molecular, técnicas como la extracción de ADN, PCR, electroforesis y secuenciación son fundamentales para la identificación de microorganismos. Estas han contribuido significativamente a mejorar la clasificación de hongos y el entendimiento de sus relaciones filogenéticas (Arenas, 2014).

2.2.5.1. Extracción de ADN. La extracción de ADN es un procedimiento que implica varias etapas esenciales. Comienza con la lisis celular, donde se rompe la pared celular para liberar el ADN. Luego sigue un proceso de purificación para eliminar residuos del lisado, como proteínas, lípidos y estructuras celulares.

Finalmente, el ADN se eluye, es decir, se recupera de la matriz de purificación utilizando agua o una solución tampón.

2.2.5.2. Reacción en cadena polimerasa (PCR). La PCR posibilita la amplificación de ADN mediante secuencias que delimitan la región a amplificar, permitiendo generar millones de copias de esa región específica. Cada reacción requiere la presencia de ADN molde, cebadores, nucleótidos y ADN polimerasa, la cual cataliza la síntesis de nueva cadena de ADN en dirección 5' a 3' (Serrato et al., 2014).

La PCR consta de tres fases: En la primera fase, conocida como desnaturalización, se produce la separación de las hebras de ADN mediante la ruptura de los enlaces de hidrógeno a una temperatura entre 92 a 95 °C. En la segunda fase, llamada alineamiento, se da un descenso en la temperatura entre 40 °C y 60 °C para que se alineen los cebadores a sitios específicos complementarios de las cadenas sencillas de la región que se va a amplificar. Finalmente, en la tercera fase llamada extensión, se incrementa la temperatura, por lo general a 72 °C, es la temperatura óptima para la enzima Taq polimerasa la cual es resistente a las temperaturas elevadas, ya que fue extraída de la bacteria termófila *Thermus aquaticus* (Vera, 2013). A partir de cada extremo de la hebra de ADN la Taq polimerasa incorpora los nucleótidos, sintetizando una nueva cadena en sentido 5' a 3'. Estas tres fases del ADN se repiten en cada ciclo, generando millones de copias del fragmento elegido (Serrato et al., 2014).

2.2.5.3. Electroforesis en gel agarosa. La electroforesis es una técnica que separa fragmentos de ADN y ARN según su tamaño. En un campo eléctrico, las moléculas migran hacia el ánodo, pero debido a la fricción del medio las de mayor tamaño avanzan más lentamente que las más pequeñas. Para visualizar los fragmentos de ADN, se emplea un colorante como el Gel Red. Este proceso de tinción permite determinar el contenido de ácidos nucleicos en una muestra, proporcionando una estimación de su concentración e integridad (Fierro, 2014).

2.2.5.4. Secuenciación de Sanger. La secuenciación de Sanger es una técnica específica y relativamente sencilla para determinar la secuencia de ADN. Emplean cebadores de oligonucleótidos para localizar regiones específicas del ADN. El proceso comienza con la desnaturalización de la doble hélice de ADN, seguida de la replicación por parte de la ADN polimerasa, que inicia la síntesis de una nueva cadena de ADN. Esta cadena se alarga mediante una mezcla de dideoxinucleótidos, cada uno marcado con un fluorescente. Se utiliza la electroforesis capilar, que incorpora un láser para inducir fluorescencia. Así, el equipo mide la intensidad de la fluorescencia y la interpreta como un pico (Valderrama et al., 2020).

2.2.6. Postulados de Koch

En 1882, Robert Koch introdujo una serie de postulados experimentales para comprobar si un microorganismo en particular es la causa de una enfermedad específica en un huésped. Estos postulados se describen de la siguiente manera:

1. El patógeno de la enfermedad debe encontrarse siempre en los hospederos enfermos.
2. El patógeno debe ser aislado y cultivado in vitro en condiciones asepticas, apartir del huésped enfermo.
3. El patógeno aislado debe causar la misma enfermedad cuando se inocula.
4. El patógeno debe ser reaislado de los hospederos inoculados, obteniendo un cultivo que mantenga las mismas características del aislamiento original (Madigan et al., 2010).

III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y diseño de estudio

El diseño de estudio es no experimental, porque esta investigación se realiza sin manipular deliberadamente las variables, lo cual quiere decir que consiste en observar y describir cómo se manifiesta la enfermedad en las condiciones naturales del cultivo de orégano, sin alterar esas condiciones mediante intervenciones o manipulaciones experimentales. Es de tipo transversal porque se recolectaron muestras de orégano en un solo momento, en un tiempo único (Hernández-Sampieri & Mendoza, 2018).

3.2. Material biológico

En un campo de cultivo del distrito Alto Camilaca, provincia de Candarave (Figura 4), durante el mes de mayo del 2023, se colectaron plantas de orégano que presentaron síntomas a nivel aéreo como amarillamiento de ramas basales, necrosis apical y marginal, defoliación, abarquillamiento, marchitez de ramas y muerte ascendente (Figura 5). A nivel radicular, se observó necrosis negra de la raíz principal, secundaria y corona, pero en las raicillas mostraron necrosis marrón oscuro, descortezamiento y decoloración vascular de la corona (Figura 6).

Figura 4

Cultivo de orégano en el distrito de Alto Camilaca, Candarave

**Figura 5**

Síntomas a nivel foliar del cultivo de orégano, Alto Camilaca, Candarave



Nota. A) y B) Amarillamiento ascendente y marchitez, A) Muerte de ramas.

Figura 6

Síntomas a nivel radicular del cultivo de orégano, Alto Camilaca, Candarave

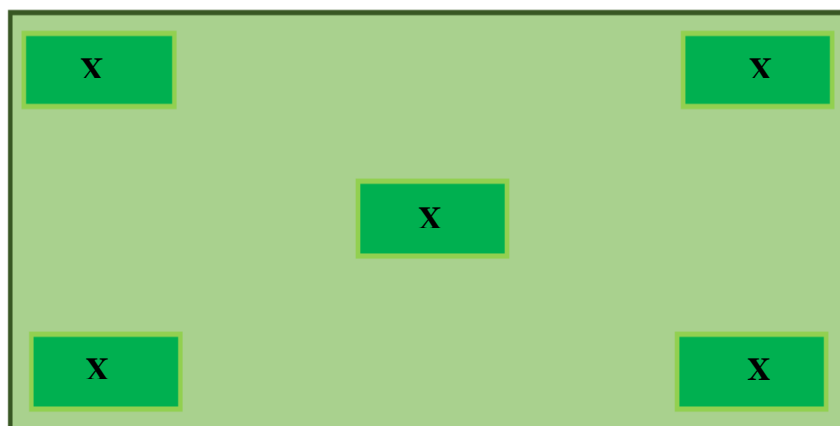


Nota. A) Corona con necrosis, B) Decoloración vascular de la corona, C) y D) Raíz principal y secundaria con ennegrecimiento.

Se hicieron cinco colectas, utilizando el método de muestreo cinco de oros descrito por Sulca (2023) (Figura 7). Por cada punto de muestreo se colectó una planta de orégano. Las coordenadas geográficas del lugar son: 17° 14' 34,8" S de latitud y 70° 23' 16,1" W de longitud, con una altitud de 3 851 m s. n. m.

Figura 7

Esquema de muestreo en cinco de oros



Nota. Tomado de Sulca (2023).

3.3. Aislamiento de los hongos asociados a pudrición de la corona y raíz del orégano

El aislamiento se realizó mediante el método para inducir esporulación y el método de aislamiento directo según lo establecido por French & Hebert (1980). Las muestras de raíces con síntomas característicos de la enfermedad fueron lavadas con agua corriente y se cortaron segmentos de 4 cm de la zona de avance de la enfermedad. Luego se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 2 minutos, seguido de tres enjuagues con agua destilada estéril y finalmente se secaron sobre papel toalla estéril. Algunos segmentos se colocaron en cámara húmeda a 25 °C para inducir esporulación; las esporas obtenidas se sembraron en el centro de placas de Agar Papa Dextrosa (PDA). Por otro lado, se cortaron pequeños segmentos de 1 cm de la zona de avance de la

enfermedad del resto de segmentos desinfectados, los cuales se distribuyeron en cuatro puntos equidistantes sobre el PDA e incubaron a 25 ± 1 °C hasta su desarrollo.

3.4. Purificación de los hongos asociados a pudrición de la corona y raíz del orégano

La purificación de los hongos aislados se realizó utilizando el método de cultivo monospórico descrito por French & Hebert (1980), que consistió en sembrar una suspensión de esporas mediante la técnica de diseminación en superficie sobre el medio de cultivo Agar Agua (AA) al 2% e incubar a 25 °C durante 24 horas. Posteriormente, con la ayuda de un microscopio se cortó un bloque de agar que contenía una sola espora y se transfirió al centro del medio del cultivo PDA para finalmente incubar a 25 °C por 14 días para su posterior caracterización.

3.5. Caracterización morfológica e identificación de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano

La caracterización morfológica macroscópica de los aislados fúngicos en Agar Papa Dextrosa (PDA) fueron descritas después de 14 días de incubación a 25 °C, evaluando la forma de la colonia, elevación, borde, superficie, aspecto, color en el anverso como el reverso y tamaño (Watanabe,2010). Para la inducción de macroconidias y microconidias se sembró en Agar Hoja de Clavel (CLA) y PDA. También, para la inducción de microconidias en Agar Sintético Bajo en Nutrientes (SNA) como clamidosporas.

La caracterización morfológica microscópica se realizó mediante la observación microscópica de montajes de los aislados en CLA, PDA y SNA, utilizando el líquido de montaje azul de lactofenol. Se describieron las estructuras fúngicas tales como macroconidias, microconidias y clamidosporas. Se realizaron 30 mediciones de cada estructura utilizando un microscopio Nikon Eclipse Si Trinocular.

La identificación morfológica se realizó siguiendo las claves taxonómicas descritas por Leslie & Summerell (2006), Lombard et al. (2015), Cabral et al. (2012b) y Torbati et al. (2018).

3.6. Identificación molecular de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano

La identificación por métodos moleculares se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular de Plantas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Tarapacá y en el laboratorio de Biotecnología Microbiana de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

3.6.1. Extracción de ADN

El ADN genómico del hongo se extrajo utilizando el kit Nucleo Spin Microbial DNA, siguiendo las instrucciones del fabricante. Para ello, se empleó aproximadamente 40 mg de micelio aéreo de cultivos de 15 días en PDA. Las muestras fueron trituradas en nitrógeno líquido, hasta obtener un polvo fino. Posteriormente, se añadieron 100 μ L tampón de elución (BE) y resuspendieron. La

suspensión celular se transfirió a un tubo de perlas. Se agregaron 40 μ L de Buffer MG y 10 μ L de Proteinasa K y se homogenizó en el vortex. Después, se añadieron 600 μ L de Buffer MG, se mezcló brevemente en el vortex por 5 s y se procedió a centrifugar a 11 000 g por 30 segundos. El sobrenadante se transfirió a una columna de Núcleo Spin Microbial colocada en un tubo de recolección de 2 mL y se centrifugó a 11 000 g por 30 segundos.

Después, se desechó el tubo de recolección con flujo continuo y se colocó la columna en un nuevo tubo de recolección. La columna se lavó dos veces con Buffer BW y Buffer B5, usando 500 μ L cada vez y centrifugando a 11 000 g durante 30 s. Se descartó el flujo residual después de cada lavado y se volvió a colocar la columna en el tubo de recolección. Posteriormente, se secó la membrana centrifugando a 11 000 g durante 30 segundos.

Finalmente, se colocó la columna en un tubo libre de nucleasas de 1,5 mL añadiendo 100 μ L de buffer BE, y se incubó a temperatura ambiente durante 1 min y se centrifugó a 30 s por 11 000 g. La integridad del ADN extraído, se verificó por electroforesis en gel de agarosa al 1,5%.

3.6.2. Amplificación por PCR

Después de la extracción del ADN genómico de los aislados, se procedió a realizar la amplificación utilizando los genes TEF, TUB, HIST, ITS y LSU mediante la técnica de PCR (Tabla 1).

Se preparó una solución final de 25 μL que contenía 12,5 μL de Master Mix (GoTaq®), 1 μL del cebador forward (10 pmol/ μL), 1 μL (10 pmol/ μL) del cebador reverse, 8,5 μL de agua libre de nucleasas y 2 μL de la muestra de ADN. Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador con condiciones específicas para cada locus detalladas en las Tablas 2 a 6.

Tabla 1

Primers utilizados en la amplificación de PCR

Gen/Loci	Primers	Secuencias	Referencias
Factor de elongación de la traducción 1-α	EF1-728F	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG	(Carbone & Kohn, 1999)
	EF2	GGARGTACCAGTSATCATG	(O'Donnell et al., 1998)
Gen beta-tubulina (TUB2)	T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	(O'Donnell et al., 1997)
	CYLTUB1R	AGTTGTCGGGACGGAAGAG	(Crous et al., 2004)

Tabla 1. *Primers utilizados en la amplificación de PCR (Continuación)*

Gen/Loci	Primers	Secuencias	Referencias
Gen histona	CYLH3F	AGGTCCACTGGTGGCAAG	(Crous et al., 2004)
	CYLH3R	AGCTGGATGTCCTTGGACTG	(Crous et al., 2004)
28S	NL1	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG	(O'Donnell, 1993)
	NL4	GGTCCGTGTTTCAAGACG	(O'Donnell, 1993)
ITS	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	(White et al., 1990)
	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	(White et al., 1990)

Nota. Se describen las secuencias de los primers por cada locus.

Tabla 2*Condiciones de PCR para el gen factor de elongación de la traducción*

Procedimiento	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95	2 min	1
Desnaturalización	95	30 s	40
Alineación	53	45 s	
Extensión	72	1 min	
Extensión final	72	5 min	1

Tabla 3*Condiciones de PCR para el gen tubulina*

Procedimiento	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95	2 min	1
Desnaturalización	95	30 s	40
Alineación	52	45 s	
Extensión	72	1 min	
Extensión final	72	5 min	1

Tabla 4*Condiciones de PCR para el gen histona*

Procedimiento	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95	2 min	1
Desnaturalización	95	30 s	35
Alineación	61	30 s	
Extensión	72	1 min	
Extensión final	72	5 min	1

Tabla 5*Condiciones de PCR para 28S*

Procedimiento	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95	2 min	1
Desnaturalización	95	30 s	35
Alineación	53	30 s	
Extensión	72	1 min	
Extensión final	72	5 min	1

Tabla 6*Condiciones de PCR para ITS4 y ITS5*

Procedimiento	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95	2 min	1
Desnaturalización	95	30 s	35
Alineación	53	30 s	
Extensión	72	1 min	
Extensión final	72	5 min	1

3.6.3. Electroforesis en gel de agarosa

Una vez que se preparó la agarosa al 1,5%, se mezcló con 4 μ L de SYBR Safe DNA gel stain. Esta mezcla se vertió en la cámara de electroforesis junto con el peine para crear los pozos de muestra. Después de que el gel se solidifica, se retira el peine y se cubre con buffer TBE 0,5X. Se cargaron 3 μ L del marcador de peso molecular de 1000 pb y de cada producto PCR en los pozos correspondientes. Luego se conectó la cámara de electroforesis a una fuente de poder, aplicando 90 V durante 30 minutos. Finalmente, se visualizaron los geles bajo luz UV en el transiluminador para verificar la calidad de los productos PCR, y luego se almacenaron a 4 °C.

3.6.4. Secuenciación

Después de confirmar los resultados de la amplificación por PCR mediante electroforesis, las muestras amplificadas para ITS, LSU, EF1- α , TUB y HIST se mandaron a secuenciar en ambas direcciones por la secuenciación Sanger en el laboratorio de Psomagen, EE.UU.

3.6.5. Análisis filogenético

Los resultados de la secuenciación se procesaron con el software Sequencher 5.0.1 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA) para ensamblar secuencias y visualización de los cromatogramas, para corroborar la calidad de las lecturas. Se obtuvieron secuencias consenso para cada locus de aproximadamente 500 a 600 pares de bases y se obtuvieron 381 secuencias del GenBank (90 de ITS, 65 de LSU, 56 de TUB, 110 de TEF y 60 de HIST) con un total de 110 taxones descritos en las Tablas de 9 a 12. Las secuencias obtenidas en este estudio y las obtenidas a través del GenBank fueron alineadas por cada locus utilizando el servidor web MAFFT v.7 (Kato et al., 2019). Las alineaciones fueron revisadas y corregidas manualmente según fue necesario, utilizando Mesquite v3.40 (Maddison & Maddison, 2018). Para cada una de las matrices de los cinco fragmentos (ITS, 28S, TEF, TUB e HIST) se calcularon los modelos de sustitución en jModelTest (2.1.6) (Darriba et al., 2012) para las regiones no codificantes (ITS y 28S), y se seleccionaron los modelos óptimos según el criterio de información de Akaike (AIC) e W-IQ-TREE (Trifinopoulos et al., 2016) para cada codón de los genes

codificantes (TEF, TUB e HIST). Finalmente se obtuvo una matriz concatenada de los marcadores en Mesquite v3.40 (Maddison & Maddison, 2018).

Los árboles filogenéticos se construyeron con la matriz concatenada a través del portal de CIPRESS (Miller et al., 2010) utilizando dos métodos probabilísticos: Máxima Verosimilitud (ML) e Inferencia Bayesiana (IB). Para el análisis de ML se utilizó el programa RaxMLv8.2 (Stamatakis, 2014) con 1 000 réplicas, bootstrap. Para el análisis de IB se usó el programa MrBayes (3.2.7) (Ronquist et al., 2012), donde se realizaron dos corridas independientes de 20 000 000 de generaciones con cuatro cadenas. Los árboles se muestrearon cada 1 000 generaciones y se descartaron los árboles iniciales aplicando un valor de burning de 5 000 generaciones. Los árboles restantes fueron usados para generar un árbol de consenso de mayoría. Se verificó la convergencia de la ejecución utilizando el programa Tracer v1.7.2 (Rambaut et al., 2018). La inspección del árbol final se llevó a cabo mediante FigTree v1.4.4 (Rambaut, 2018).

3.7. Prueba de patogenicidad de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en condiciones de invernadero utilizando plántulas de orégano de cuatro meses de edad de la variedad nigra mejorada dispuestas en bolsas almacigueras de 1 kg, que fueron cultivadas a partir de esquejes de 10 cm. Estos esquejes se obtuvieron de plantas sanas originarias de Tarata.

Primeramente, los hongos aislados se multiplicaron en placas petri con PDA y se incubaron 25 °C durante 15 días. Para preparar el inóculo, se agregó agua estéril al cultivo y se raspó suavemente el micelio con un bisturí estéril. Luego, las suspensiones resultantes se filtraron con gasa estéril para obtener una suspensión homogénea. Se contaron los conidios de cada suspensión utilizando una cámara de Neubauer y, con estos datos, se ajustó la concentración a 1×10^6 conidios/mL, utilizando la fórmula de concentración $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

La inoculación se realizó utilizando el método descrito por Gaetán et al. (2007b) con ciertas modificaciones, con tres repeticiones por cada aislamiento y control. Inicialmente las plantas fueron desprovistas de todo el sustrato que contenía las raíces y luego sumergidas en una suspensión 1×10^6 de conidios/mL durante 30 minutos. Después fueron trasplantadas a bolsas almacigueras de 1 kg que contenían una mezcla estéril de tierra y arena (2:1) como sustrato. El control fue inoculado con agua destilada estéril (Figura 8). Se evaluó diariamente los síntomas y el riego de acuerdo a la necesidad. Finalmente se realizaron nuevos aislamientos de la raíz y corona en el medio de cultivo PDA.

Figura 8

Prueba de patogenicidad de los aislados del cultivo de orégano, Alto Camilaca, Candarave



Nota. A) Separación del sustrato de la raíz del orégano, B) Inoculación de plantas por inmersión en una suspensión, C) Planta control inoculada con agua estéril y D) Plantas de orégano inoculadas en el invernadero.

3.7.1. Evaluación de la prueba de patogenicidad

A. Incidencia

Se consideró que una planta estaba enferma si se observaban síntomas en cualquier órgano de la planta inoculada y con las evaluaciones registradas, se calculó la incidencia utilizando la fórmula matemática recomendada por la Sociedad Inglesa de Micología:

$$\text{Incidencia(I)\%} = \frac{\text{Número de plantas afectadas}}{\text{Número total de plantas}} \times 100$$

B. Severidad

Se desarrollaron escalas de evaluación específicas de acuerdo a los síntomas en campo (Tabla 7 y Tabla 8).

Tabla 7*Escala de severidad para Dactylonectria torresensis y Fusarium oxysporum*

Grado	Porcentaje (%)	Descripción del daño
0	0	Planta aparentemente sana
1	1 - 20	Algunas raíces secundarias con necrosis de color marrón oscuro y lesiones pequeñas en la raíz principal, sin repercusión en la parte aérea
2	21-40	Algunas hojas basales con amarillamiento, abarquillamiento, epinastia, defoliación leve. Necrosis de la raíz principal y algunas raíces secundarias de color marrón oscuro, raicillas necrosadas de color marrón. Corona con necrosis marrón y decoloración vascular leve.
3	41-60	Algunas ramas basales con amarillamiento, abarquillamiento de varias ramas, marchitez, epinastia, necrosis de hojas y defoliación leve. Necrosis de color negro de la raíz principal, corona y algunas raíces secundarias, descortezamiento de la raíz secundaria, necrosis de raicillas de color marrón oscuro; además decoloración vascular en la corona.
4	61-80	Amarillamiento foliar de toda la parte aérea y defoliación de ramas basales. Raíz principal y varias raíces secundarias con necrosis de color negro. Corona con decoloración vascular y necrosis negra.
5	81-100	Planta muerta.

Tabla 8*Escala de severidad para Fusarium iranicum y Fusarium redolens*

Grado	Porcentaje de infección (%)	Descripción del daño
0	0	Planta aparentemente sana
1	1 - 20	Lesiones pequeñas en la raíz principal, sin repercusión en la parte aérea
2	21-40	Algunas raíces secundarias con necrosis de color marrón y decoloración leve en la corona, con marchitez leve
3	41-60	Algunas hojas basales con amarillamiento, abarquillamiento y marchitez leve, epinastia, defoliación leve y muerte de las ramas centrales. Necrosis de la raíz principal, algunas raíces secundarias y raicillas con necrosis de color marrón oscuro. Corona con necrosis marrón oscuro y decoloración vascular leve.
4	61-80	Amarillamiento foliar de toda la parte aérea y defoliación de ramas basales y varias ramas muertas. Raíz principal y varias raíces secundarias con necrosis de color marrón oscuro. Corona con necrosis y decoloración vascular severa.
5	81-100	Planta muerta.

Tabla 9*Especies de Dactylonectria e Ilyonectria utilizados en el análisis filogenético*

Especies	Aislados	GenBank Accesion N°				
		ITS	LSU	TUB2	TEF	HIS
<i>Campylocarpon fasciculare</i>	CBS 112613	AY677301	HM364313	AY677221	JF735691	JF735502
<i>Campylocarpon pseudofasciculare</i>	CBS 112679	AY677306		KJ022328	JF735692	JF735503
<i>Dactylonectria estremocensis</i>	CBS 129085	MH865182	KM231630	JF735448	JF735806	JF735617
<i>Dactylonectria estremocensis</i>	Cy135				JF735804	JF735615
<i>Dactylonectria estremocensis</i>	Cy243	JF735329		JF735457	JF735815	JF735626
<i>Dactylonectria macrodidyma</i>	CBS 112601	AY677284	KM515899	AY677229	JF735833	JF735644
<i>Dactylonectria novozelandica</i>	CBS 112608, ES 17, ZB3310041	OQ119078	KM515901	OR258684	OR258682	OR258686
<i>Dactylonectria novozelandica</i>	Cy115, WAM158, JZB3310040	OQ119077	MH571719	JF735460	JF735823	JF735634
<i>Dactylonectria novozelandica</i>	KARE192, WAM186, JZB3310039	OQ119076	MH571722	MK409874	MK409951	MK409909
<i>Dactylonectria novozelandica</i>	KARE474, WAM180, JZB3310038	OQ119075	MH571721	MK409875	MK409952	MK409910

Tabla 9. Especies de *Dactylonectria* e *Ilyonectria* utilizados en el análisis filogenético (Continuación)

Especies	Aislados	GenBank Accesion N°				
		ITS	LSU	TUB2	TEF	HIS
<i>Dactylonectria torresensis</i>	CBS 129086	JF735362	KM231631	JF735492	JF735870	JF735681
<i>Dactylonectria torresensis</i>	CBS 113555	JF735350	NG_069231	JF735483	JF735850	JF735661
<i>Dactylonectria torresensis</i>	KARE1173, N37IL	MK400298	KP411808	MK409865	MK409942	MK409900
<i>Dactylonectria hordeicola</i>	3S7, EFA 443	MF350482	MF467250	MF350428	MF350509	MF350455
<i>Dactylonectria pauciseptata</i>	CBS 120171	EF607089	KM515903	EF607066	JF735776	JF735587
<i>Dactylonectria pinicola</i>	CBS 173.37	JF735319	KM515905	JF735447	JF735803	JF735614
<i>Dactylonectria vitis</i>	CBS 129082	MH865179	KM515907	JF735431	JF735769	JF735580
<i>Dactylonectria anthuriicola</i>	CBS 564.95	NR_121494	KM515897	JF735430	JF735768	JF735579
<i>Dactylonectria ecuadoriensis</i>	MUCL55425	MF683705	MF683725	MF683642	MF683663	MF683684
<i>Dactylonectria ecuadoriensis</i>	MUCL55205	MF683700	MF683720	MF683637	MF683658	MF683679
<i>Dactylonectria hispanica</i>	Cy-FO-45	KY676882		KY676876	KY676870	KY676864
<i>Dactylonectria valentina</i>	Cy-FO-133	KY676881		KY676875	KY676869	KY676863
<i>Dactylonectria valentina</i>	KARE2112	MK400314		MK409881	MK409958	MK409916
<i>Dactylonectria palmicola</i>	MUCL55426	MF683708	MF683728	MF683645	MF683666	MF683687
<i>Dactylonectria amazonica</i>	MUCL55430	MF683706	MF683726	MF683643	MF683664	MF683685

Tabla 9. Especies de *Dactylonectria* e *Ilyonectria* utilizados en el análisis filogenético (Continuación)

Especies	Aislados	GenBank Accesion N°				
		ITS	LSU	TUB2	TEF	HIS
<i>Dactylonectria polyphaga</i>	MUCL55209	MF683689	MF683710	MF683626	MF683647	MF683668
<i>Dactylonectria polyphaga</i>	MUCL55428	MF683692	MF683713	MF683629	MF683650	MF683671
<i>Ilyonectria capensis</i>	CBS 132816	JX231160	KM515909	JX231112	JX231128	JX231144
<i>Ilyonectria communis</i>	1512	MF350456		MF350402	MF350483	MF350429
<i>Ilyonectria communis</i>	J410	MF350457		MF350403	MF350484	MF350430
<i>Ilyonectria crassa</i>	CBS 139.30, CBS 129083, NW- FVA1829	ON853909	KM515912	JF735393	JF735723	JF735534
<i>Ilyonectria crassa</i>	CBS 158.31	JF735276	KM515911	JF735394	JF735724	JF735535
<i>Ilyonectria destructans</i>	CBS 264.65	AY677273	KM515927	AY677256	JF735695	JF735506
<i>Ilyonectria europaea</i>	CBS 129078, CBS 537.92	MH865175	KM515914	JF735421	JF735756	JF735567
<i>Ilyonectria europaea</i>	CBS 102892	JF735295		JF735422	JF735758	JF735569
<i>Ilyonectria leucospermi</i>	CBS 132809	JX231161	KM515917	JX231113	JX231129	JX231145

Tabla 9. Especies de *Dactylonectria* e *Ilyonectria* utilizados en el análisis filogenético (Continuación)

Especies	Aislados	GenBank Accesion N°				
		ITS	LSU	TUB2	TEF	HIS
<i>Ilyonectria leucospermi</i>	CBS 132810	JX231162	KM515918	JX231114	JX231130	JX231146
<i>Ilyonectria liliigena</i>	CBS 189.49	PP527753	KM515919	JF735425	JF735762	JF735573
<i>Ilyonectria liliigena</i>	CBS 732.74	JF735298	KM515920	JF735426	JF735763	JF735574
<i>Ilyonectria liriiodendri</i>	CBS 110.81	MH861308	KM515921	DQ178170	JF735696	JF735507
<i>Ilyonectria liriiodendri</i>	CBS 117526	DQ178164		DQ178171	JF735697	JF735508
<i>Ilyonectria palmarum</i>	DiGeSA-HF7	HF937432		HF922609	HF922615	HF922621
<i>Ilyonectria palmarum</i>	DiGeSA-HF3	HF937431		HF922608	HF922614	HF922620
<i>Ilyonectria protearum</i>	CBS 132811	JX231157	MH878255	JX231109	JX231125	JX231141
<i>Ilyonectria protearum</i>	CBS 132812	JX231165		JX231117	JX231133	JX231149
<i>Ilyonectria pseudodestructans</i>	CBS 129081	MH865178	KM515926	MN101796	MN101818	MN105733
<i>Ilyonectria pseudodestructans</i>	ZP2	MT678561		MT810734	MT800962	MT800945
<i>Ilyonectria pseudodestructans</i>	CBS 129081	MH865178	KM515926		JF735752	JF735563
<i>Ilyonectria qitaiheensis</i>	H309	MF350472		MF350418	MF350499	MF350445

Tabla 9. Especies de *Dactylonectria* e *Ilyonectria* utilizados en el análisis filogenético (Continuación)

Especies	Aislados	GenBank Accesion N°				
		ITS	LSU	TUB2	TEF	HIS
<i>Ilyonectria qitaiheensis</i>	R3-2	MT678569		MT810742	MT800970	MT800953
<i>Ilyonectria robusta</i>	CBS 117818	JF735267		JF735382	JF735712	JF735523
<i>Ilyonectria robusta</i>	CBS 129084	JF735273	MH876619	JF735391	JF735721	JF735532
<i>Ilyonectria rufa</i>	CBS 640.77	JF735277	KM515930	JF735399	JF735731	JF735542
<i>Ilyonectria rufa</i>	CBS 153.37	MH855863			JF735729	JF735540
<i>Ilyonectria strelitziae</i>	ST6	KY304649	KY304674	KY304755	KY304727	KY304621
<i>Ilyonectria strelitziae</i>	ST28	KY304671	KY304675		KY304728	KY304643
<i>Ilyonectria vredenhoekensis</i>	CBS 132807	JX231155	NG_070048	JX231107	JX231123	JX231139
<i>Ilyonectria vredenhoekensis</i>	CBS 132808	JX231159	MH878253	JX231111	JX231127	JX231143
<i>Ilyonectria zarorii</i>	CPC 37835	MW114893	NG_079556	MW119263	MW119261	MW119259
<i>Ilyonectria zarorii</i>	CPC 37837	MW114894		MW119264	MW119262	MW119260

Tabla 10*Especies del complejo de Fusarium tricinctum utilizados en el análisis filogenético*

Especies	Aislados	GenBank Accession N°		
		ITS	LSU	TEF
<i>Fusarium torulosum</i>	23KaPT8_1, DI01	PP087417	KC292842	PP094241
<i>Fusarium torulosum</i>	23KaPT7_1	PP087416		PP094243
<i>Fusarium acuminatum</i>	NL19-077002	MZ890557	MZ890413	MZ921910
<i>Fusarium acuminatum</i>	NL19-048014	MZ890556	MZ890412	MZ921909
<i>Fusarium alpinum</i>	LC6037	MW016687		MW620148
<i>Fusarium avenaceum</i>	GUCC 191095	MZ724838	OR039362	OR043880
<i>Fusarium avenaceum</i>	LC7584, SICAUCC 18-0001	MW016674	MK392034	MW620135
<i>Fusarium flocciferum</i>	NL19-97008	MZ890564	MZ890422	MZ921917
<i>Fusarium flocciferum</i>	NL19-048013	MZ890563	MZ890421	MZ921916
<i>Fusarium gamsii</i>	OrSaAg4	LT970824	LT970824	LT970788
<i>Fusarium gamsii</i>	OrSaAg3	LT970823	LT970823	LT970787
<i>Fusarium iranicum</i>	OrSaAg2	LT970821	LT970821	LT970785

Tabla 10. Especies del complejo de *Fusarium tricinctum* utilizados en el análisis filogenético (Continuación)

Especies	Aislados	GenBank Accession N°		
		ITS	LSU	TEF
<i>Fusarium iranicum</i>	OrSaAg5	LT970822	LT970822	LT970786
<i>Fusarium tricinctum</i>	LC13818, F749	MW016692	KM249103	MW620153
<i>Fusarium tricinctum</i>	LC0453, F748	MW016690	KM249102	MW620151
<i>Fusarium tricinctum</i>	LC0459, F747	MW016691	KM249101	MW620152
<i>Fusarium petersiae</i>	CBS 143231	MG386078	MG386131	MG386159
<i>Fusarium petersiae</i>	JW14005	MG386079	MG386132	MG386160
<i>Fusarium redolens</i>	NRRL 25123	MW397140		JF740748
<i>Fusarium redolens</i>	SMCD 2402	MW397142		JF272612
<i>Fusarium hostae</i>	NRRL 29888	NR_171109		MT409455
<i>Fusarium hostae</i>	DAOMC235655	KR909426		KR909346

Tabla 11*Especies del complejo de Fusarium redolens y otros utilizados en el análisis filogenético*

Especies	Aislados	GenBank Accesion N°		
		ITS	LSU	TEF
<i>Fusarium redolens</i>	MIAE00129	HM584896	HQ147594	HM584900
<i>Fusarium redolens</i>	MIAE00131	HM584897	U88113	HM584901
<i>Fusarium hostae</i>	NRRL 29888	NR_171109		MT409455
<i>Fusarium hostae</i>	DAOMC235655	KR909426		KR909346
<i>Fusarium hostae</i>	O-2095			AF331822
<i>Fusarium graminearum</i>	HGO6-1	ON416876	AB084297	ON398958
<i>Fusarium graminearum</i>	HGO8-4	ON416875		ON398957
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	CBS 131261	MH865930	MH877363	JQ429338
<i>Fusarium fujikuroi</i>	LC7147	MW016452	AB084300	MW580492
<i>Fusarium fujikuroi</i>	LC6973, NRRL 13620	MW016451	NG_060442	MW580491
<i>Fusarium oxysporum</i>	QX-3, KUSF1404	ON398072	MF136406	OQ148161
<i>Fusarium oxysporum</i>	JX2-10, KUSF501	ON351026	MF136403	OQ130017

Tabla 12

Especies del complejo de Fusarium oxysporum y otros utilizados en el análisis filogenético

Especies	Aislados	GenBank Accesion N°
		TEF
<i>Fusarium oxysporum</i>	MW316853	NIBIO 231724
<i>Fusarium oxysporum</i>	MW316854	NIBIO 231725
<i>Fusarium pharetrum</i>	MH485042	CPC 30822
<i>Fusarium pharetrum</i>	MH485043	CPC 30824
<i>Fusarium veterinarium</i>	OP487249	LLC3932
<i>Fusarium cugenangense</i>	ON032413	NFCCI:2872
<i>Fusarium cugenangense</i>	MW594323	LC13738
<i>Fusarium cugenangense</i>	MH485012	CBS 130304
<i>Fusarium cugenangense</i>	MH484970	CBS 620.72
<i>Fusarium glycines</i>	ON032459	NFCCI:1788
<i>Fusarium glycines</i>	MH484979	CBS 200.89
<i>Fusarium glycines</i>	MH484959	CBS 176.33
<i>Fusarium duoseptatum</i>	MW594327	LC13741
<i>Fusarium duoseptatum</i>	MW594326	LC13740
<i>Fusarium fabacearum</i>	ON032385	NFCCI:3239
<i>Fusarium fabacearum</i>	ON032439	NFCCI:5200
<i>Fusarium vanleeuwenii</i>	MZ921891	JW 10002
<i>Fusarium vanleeuwenii</i>	MZ921890	JW 10001
<i>Fusarium redolens</i>	JF740748	NRRL 25123
<i>Fusarium redolens</i>	JF272612	SMCD 2402
<i>Fusarium hostae</i>	MT409455	NRRL 29888
<i>Fusarium hostae</i>	KR909346	DAOMC235655

IV. RESULTADOS

4.1. Aislamiento de los hongos asociados a la pudrición de la corona y raíz del orégano

Como resultado de las cinco colectas con síntomas característicos de la enfermedad se obtuvieron cuatro aislamientos con mayor frecuencia a nivel de corona, codificados como LUAD0314, LUAD0315, LUAD0316 y LUAD0317 y a nivel de raíz, los más frecuentes fueron identificados como LUAD0312, LUAD0313, FARU0310 y FARU0311.

4.2. Caracterización morfológica de los aislados asociados a la pudrición de la corona y raíz del orégano

4.2.1. FARU03-10, FARU03-11

Las colonias de los 2 aislados, después de 14 días de crecimiento en Agar Papa Dextrosa (PDA), tuvieron un diámetro de 5,6 cm para FARU03-10 y 5,1 cm para FARU03-11 (Figura 9A y 9C). El centro de la colonia en PDA exhibió un color que variaba desde ocre hasta ocre oscuro, con hifas aéreas abundantes de tono crema a coral, de forma circular, borde irregular, aspecto algodonoso, elevada y limitada. En el reverso de la colonia predominó un color marrón oscuro.

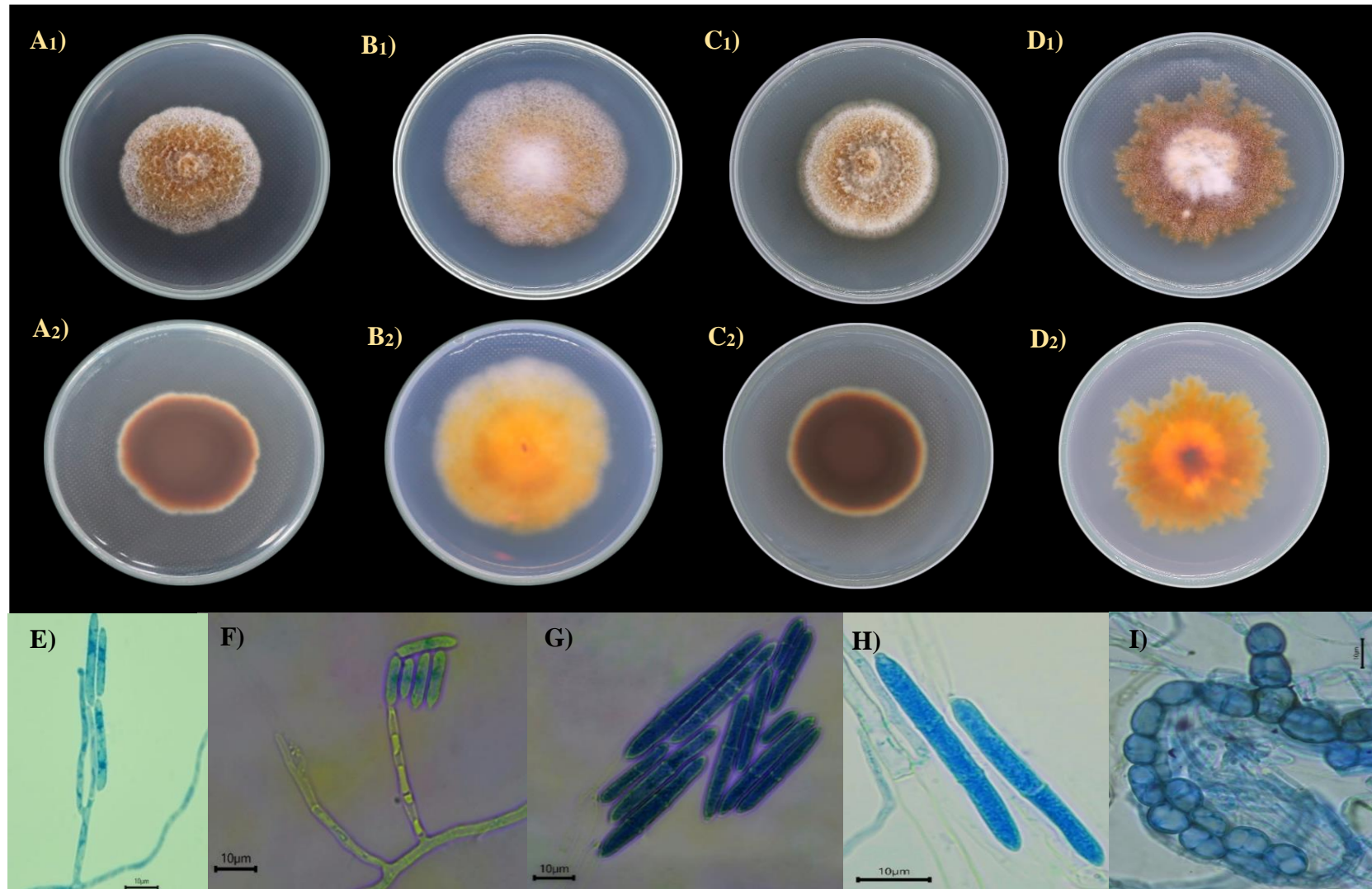
Microscópicamente presentaron conidióforos septados, simples y ocasionalmente ramificados. Sus fiálides eran cilíndricas con una parte superior

estrechada (Figura 9E y F). Las macroconidias fueron hialinas, rectas, cilíndricas y ligeramente curvadas con la célula apical con apariencia picuda. Presentaron de 1 a 3 septos, pero se observaron con mayor frecuencia de 3 septos con un tamaño de $34,2-47,2 \times 4,9-5,6 \mu\text{m}$ (media \pm DE = $42,8 \pm 3,7 \times 5,1 \pm 0,32 \mu\text{m}$; Figura 9G y H).

Los microconidios fueron de forma elíptica, aseptados y con un septo, con dimensiones que oscilan entre $9,1$ y $14,3 \times 3,2$ y $4,3 \mu\text{m}$ (media \pm DE = $11,8 \pm 1,4 \times 3,5 \pm 0,4 \mu\text{m}$; Figura 9G). En el medio SNA, se observaron clamidosporas globosas, con una pared ligeramente gruesa y lisa, pero a menudo parecen rugosas. Estas se presentaron principalmente en cadenas y tienen un tamaño que varía entre $8,1$ y $14,5 \mu\text{m} \times 8,3$ a $13,6 \mu\text{m}$ (media \pm DE = $11,5 \pm 2,07 \mu\text{m} \times 11,4 \pm 1,4 \mu\text{m}$; Figura 9I).

Figura 9

Características macroscópicas y microscópicas de los aislados de FARU03-10 y FARU03-11



Nota. A) y B) Aislado FARU03-11 en medio PDA y SNA, C) y D) Aislado FARU03-10 en medio PDA y SNA, E) Conidióforo ramificado con conidios a 100X, F) Conidióforo simple y septado con conidios a 40X, G y H) Macroconidios de 1 a 3 septos a 40X y 100X, y microconidios a 40X, I) Clamidosporas dispuestas en cadenas a 40X.

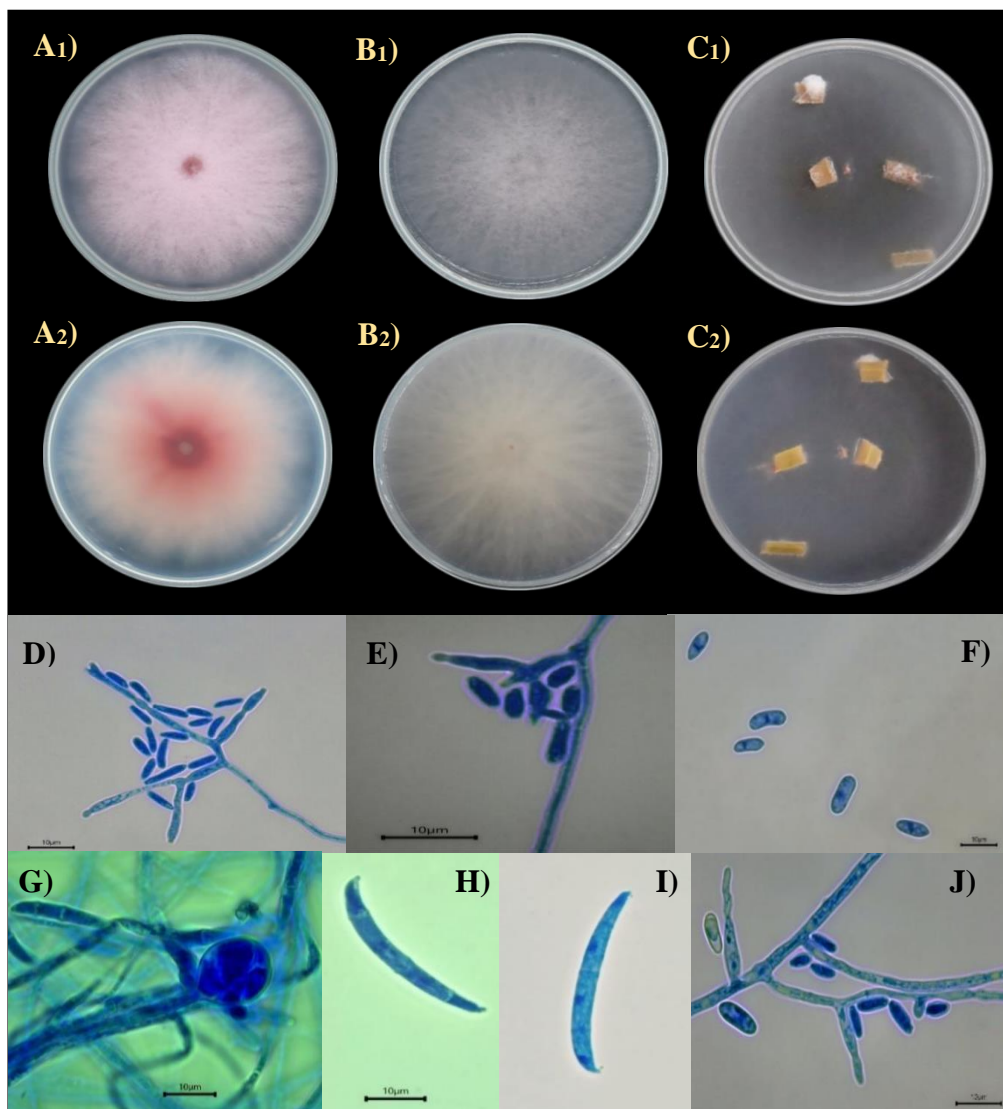
4.2.2. LUAD03-16

El cultivo en medio PDA alcanzó un diámetro de 90 mm a los 10 días a 25 °C. La superficie de la colonia inicialmente fue blanca, pero posteriormente desarrolló un pigmento difusible a rosado claro, exhibió una forma circular, borde irregular, aspecto algodonoso, aunque no muy prominente y una textura opaca. En el reverso de la colonia, se observó una variación de color que iba desde el rosado hasta el coral oscuro (Figura 10A).

Las características microscópicas de los macroconidios presentaron una célula apical en forma de gancho y una célula basal en forma de pie. Presentaron mayormente 3 septos y tienen un tamaño de $22,5\text{--}42,2\ \mu\text{m} \times 3,8\text{--}4,4\ \mu\text{m}$ (media \pm desviación estándar = $33,5 \pm 4,8\ \mu\text{m} \times 3,9 \pm 0,4\ \mu\text{m}$; Figuras 10H y 10I). Los microconidios fueron ovalados a cilíndricos, pero a menudo puntiagudos en un extremo y se encontraron en monofialides simples y ramificadas (Figura 10D y 10E) con dimensiones de $5,1\ \text{a}\ 10,2\ \mu\text{m} \times 2,1\ \text{a}\ 3,4\ \mu\text{m}$ (media \pm desviación estándar = $7,6 \pm 1,3\ \mu\text{m} \times 2,7 \pm 0,4\ \mu\text{m}$; Figuras 10F y 10J). Las clamidosporas eran de forma esférica a ovalada de pared lisa de ubicación terminal o intercalar.

Figura 10

Características macroscópicas y microscópicas de los aislados de LUAD03-16



Nota. A), B) y C) Aislado LUAD0316 cultivado a 25 °C en medio Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar de Spezieller Nährstoff-farme (SNA), Agar hoja de clavel (CLA), D) y J) Monofialides simples y ramificadas a 100X, E) Polifialide, F)

Microconidios a 100X, G) Clamidospora de ubicación terminal, H) y I) Macroconidios a 100X.

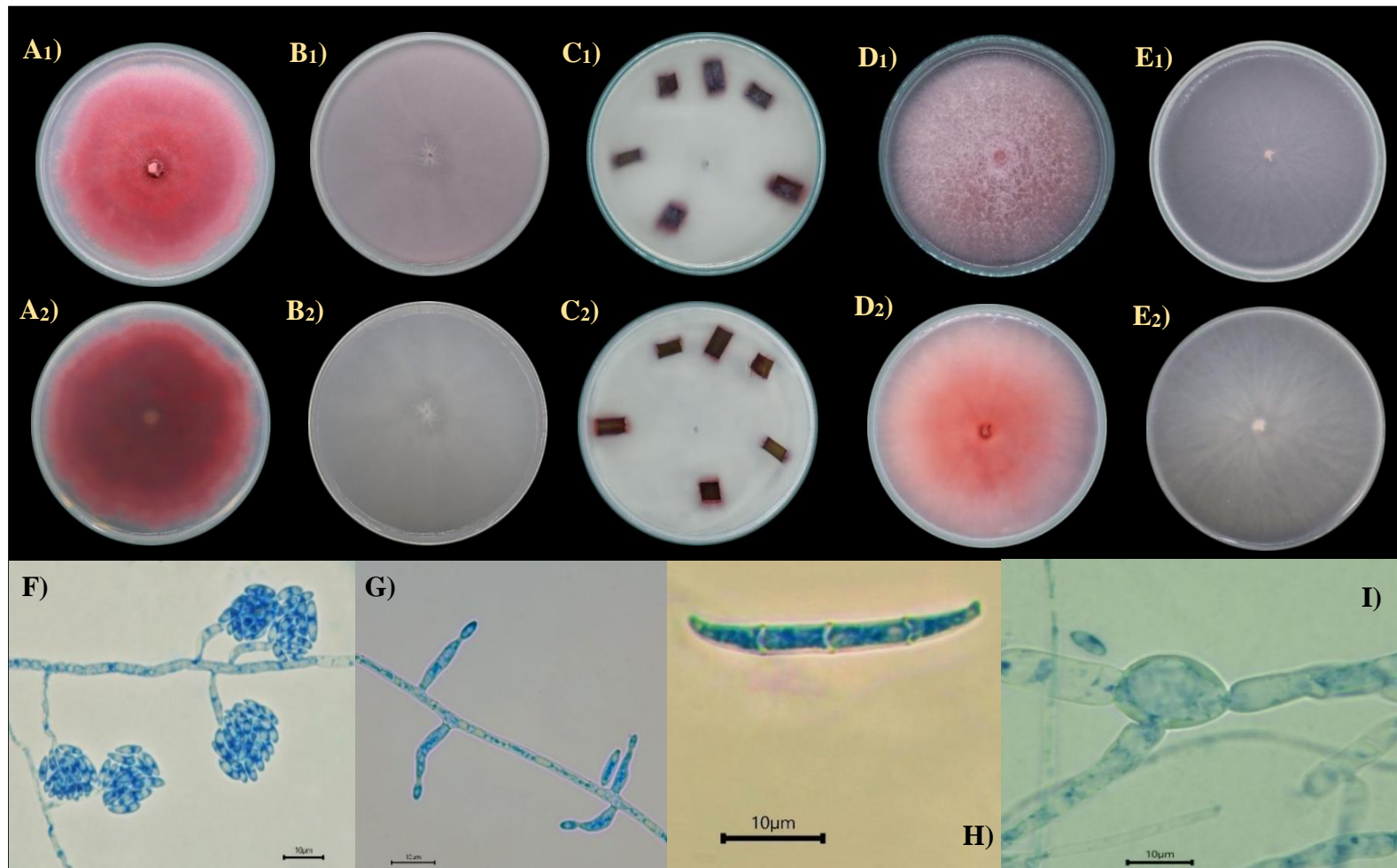
4.2.3. LUAD03-14, LUAD03-15

La colonia del aislado LUAD03-14 alcanzó un diámetro de 90 mm a los 9 días y el aislado LUAD03-15 a los 12 días en PDA. El anverso de la colonia del aislado LUAD03-14 exhibió un color rosado, de forma circular, borde irregular, aspecto algodonoso, elevada y limitada. El reverso de la colonia de color coral claro (Figura 11D). El aislado LUAD03-15 exhibió un color magenta oscuro, forma circular, borde irregular, a terciopelada, plana y extendida. El reverso de la colonia magenta oscuro (Figura 11A).

Microscópicamente, los macroconidios eran hialinos y con una forma que varía desde ligeramente falcada hasta recta con una célula apical ahusada y ligeramente curvada, mientras que la célula basal tenía forma de pie. Generalmente presentaron 3 septos con un tamaño de $27,2\text{--}41,5 \mu\text{m} \times 2,3\text{--}4,8 \mu\text{m}$ (media \pm DE = $31,47 \pm 3,5 \mu\text{m} \times 3,6 \pm 0,5 \mu\text{m}$; Figura 11H). Los microconidios eran hialinos de forma ovalada y elipsoide con un septo y sin septo con dimensiones que oscilan entre $5,3$ y $10,2 \mu\text{m} \times 2,1$ y $3,9 \mu\text{m}$ (media \pm DE = $7,71 \pm 1,2 \mu\text{m} \times 2,6 \pm 0,4 \mu\text{m}$). Los microconidios se agruparon en falsas cabezas sostenidas por monofialides cortas (Figura 11F y 11G). Estos aislados formaron muy pocas clamidosporas y lentamente de forma ovalada de ubicación intercalar con un tamaño de $4,7$ a $10,3 \mu\text{m} \times 4,8$ a $10,5 \mu\text{m}$ (media \pm DE = $6,9 \pm 0,7 \mu\text{m} \times 6,8 \pm 0,9 \mu\text{m}$; Figura 11I).

Figura 11

Características macroscópicas y microscópicas de los aislados LUAD03-14 y LUAD03-15



Nota. A), B) y C) Aislado LUAD03-15 cultivados a 25 °C en medio PDA, SNA y CLA, D) y E) Aislado LUAD03-14 en medio PDA y SNA, F) Microconidios en cabezas falsas a 100X, G) Microconidios en monofialides simples con aumento de 100X, H) Macroconidia con tres septos, I) Clamidospora intercalar a 100X.

4.2.4. LUAD03-12, LUAD03-13, LUAD03-17

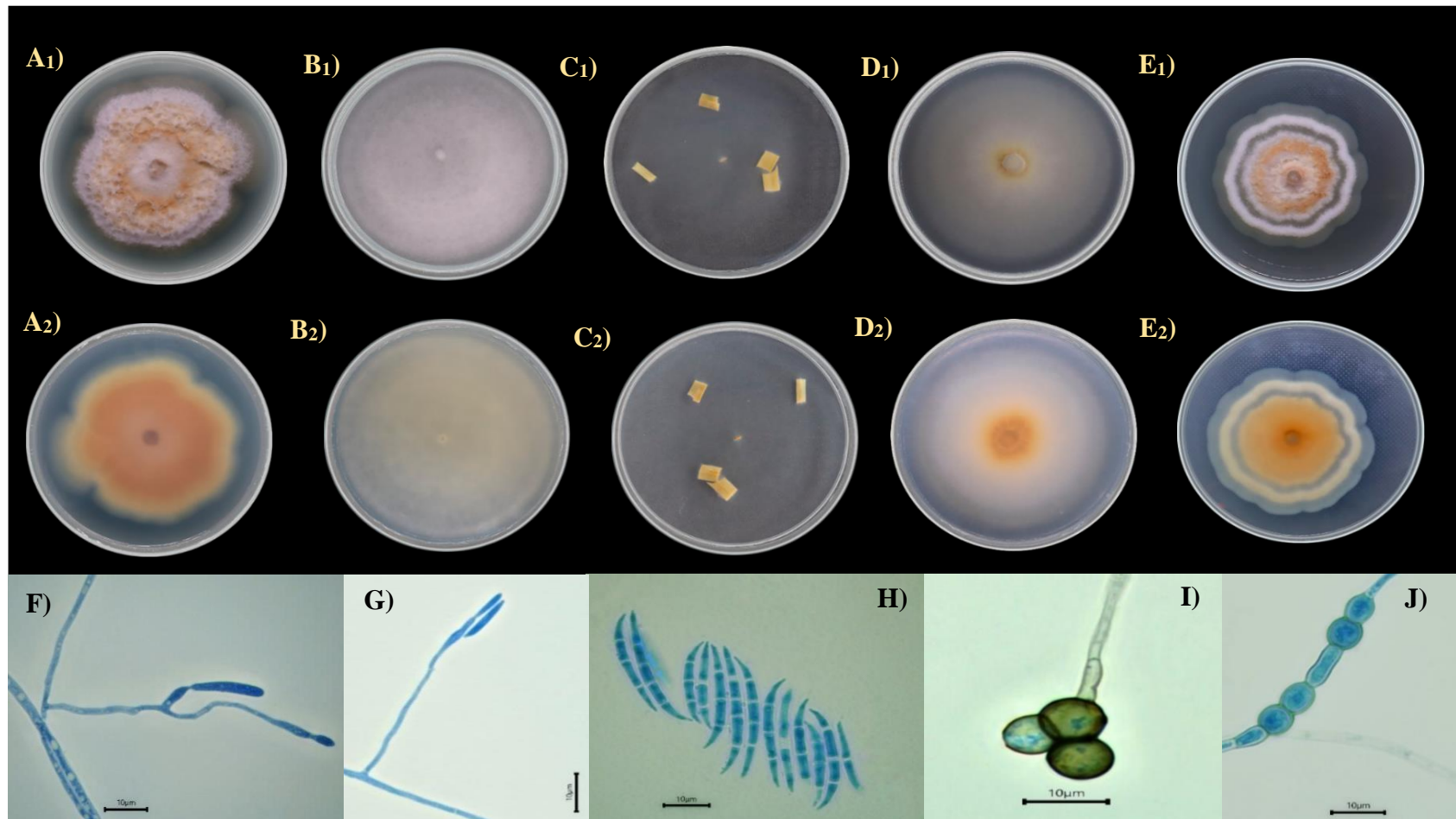
La superficie de los aislados LUAD03-12, LUAD03-13 y LUAD03-17 comenzaron siendo blanca y luego adquirió tonalidades citrinas variadas, conservando los bordes blancos. El aislado LUAD03-12 y LUAD03-13 eran de aspecto algodonoso, borde lobulado, elevada y limitada, pero LUAD03-13 de superficie con anillos concéntricos (Figura 12A y 12E). El aislado LUAD03-17 tuvo una forma circular, borde irregular, aspecto aterciopelada, plana y extendida (Figura 12D). El reverso de la colonia de los aislados presentó tonos que van desde mostaza hasta citrino oscuro.

Microscópicamente, los conidióforos eran erectos con paredes lisas y delgadas, midiendo de 25 a 58 μm de altura (Figuras 12F y 12G). Los macroconidios fueron hialinos y curvados dorsoventralmente. Sus células apicales eran ligeramente alargadas con ápice redondeado a ligeramente papilado, mientras que las células basales tenían forma de pie. Se observaron de 3 y 4 septos, con un tamaño de 27,6–49,7 $\mu\text{m} \times 2,5\text{--}4,2 \mu\text{m}$ (media \pm desviación estándar = 37,5 \pm 4,6 $\mu\text{m} \times 3,1 \pm 0,5 \mu\text{m}$; Figura 12H). Las clamidosporas fueron de forma subesférica con paredes lisas de color marrón pálido dispuestas en racimos o intercaladamente,

con un tamaño que varía entre 6,9 a 10,1 μm \times 6,7 a 10,3 μm (media \pm desviación estándar = 9,02 \pm 1,2 μm \times 9,17 \pm 1.1 μm ; Figuras 12I y 12J).

Figura 12

Características macroscópicas y microscópicas de los aislados de LUAD03-12, LUAD03-13 y LUAD03-17



Nota. A), B) y C) Aislado LUAD03-12 cultivados a 25 °C en PDA, SNA, CLA, D) Aislado LUAD03-17 en PDA, E) Aislado LUAD03-13 en PDA, F) y G) Conidióforos simples a 100X; H) Macroconidios de 1 a 4 septos a 100X; I) y J) Clamidosporas en racimos e intercalares a 100X.

4.3. Identificación morfológica de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano

Los datos obtenidos de la caracterización morfológica permitieron identificar a los aislamientos hasta el nivel de género (Tabla 13).

Tabla 13

Aislados obtenidos de la corona y raíz del cultivo de orégano, Candarave, Tacna

Género	Código de Aislamiento	Hospedante	Origen
<i>Dactylonectria</i> sp.	FARU0310	Raíz de Orégano	Candarave, Alto Camilaca
<i>Dactylonectria</i> sp.	FARU0311	Raíz de Orégano	Candarave, Alto Camilaca
<i>Fusarium</i> sp.	LUAD0312	Raíz de Orégano	Candarave, Alto Camilaca
<i>Fusarium</i> sp.	LUAD0313	Raíz de Orégano	Candarave, Alto Camilaca
<i>Fusarium</i> sp.	LUAD0314	Corona de Orégano	Candarave, Alto Camilaca
<i>Fusarium</i> sp.	LUAD0315	Corona de Orégano	Candarave, Alto Camilaca
<i>Fusarium</i> sp.	LUAD0316	Corona de Orégano	Candarave, Alto Camilaca
<i>Fusarium</i> sp.	LUAD0317	Corona de Orégano	Candarave, Alto Camilaca

4.4. Identificación molecular y análisis filogenético de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano

Se amplificaron fragmentos de aproximadamente 560 pb (ITS), 580 pb (28S), 518 pb (TEF), 566 pb (TUB) y 476 pb (HIST) para los aislados FARU0310 y FARU0311. En cambio, para los aislados LUAD0312, LUAD0313, LUAD0316 y LUAD0317, se amplificaron fragmentos de aproximadamente 505 pb (TEF), 561 pb (ITS) y 580 pb (28S). Para LUAD0314 y LUAD0315, se obtuvo un fragmento de 501pb (TEF) (Anexos 1, 2, 3 y 4).

La matriz concatenada utilizada para la identificación de los aislados FARU0310 y FARU0311 incluyó los loci ITS, TEF, 28S, TUB e HIST, abarcando un total de 3 361 pares de bases. Se aplicó el modelo GTRCAT predeterminado en el análisis filogenético de máxima verosimilitud utilizando esta matriz concatenada. Además, se seleccionaron los siguientes modelos de sustitución para el análisis de inferencia bayesiana: GTR+I+G para las secuencias ITS y 28S, K81uf+G para TEF en las dos primeras posiciones y GTR+I+G para la tercera posición; para Histona, se usó GTR+I+G en la primera posición y GTR+G en las dos restantes; finalmente, para Tubulina, se aplicaron GTR+G, HKY+G y K81uf+I en la primera, segunda y tercera posición, respectivamente.

Se identificaron dos clados principales correspondientes a los géneros *Dactylonectria* e *Ilyonectria* (BS=100; PP=1,0). Dentro de estos clados se observaron subgrupos menores, específicamente, en el clado *Dactylonectria*, dos

aislados provenientes de un campo de cultivo de orégano conformaron un grupo monofilético con un buen apoyo (PP = 0,86; BS = 86%). Ambos métodos de análisis demostraron que los aislados FARU0310 y FARU0311 se ubicaron dentro del clado *Dactylonectria torresensis*, junto con otros aislados de referencia CBS 113555, CBS 129086, KARE 1173. En consecuencia, se reportan que los aislamientos utilizados en este estudio fueron identificados como *Dactylonectria torresensis* (Figura 13).

Se utilizó una matriz concatenada de 2 064 pares de bases con los loci ITS, 28S y TEF, para la identificación de los aislados LUAD0312, LUAD0313 y LUAD0317. Esta matriz fue utilizada tanto en el análisis de máxima verosimilitud, donde se empleó el modelo predeterminado GTRCAT como en el análisis de inferencia bayesiana en donde se seleccionaron los siguientes modelos de sustitución: JC+I y HKY para ITS y 28S, mientras que para TEF se utilizó el modelo GTR+G en la primera y tercera posición, y K2P+G en la segunda posición. Dentro del clado del complejo de *Fusarium tricinctum*, los tres aislados del cultivo de orégano LUAD0312, LUAD0313, LUAD0317 por ambos métodos probabilísticos se ubicaron dentro del clado *Fusarium iranicum*, junto con otros aislados de referencia OrSaAg5 y OrSaAg2 con un buen apoyo (PP = 1,00; BS = 97%) (Figura 14).

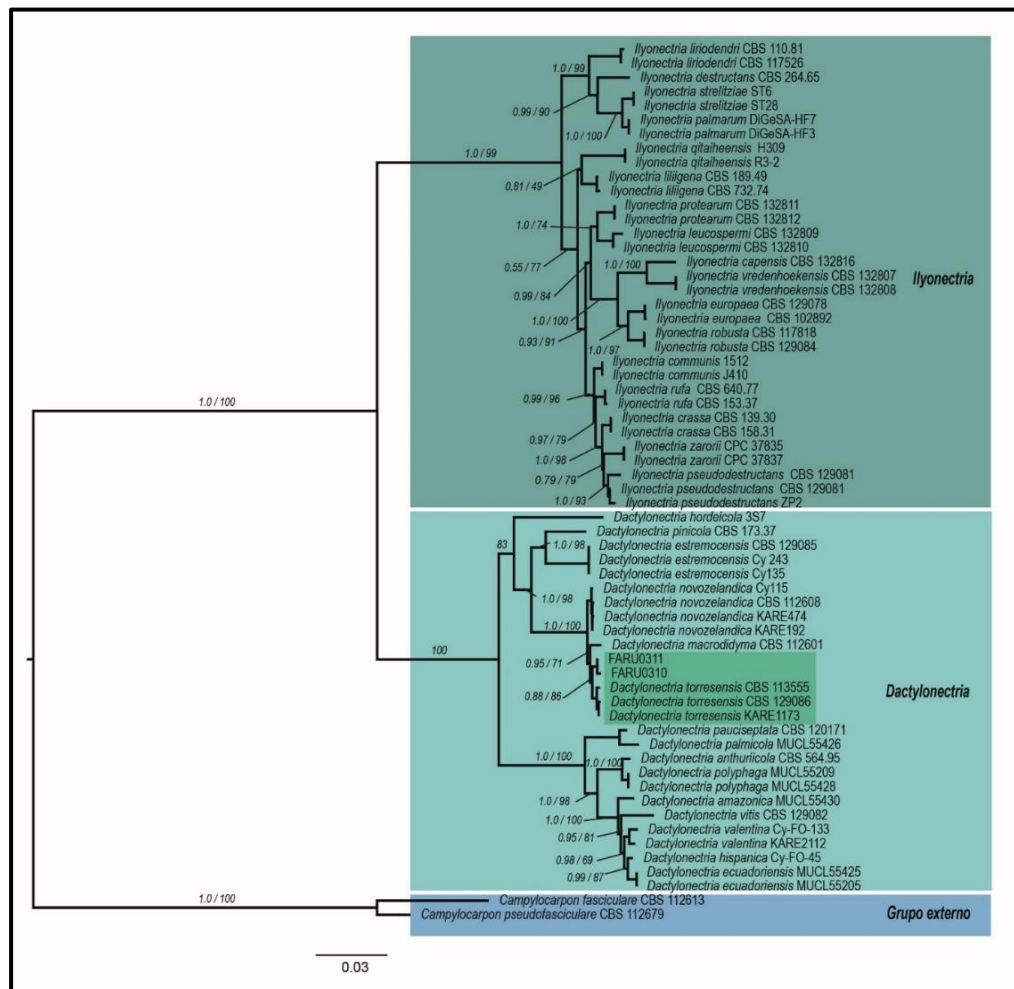
La matriz concatenada de 1 856 pares de bases con los loci ITS, 28S y TEF, se utilizó para la identificación del aislado LUAD0316. Se aplicó el modelo

GTRCAT por defecto en el análisis filogenético de máxima verosimilitud utilizando esta matriz concatenada. Además, se seleccionaron los siguientes modelos de sustitución para el análisis bayesiano: JC + I para ITS, y HKY + I para el 28S. Por otro lado, para el gen TEF se utilizaron modelos específicos: K81uf+I, K81uf+G y HKY+G en las tres posiciones, respectivamente. El aislado LUAD0316 se ubicó dentro del complejo *redolens* con un buen apoyo (PP= 1,0; BS=100%) y se asoció al clado *Fusarium redolens* conformando un grupo monofilético con un buen apoyo (PP = 0,82; BS = 100%) en ambos métodos probabilísticos (Figura 15)

La identificación de los aislados LUAD0314 y LUAD0315 se basó en una matriz que incluyó al gen TEF con 624 caracteres. Se realizó un análisis filogenético de inferencia bayesiana utilizando esta matriz con los siguientes modelos de sustitución: K2P, HKY y GTR para la primera, segunda y tercera posición del gen TEF, respectivamente. Dentro del clado del complejo de *Fusarium oxysporum*, los aislados LUAD0314 y LUAD0315 se ubicaron dentro del clado *Fusarium oxysporum*, junto con otros aislados de referencia con un buen apoyo (PP = 1,00) (Figura 16)

Figura 13

Árbol multilocus de máxima verosimilitud de los aislados de *Dactylonectria*

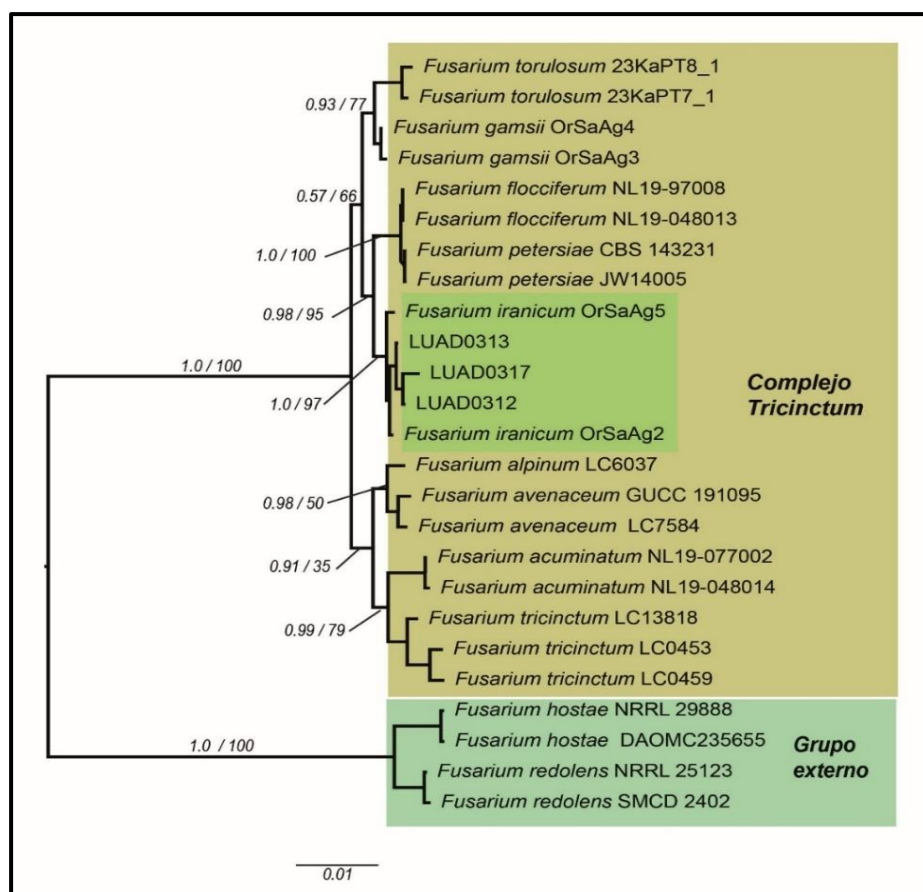


Nota. Filogenia de máxima verosimilitud de los géneros *Ilyonectria* y *Dactylonectria* utilizando los loci ITS, 28S, TEF, HIST y TUB. Los aislados FARU0310 y FARU0311 están agrupados dentro del clado de *Dactylonectria* coloreado en color celeste, específicamente con la especie *Dactylonectria torresensis* coloreada en verde. Los valores de ramas a la izquierda representan

probabilidades posteriores, mientras que los valores a la derecha indican el soporte de bootstrap obtenido a partir de un análisis de máxima verosimilitud. La barra de escala indica el número de sustituciones esperadas por sitio.

Figura 14

*Árbol multilocus bayesiano del complejo *Fusarium tricinctum**

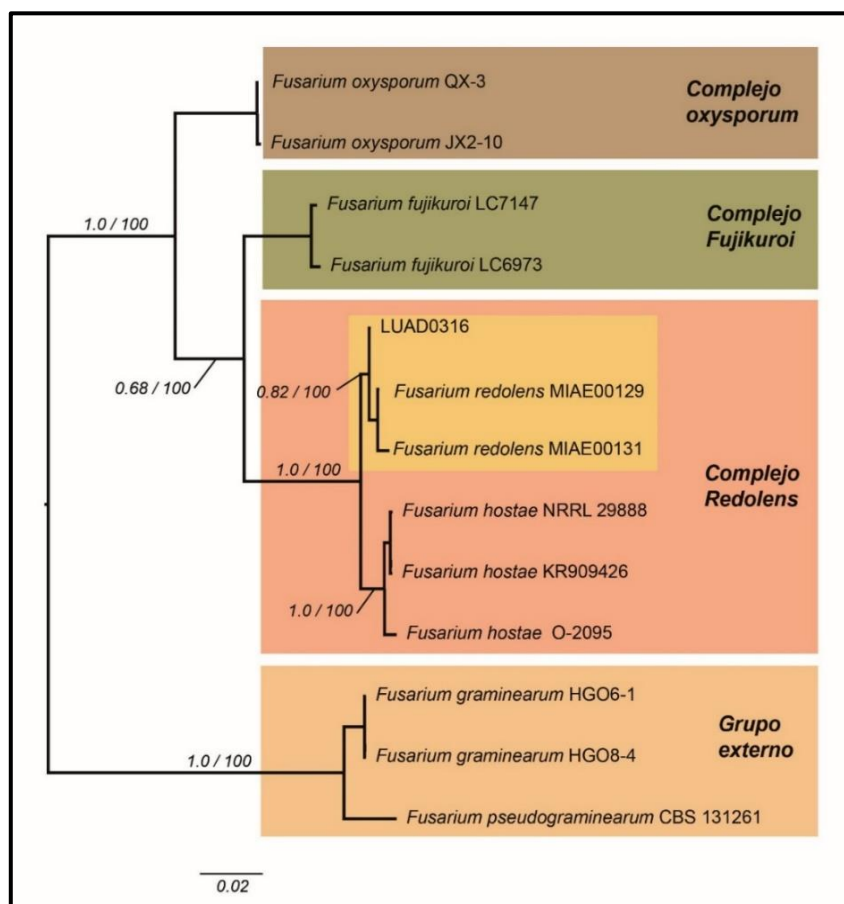


Nota. Filogenia de inferencia bayesiana del complejo *Fusarium tricinctum* utilizando los loci ITS, 28S y TEF. Los aislados LUAD0313, LUAD0317 y LUAD0312 están agrupados dentro del clado de *Fusarium iranicum* coloreado

en color verde. Los valores de ramas a la izquierda representan probabilidades posteriores, mientras que los valores a la derecha indican el soporte de bootstrap obtenido a partir de un análisis de máxima verosimilitud. La barra de escala indica el número de sustituciones esperadas por sitio.

Figura 15

*Árbol multilocus bayesiano del complejo *Fusarium redolens**

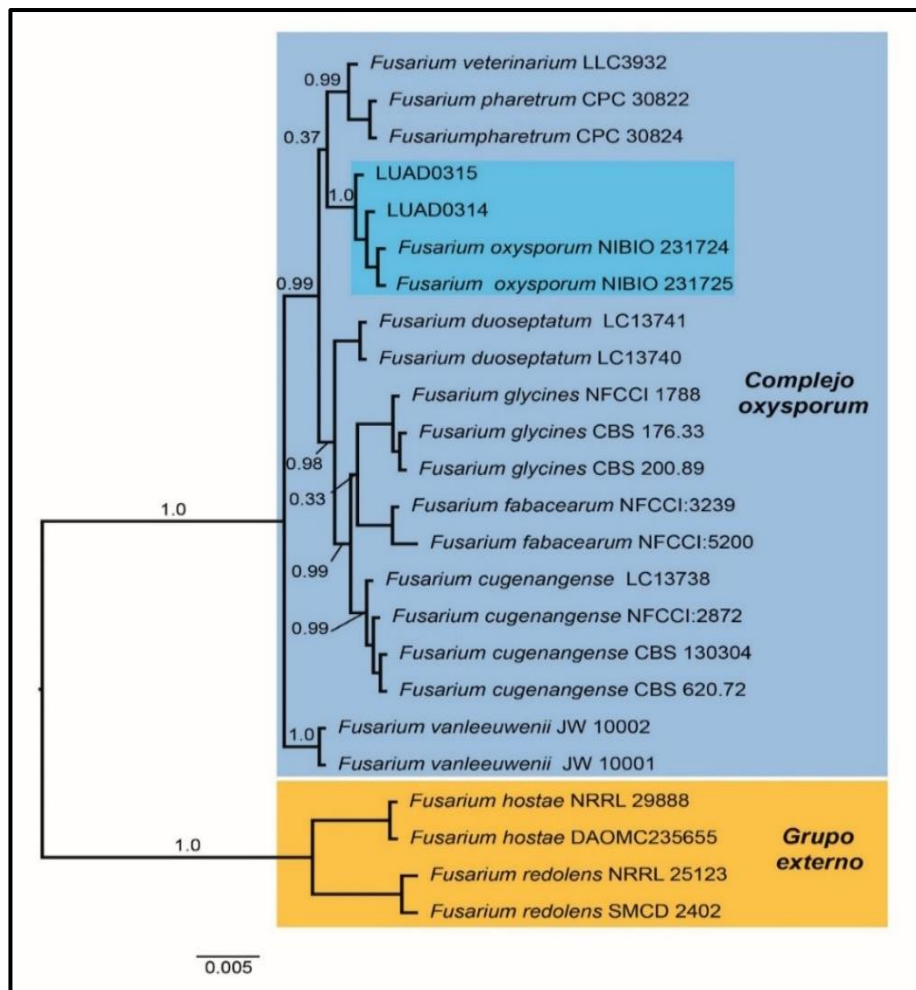


Nota. Filogenia de inferencia bayesiana, utilizando los loci ITS, 28S y TEF. El aislado LUAD0316 están agrupado dentro del clado del complejo redolens

coloreado en color melón, específicamente con la especie *Fusarium redolens* coloreada en naranja. Los valores de ramas a la izquierda representan probabilidades posteriores, mientras que los valores a la derecha indican el soporte de bootstrap obtenido a partir de un análisis de máxima verosimilitud. La barra de escala indica el número de sustituciones esperadas por sitio.

Figura 16

*Árbol de inferencia bayesiana del complejo *Fusarium oxysporum**



Nota. Filogenia de inferencia bayesiana, utilizando el locus TEF. Los aislados LUAD0314 y LUAD0315 están agrupados dentro del clado de *Fusarium oxysporum* coloreado en color celeste. Los valores de ramas a la izquierda representan probabilidades posteriores, mientras que los valores a la derecha indican el soporte de bootstrap obtenido a partir de un análisis de máxima verosimilitud. La barra de escala indica el número de sustituciones esperadas por sitio.

4.5. Prueba de patogenicidad de los aislados de la pudrición de la corona y raíz del orégano

Las pruebas de patogenicidad realizadas con los 8 aislamientos demostraron síntomas tanto a nivel aéreo como radicular. Todos los aislamientos mostraron una incidencia del 100%, excepto el aislado LUAD0316, que tuvo una incidencia del 66,67%. La planta control no presentó síntomas a nivel aéreo y radicular (Figura 17).

4.5.1. *Dactylonectria torresensis*

Los aislados FARU0310 y FARU0311 de *Dactylonectria torresensis* mostraron un grado de severidad de 3, afectando entre el 41% y el 60% a las plantas de orégano. Los síntomas fueron amarillamiento, abarquillamiento de varias ramas, marchitez, epinastia, necrosis de hojas y defoliación leve. Después de 45 días, se observó necrosis negra en la raíz principal, corona y algunas raíces secundarias,

descortezamiento de la raíz secundaria, necrosis marrón oscuro en algunas raicillas y decoloración vascular en la corona (Figura 18).

4.5.2. *Fusarium iranicum*

Los aislados de *Fusarium iranicum* muestran un grado 3 con un porcentaje de afectación del 41 al 60%, lo cual resulta en síntomas de amarillamiento en algunas hojas basales, abarquillamiento y marchitez leve, epinastia, defoliación leve y muerte de las ramas centrales. Además, después de 28 días se observó la presencia de necrosis marrón oscuro en la raíz principal, así como en algunas raíces secundarias y raicillas. La corona exhibe necrosis marrón oscuro y una leve decoloración vascular (Figura 19).

4.5.3. *Fusarium oxysporum*

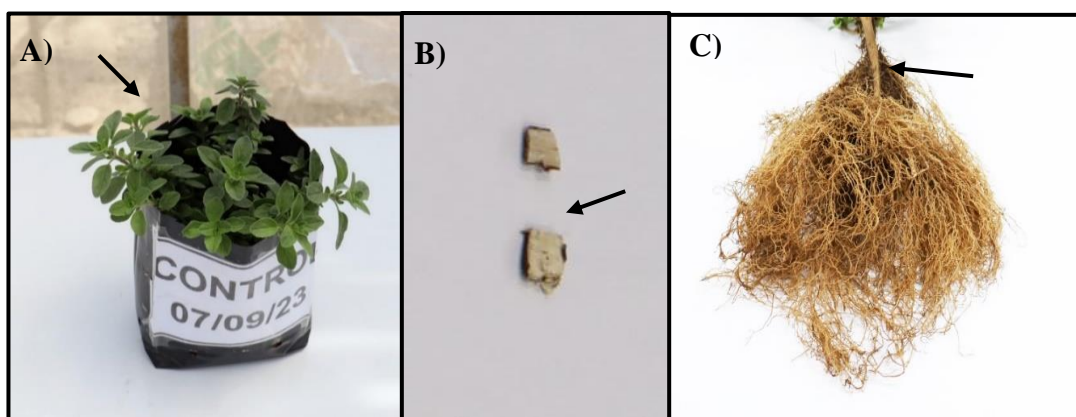
Los aislados LUAD0314 y LUAD0315 tuvieron un grado de severidad de 2 y 3 respectivamente, mostraron síntomas de amarillamiento en algunas hojas basales para LUAD0314 y en ramas basales para LUAD0315, abarquillamiento, marchitez, epinastia, necrosis de hojas, seguidos de defoliación leve. En las raíces, se observó necrosis de color marrón oscuro a negro en la raíz principal, corona y algunas raíces secundarias. Además, se notó necrosis en las raicillas de color marrón a marrón oscuro, descortezamiento en las raíces secundarias y decoloración vascular en la corona (Figura 20).

4.5.4. *Fusarium redolens*

El aislado LUAD0316 tuvo un grado de severidad de 2 afectando entre el 21 y 40% a la planta, mostrando marchitez leve, necrosis de color marrón en la raíz principal y secundaria junto una decoloración leve en la corona (Figura 21).

Figura 17

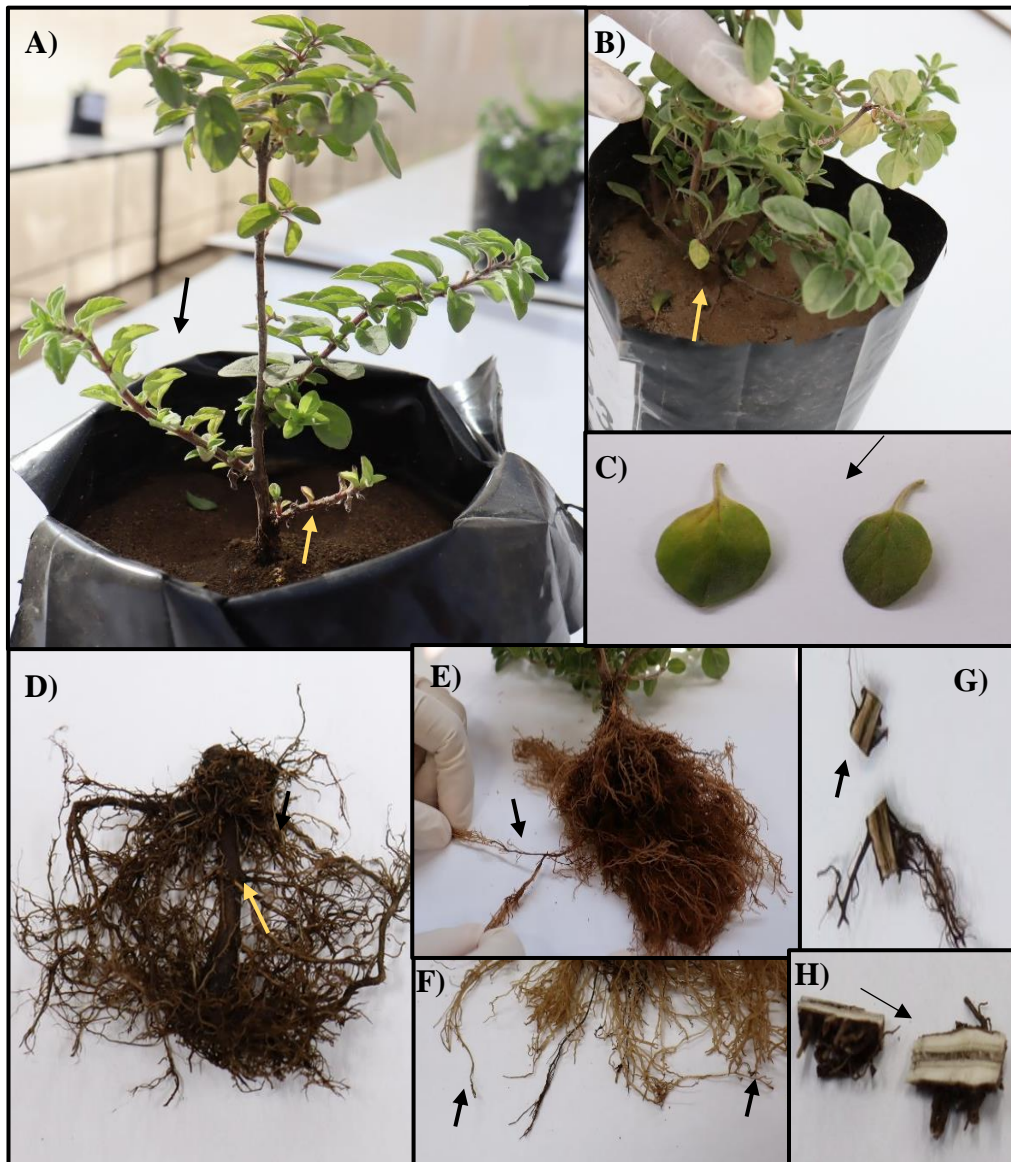
Prueba de patogenicidad de la planta control



Nota. A) Planta sin síntomas a nivel foliar, B) Corona sin decoloración vascular y C) Raíz principal, secundaria y raicillas de color marrón claro.

Figura 18

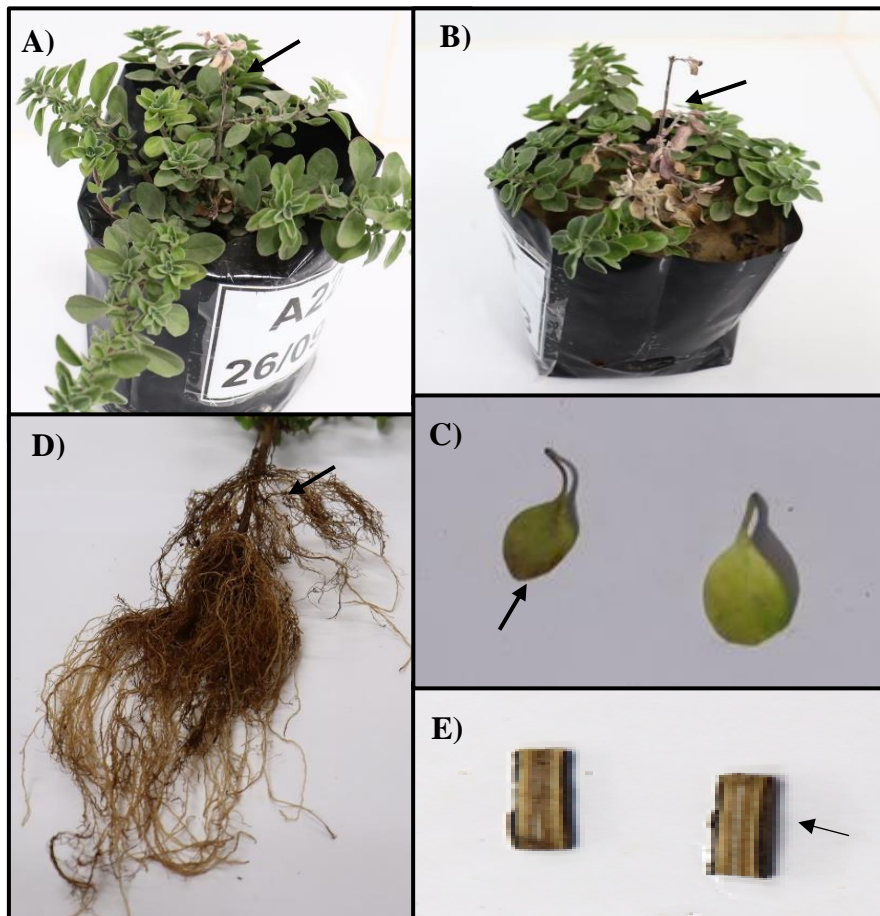
Prueba de patogenicidad de los aislados de Dactylonectria torresensis



Nota. A) y B) Amarillamiento ascendente y abarquillamiento, C) Amarillamiento basal de las hojas, D) Necrosis negra de la raíz principal y secundaria con descortezamiento E) Raíz secundaria con necrosis de color negro, F) Necrosis apical de las raicillas marrón oscuro, G) y H) Necrosis y decoloración de la corona.

Figura 19

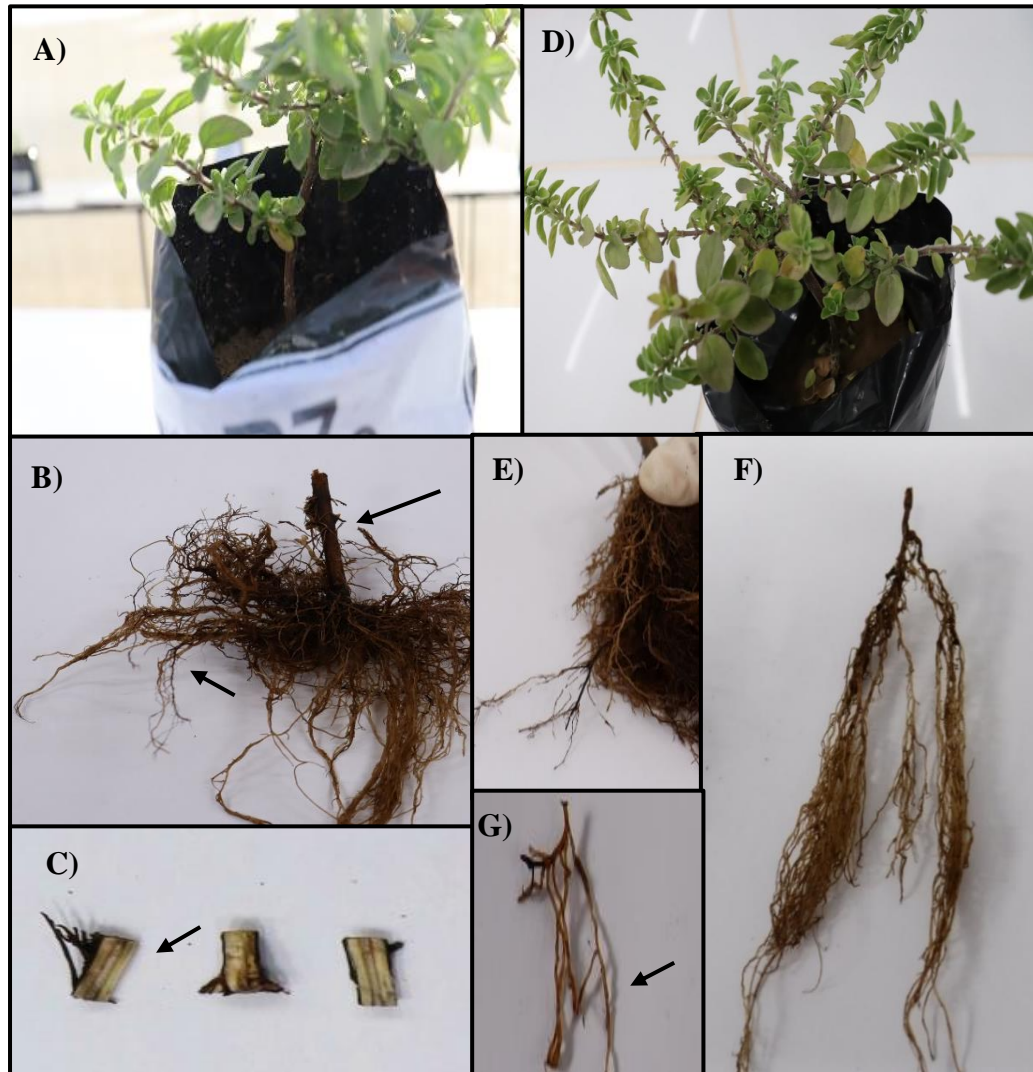
Prueba de patogenicidad de los aislados de Fusarium iranicum



Nota. A) y B) Muerte de la rama central, C) Amarillamiento y necrosis en hojas basales, D) Raíz principal y secundaria de color marrón oscuro, E) Necrosis de la corona y decoloración vascular.

Figura 20

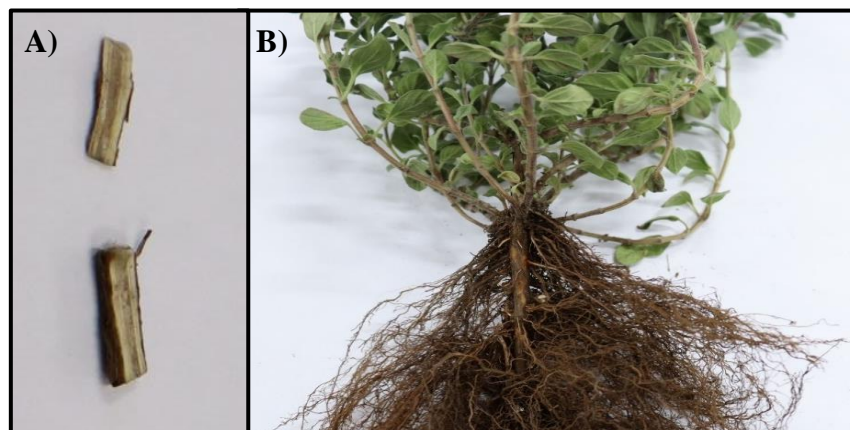
Prueba de patogenicidad de los aislados de Fusarium oxysporum



Nota. A) y D) Amarillamiento y necrosis de hojas basales, B) Raíz principal y secundaria de color marrón oscuro a negro, C) Corona con decoloración vascular de color marrón, E) y F) Necrosis de raíces secundarias de color marrón negruzco, G) Necrosis apical de raicillas.

Figura 21

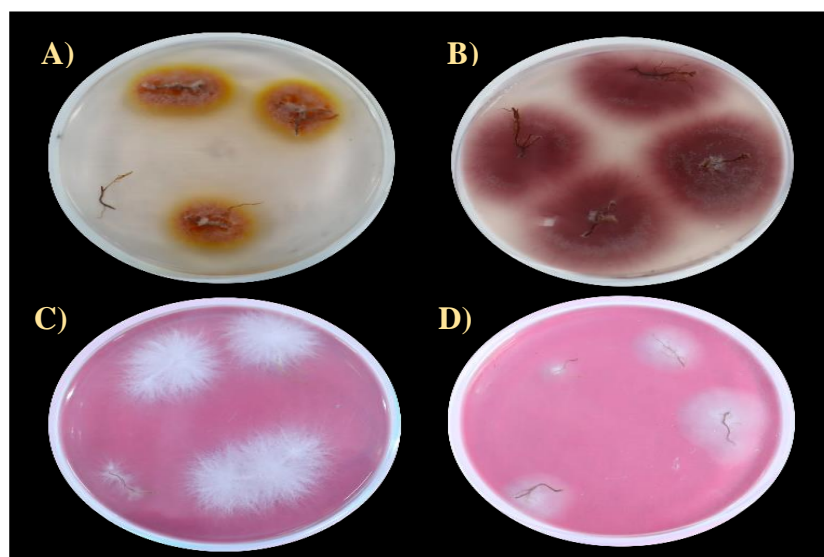
Prueba de patogenicidad del aislado de Fusarium redolens



Nota. A) Necrosis y decoloración vascular de la corona, y B) Necrosis en la raíz principal y algunas raíces secundarias.

Figura 22

Reaislamiento de los aislados inoculados en la prueba de patogenicidad



Nota. A) Aislado FARU0310 que corresponde a *Dactylonectria torresensis*, B) Aislado LUAD0315, *Fusarium oxysporum*, C) Aislado LUAD0316, *Fusarium redolens* y D) Aislado LUAD0317, *Fusarium iranicum*.

V. DISCUSIÓN

La pudrición radicular es la principal enfermedad fúngica que afecta la raíz y corona en plantas de orégano en Candarave, Jorge Basadre y Tarata. En esta investigación se demostró la presencia de ocho aislamientos asociados a la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de orégano. De ellos, dos aislados correspondieron al género *Dactylonectria* sp y seis a *Fusarium* spp. Estos géneros se encuentran entre los patógenos de plantas más comunes del suelo.

La caracterización morfológica y molecular de los aislados permitió identificar a las siguientes especies: *Dactylonectria torresensis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium iranicum* y *Fusarium redolens*. Estos resultados difieren de los reportados por Hume (2007) que considera a *Cylindrocarpon destructans* como agente causal de la pudrición radicular del orégano en Ilabaya, basado en análisis morfológico y prueba de patogenicidad, mas no en análisis molecular. Así mismo el Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Hongos y Plantas (CINB) considera que las descripciones morfológicas no son suficientes para determinar una especie (Turland et al., 2018). La identificación de hongos basada en características morfológicas puede estar propensa a errores debido a que los hongos presentan una elevada plasticidad fenotípica inducida por el ambiente y factores genéticos como la hibridación, especiación crítica y la evolución convergente (Naranjo-Ortiz & Gabaldón, 2019).

El género *Cylindrocarpon* ha estado sujeto a una continua reevaluación taxonómica. La evolución taxonómica de *Cylindrocarpon* ha sido modificada por los análisis filogenéticos de diversos loci genéticos, lo que ha permitido la identificación de nuevas especies y una reevaluación de la forma en que se clasifican estos patógenos. Por ello, la secuenciación de ADN se ha vuelto crucial para una identificación precisa de los hongos (Antil et al., 2023). De este modo, una identificación robusta requiere de la parte morfológica y molecular.

Asimismo, en una recopilación de citas, reportes y registros de fitopatógenos descritos en Chile, Acuña (2008) reportó a *Cylindrocarpon* sp., *Fusarium* sp., *Pythium* spp., *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* relacionados con la pudrición radicular y el marchitamiento en plantas de orégano. También, Chugnas (2018), mediante caracterización morfológica, reportó la presencia de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium roseum* asociados a la pudrición de la raíz en orégano en Cajamarca. Esto puede deberse a que en este estudio solo se limitó a estudio morfológico sin prueba de patogenicidad. Las pruebas de patogenicidad son cruciales para evaluar la capacidad de un microorganismo en causar enfermedad, permitiendo determinar su capacidad para invadir, persistir y dañar un huésped (Bhunjun et al., 2021).

Por otra parte, se sabe que *Pythium* spp., *Fusarium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium roseum*, son hongos fitopatógenos que habitan en el suelo. Sin embargo, Gaetán (2007b) reportó a *Fusarium solani* como agente causal de la pudrición radicular de corona y raíz en Argentina y a *Fusarium oxysporum* asociado a marchitez vascular en un campo en Luyaba, en Argentina (Gaetán, 2007a). En contraste con Yossen & Conles (2014) que determinaron además a *Fusarium proliferatum* en plantas con síntomas de amarillamiento generalizado, marchitez, necrosis de hojas, raíces y corona, así como defoliación y muerte en orégano en el Valle de Traslasierra en Argentina. Según Yang et al. (2023), solo algunas cepas de *Fusarium oxysporum* están asociadas con la pudrición de la raíz y el marchitamiento.

Este es el primer reporte en Tacna y a nivel nacional que demuestra al complejo *Dactylonectria torresensis*, *Fusarium redolens* y *Fusarium iranicum* como agente causal de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de orégano.

Los aislados del género *Dactylonectria* fueron amplificados y secuenciados utilizando los loci ITS, 28S, TEF, TUB e HIST. Estos loci han sido empleados en estudios para la identificación de anamorfos similares a *Cylindrocarpon*. En la investigación de Cabral et al. (2012a), se evidenció que el locus HIST, permite distinguir entre especies de morfos asexuales del tipo *Cylindrocarpon*, mientras que

el locus TEF, facilita la identificación de hongos del género *Ilyonectria*. Por otro lado, Lombard et al. (2014a) reubicaron especies clasificadas previamente en el género *Ilyonectria* en un nuevo género denominado *Dactylonectria* mediante un análisis multilocus (ITS, LSU, TEF1, TUB2).

En esta investigación mediante un análisis multilocus, los valores obtenidos al construir un árbol filogenético con los aislados FARU0310 y FARU0311 indicaron que se agrupan dentro del clado *Dactylonectria torresensis*, junto con otros aislados de referencia, con un sólido respaldo (PP = 0.86, BS = 86%). Esto respalda la afirmación de Lawrence et al. (2019) de que la inclusión del locus HIST junto con las secuencias de TEF1 y TUB2 mejoran significativamente la precisión en la identificación de especies del género *Dactylonectria*.

Por otro lado, para la distinción de especies de *Fusarium*, se recurre frecuentemente a fragmentos de secuencias genómicas que contienen la información codificante del factor de elongación 1- α , la β -tubulina, calmodulina y la región ITS (Chandra et al., 2011). En este estudio, se optó por utilizar la región ITS, 28S y el gen TEF1- α . Las secuencias ITS confirmaron que los aislados obtenidos pertenecían al género *Fusarium*. Sin embargo, para una discriminación más precisa, se requirió el uso de cebadores diseñados a partir de factores de elongación de la traducción. El gen TEF1- α , conocido por su rápida evolución y alto grado de polimorfismo entre especies estrechamente relacionadas (Leslie &

Summerell, 2006; Aoki et al., 2014), ha demostrado ser fundamental en análisis filogenéticos y taxonómicos de *Fusarium* spp. (Geiser et al., 2004).

La concatenación del análisis utilizando ITS, 28S y TEF permitió establecer que los aislados LUAD0312, LUAD0313 y LUAD0317 se agruparon con el clado *Fusarium iranicum*, mientras que LUAD0316 se clasificó con *Fusarium redolens*. Por otro lado, el uso de cebadores para el gen TEF reveló que los aislados LUAD0314 y LUAD0315 están relacionados con *Fusarium oxysporum*. Las especies obtenidas mediante la utilización del gen TEF alfa mostraron ser efectivas para detectar variaciones dentro de este género, tal como indican los estudios de Wulff et al. (2010) y Salazar-González et al. (2016).

En la prueba de patogenicidad *Dactylonectria torresensis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium iranicum* y *Fusarium redolens*, demostraron ser causantes de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de orégano después de 45 días de inoculado y en el caso de *Fusarium iranicum* después de 28 días de inoculado.

En la prueba de patogenicidad, *Dactylonectria torresensis* presentó un grado de severidad clasificado como 3, afectando entre el 41% y el 60% de las plantas inoculadas, causando diversos síntomas tanto a nivel aéreo como radicular similares a lo observado en campo. Los síntomas observados en el cultivo de orégano en Alto Camilaca son similares a los observados en huertos de Olivo en Apulia, Sur de Italia, según lo descrito por Nigro et al. (2019) en lo referente al

crecimiento reducido de la planta, hojas cloróticas, y a nivel radicular, cuello y raíz principal con lesiones negras y necróticas. Sin embargo, no se observaron lesiones hundidas, grietas en forma lineal ni muerte regresiva. En el orégano se observó muerte ascendente debido a su naturaleza de ser una planta herbácea.

Asimismo, síntomas similares a nuestro estudio fueron obtenidos por Erper et al. (2021) en campos de fresa de Bishkek, Kirguistán y por Li et al. (2021) en la hierba medicinal “baiji” (*Bletilla striata*) en Yunnan, China con pudrición radicular causados por *Dactylonectria torresensis*. En ambos, se han observado en campo, amarillamiento foliar y lesiones necróticas negras en la raíz, además en la hierba medicinal se observó marchitamiento. También, Erper et al. (2021) observaron retraso del crecimiento y reducción del vigor. Sin embargo, no se observaron lesiones hundidas ni la presencia de raíces destruidas en el orégano. Del mismo modo, Pečenka et al. (2018) reportan a *D. torresensis* causante de la enfermedad del pie negro en cultivos de vid, en República Checa mediante prueba de patogenicidad con síntomas como lesiones necróticas negras en las raíces, reducción de la biomasa de las raíces y retraso en el crecimiento del follaje, lo cual coincide con esta investigación.

Dactylonectria torresensis es considerado el agente más frecuente de la enfermedad del pie negro en la vid en Europa, en países como Italia, Portugal y España (Carlucci et al., 2017; Reis et al., 2013; Berlanas et al., 2017). Este patógeno es transmitido por el suelo y se encuentra en cuatro continentes. Esta asociada con

una variedad de árboles frutales, además de la vid (*Vitis vinifera*) como el manzano (*Malus doméstica*), la fresa (*Fragaria* sp.), la mora (*Rubus* sp.) y el kiwi (*Actinidia chinensis*) (Cabral et al., 2012b; Erper et al., 2013; Lawrence et al., 2019; Manici et al., 2013; Sánchez et al., 2019). Según Berlanas et al. (2020), Langenhoven et al. (2018) y Farh et al. (2018) han sugerido que los hongos del pie negro tienen una fase endofítica que puede volverse patógena. Los factores que desencadenan la patogenicidad en un endófito son: el genotipo del hospedador, el estado nutricional, los cambios en la expresión génica de la planta, el hábitat y el estrés abiótico local. Estos factores pueden comprometer la aptitud del hospedador, alterando el equilibrio y, consecuentemente, afectando la manifestación de síntomas en las plantas (Michal & Oelmüller 2009).

La capacidad patógena y el nivel de agresividad de los aislamientos de *Dactylonectria* están principalmente vinculadas a las enzimas que degradan los polisacáridos vegetales, ocasionando modificaciones en las paredes celulares de las plantas (Dahm & Strzelczyk, 1987 ; Farh et al., 2018). Por otro lado, Manici et al. (2018) encontraron que los aislados de *Dactylonectria torresensis* produjeron metabolitos como la tentoxina, toxina HC y zearalenona que podrían ser fitotóxicos y contribuir afectando el crecimiento. No obstante, aún no se ha confirmado la contribución de estos metabolitos a la patogenicidad de *Dactylonectria torresensis*.

En cuanto a la prueba de patogenicidad *Fusarium redolens* presentó una severidad de grado 2, afectando entre el 21 al 40 % de las plantas inoculadas

mostrando marchitez a nivel foliar, así como lo observado mediante pruebas de patogenicidad por Fan et al. (2021) en el ginseng americano (*Panax quinquefolium*) y por Guan et al. (2014) en ginseng (*Panax ginseng*) en China, además en el ginseng americano hojas de coloración roja lo cual difiere de este estudio. Asimismo, la necrosis marrón en las raíces principales y secundarias observada en este estudio es consistente con lo reportado por Guan et al. (2014) y a lo observado en un campo de soya en Minnesota, Estados Unidos (Bienapfl et al., 2010). Por otra parte, en la investigación de Fan et al. (2021) la raíz principal mostró lesiones de color marrón amarillento. Estas discrepancias podrían explicarse por las características específicas del ginseng y la capacidad patogénica del aislado de *Fusarium redolens*.

De igual modo, síntomas similares a nuestro estudio fueron obtenidos por Bozoğlu et al. (2021) quienes reportaron *Fusarium redolens* mediante prueba de patogenicidad causante de la podredumbre de corona con síntomas de crecimiento atrofiado con decoloración vascular de color marrón en la corona y raíces en trigo en Kazajstán. Por otro lado, Hamini et al. (2010) reporta la presencia de *Fusarium commune* y *Fusarium redolens*, mediante pruebas de patogenicidad causantes de podredumbre de corona y raíz con lesiones de color marrón oscuro en la corona y en las raíces en cultivos de tomate en Argelia, lo cual coincide con esta investigación.

En el caso de *Fusarium oxysporum* presentó una severidad de la enfermedad de grado 2, afectando entre el 21 al 40% para LUAD0314, y una severidad de grado

3 del 41 al 60% para LUAD0315, estos aislados exhibieron una variedad de síntomas similares a los descritos por Yossen & Conles (2014) como amarillamiento, marchitez, necrosis de hojas, defoliación, necrosis de corona y raíz, y muerte. Sin embargo, los aislados presentes en este estudio no presentaron muerte. En contraste con Gaetán et al. (2007a) observaron la presencia de *Fusarium oxysporum* asociado a la marchitez vascular del cultivo de orégano.

Con respecto a *Fusarium iranicum* se evidenció una severidad de grado 3 afectando un 41 al 60% en plántulas de orégano, mostrando síntomas de amarillamiento en algunas hojas basales, abarquillamiento y marchitez leve, epinastia, defoliación leve y muerte de las ramas centrales. A nivel radicular, necrosis marrón oscuro en la raíz principal, algunas raíces secundarias y raicillas; en la corona se observó necrosis marrón oscuro y decoloración vascular leve. Sin embargo, no hay reportes de *Fusarium iranicum* actuando como fitopatógeno en plantas. No obstante, Torbati et al. (2018) lo describieron como una especie asociada a *Agaricus bisporus* y lo encontraron como endófito en trigo y césped.

El género *Fusarium* tiene una distribución global y es capaz de adaptarse a diversos hábitats, tanto tropicales como templados. Se considera uno de los patógenos vegetales más destructivos, siendo considerado *Fusarium oxysporum* entre los cinco principales patógenos fúngicos de las plantas (Dean et al., 2012). Como patógenos hemibiotróficos, *Fusarium* coloniza a sus huéspedes inicialmente

como hongos biotróficos y, durante la etapa necrotrófica, producen toxinas y enzimas celulolíticas (Perincherry et al., 2019).

La capacidad patogénica de *Fusarium* spp puede atribuirse a la liberación de enzimas, efectores y micotoxinas. La mayoría de los hongos fitopatógenos producen enzimas activas en carbohidratos (CAZymes), las cuales juegan un papel en la alteración o descomposición de los carbohidratos de la pared celular vegetal, la cual constituye la primera barrera de defensa de la planta (Lombard et al., 2014b; Zerillo et al., 2013). Además, las proteínas secretadas, especialmente los efectores, tienen la capacidad de inhibir las defensas de las plantas y modificar los procesos celulares para favorecer las necesidades de los patógenos (He et al., 2020). En *Fusarium*, las micotoxinas más relevantes son los tricotecenos, las fumonisinas y la zearalenona (Bakker, 2018). Las fusarinas y el ácido fusarico son producidos comúnmente por *Fusarium oxysporum*. La crisogina, proporciona a *Fusarium oxysporum* resistencia contra condiciones ambientales adversas (Ayada et al., 2022).

La evidencia sugiere que la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de *Origanum vulgare* (Orégano) se produjo por un complejo de especies fitopatógenas, a saber, *Dactylonectria torresensis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium iranicum* y *Fusarium redolens*, las cuales produjeron una sintomatología similar a la observada en un campo de cultivo de orégano en Candarave, Tacna.

VI. CONCLUSIONES

1. Las características morfológicas de los aislados LUAD0312, LUAD0313, LUAD0314, LUAD0315, LUAD0316 y LUAD0317 corresponden al género *Fusarium*, mientras que los aislados FARU0310 y FARU0311 pertenecen al género *Dactylonectria*.
2. Los análisis filogenéticos utilizando múltiples loci (ITS, 28S, TEF, TUB, HIST) revelaron que los aislados FARU0310 y FARU0311 pertenecen al clado de *Dactylonectria torresensis*. Asimismo, mediante las regiones ITS, 28S y el gen TEF, se determinó que los aislados LUAD0312, LUAD0313 y LUAD0317 están asociados al clado de *Fusarium iranicum*, mientras que el aislado LUAD0316 se agrupa con *Fusarium redolens*. Por otro lado, el análisis filogenético del gen TEF indicó que los aislados LUAD0314 y LUAD0315 pertenecen al clado de *Fusarium oxysporum*.
3. Los agentes causales de la pudrición de la corona y raíz en el cultivo de orégano, en Candarave, Tacna son: *Dactylonectria torresensis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium iranicum* con una severidad de grado 3, mientras que *Fusarium redolens* presentó una severidad de grado 2.

VII. RECOMENDACIONES

1. Según los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda utilizar estos hallazgos como punto de partida para futuras investigaciones dirigidas a desarrollar estrategias efectivas de control. Esto incluye la aplicación de hongos biocontroladores y la creación de métodos de control integrado.
2. Evaluar los hongos asociados a la pudrición de la corona y raíz en diversas variedades de orégano y en todas las zonas productoras de orégano en Tacna.
3. Evaluar la biodiversidad de hongos endófitos en el cultivo de orégano.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreo E., S. Martínez, L. Betucci and S. Lupo, 2010. Morphological and molecular characterization of *Campylocarpon* and *Cylindrocarpon* spp. associated with black foot disease of grapevines in Uruguay. *Australasian Plant Pathology* 39(5), 446–452
- Antil, S., Abraham, J. S., Sripoorna, S., Maurya, S., Dagar, J., Makhija, S., Bhagat, P., Gupta, R., Sood, U., Lal, R., & Toteja, R. (2023). DNA barcoding, an effective tool for species identification: a review. *Molecular biology reports*, 50(1), 761-775. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-08015-7>
- Acuña, R. (2008). *Compendio de fitopatógenos de cultivos agrícolas en Chile* (1.ªed.). Servicio Agrícola y Ganadero.
- Agrios, G. N. (2005). *Fitopatología* (2ª Ed). Editorial Limusa, México.
- Alaniz S., M. Leon, J. García-Jiménez, P. Abad and J. Armengol, 2007. Characterization of *Cylindrocarpon* species associated with black-foot disease of grapevine in Spain. *Plant Disease* 91(9), 1187–1193
- Alaniz, S., J. Armengol, M. León, J. García-Jiménez and P. Abad-Campos, 2009. Analysis of genetic and virulence diversity of *Cylindrocarpon liriodendri* and *C. macrodidymum* associated with black foot disease of grapevine. *Mycological Research* 113(1), 16–23.

- Alarcón, J. J. (2011). Plantas aromáticas y medicinales. Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos.
- Aoki, T., K. O'Donnell, and D.M. Geiser. 2014. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, 80(3), 189-201. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0509-3>
- Arela Pérez, R. (2017). *Informe por servicios profesionales realizado en "Producción y certificación de Hierbas Aromáticas Orgánicas" en la ONG el taller Asociación de Promoción y Desarrollo de la Región Arequipa* [Título Profesional, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Repositorio académico de la Universidad de San Agustín. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/2939>
- Arenas, R. (Ed.). (2014). *Micología médica ilustrada*. Mcgraw-Hill interamericana editores.
- Argüello, J. A., Núñez, S. B., Davidenco, V., Suárez, D. A., Seisdedos, L., Baigorria, M. C., la Porta, N., Ruiz, G., & Yossen, V. (2012). Sistema de producción y cadena de valor del cultivo de Orégano (*Origanum* sp.) en la Provincia de Córdoba (Argentina). *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 81(1), 23–34.

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1851-56572012000100004

Aros Puca, F. E. (2021). *Caracterización morfo-fenológica de cuatro accesiones de orégano cultivadas bajo invernadero* [Tesis doctoral, Universidad de Talca Chile]. Repositorio académico de la Universidad de Talca. <http://dspace.otalca.cl/handle/1950/12532>

Ayada, H., Dhioui, B., Mazouz, H., El Harrak, A., Jaiti, F., Ouhmidou, B., Diouri, M., & Moumni, M. (2022). In silico comparative genomic analysis unravels a new candidate protein arsenal specifically associated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* pathogenesis. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21858-1>

Baayen, R. P., Van den Boogert, P. H. J. F., Bonants, P. J. M., Poll, J. T. K., Blok, W., & Waalwijk, C. (2000). *Fusarium redolens* f. sp *asparagi*, causal agent of asparagus root rot, crown rot and spear rot. *European Journal of Plant Pathology*, 106(9), 907-912. <https://doi.org/10.1023/A:1008766707266>

Bakker, M. G., Brown, D. W., Kelly, A. C., Kim, H. S., Kurtzman, C. P., McCormick, S. P., O'Donnell, K.L., Proctor, R. H., Vaughan, M. M., & Ward, T. J. (2018). *Fusarium* mycotoxins: A trans-disciplinary overview. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(2), 161-171. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1433720>

- Benítez Cruz, G., Gonzáles Tejero, R., & Molero Mesa, J. (2014). *Origanum vulgare*. M. Pardo, R. Morales, L. Aceituno, M. Molina (Eds.). *Inventario español de los conocimientos tradicionales relativos a la biodiversidad* (1era ed., pp. 203–207). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Berlanas, C., López-Manzanares, B., & Gramaje, D. (2017). Estimation of viable propagules of black-foot disease pathogens in grapevine cultivated soils and their relation to production systems and soil properties. *Plant and Soil*, 417(2), 467-479. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3272-3>
- Berlanas, C., Ojeda, S., López-Manzanares, B., Andrés-Sodupe, M., Bujanda, R., del Pilar Martínez-Diz, M., Diaz-Losada, E., & Gramaje, D. (2020). Occurrence and diversity of black-foot disease fungi in symptomless grapevine nursery stock in Spain. *Plant Disease*, 104(1), 94-104. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0484-RE>
- Bienapfl, J. C., Malvick, D. K., & Percich, J. A. (2010). First report of *Fusarium redolens* causing root rot of soybean in Minnesota. *Plant Disease*, 94(8), 1069-1069. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-1069B>
- Binda, S. A., Castiñeiras, J. E., Weaver, S., & Lucca, G. (2010). Experiencias del cultivo de orégano en El Maitén. *Agricultura*, 18, 73–76.

- Bozoğlu, T., Özer, G., Imren, M., Paulitz, T. C., & Dababat, A. A. (2021). First report of crown rot caused by *Fusarium redolens* on wheat in Kazakhstan. *Plant Disease*, *105*(10), 3302. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-21-0015-PDN>
- Cabral, A., Groenewald, J. Z., Rego, C., Oliveira, H., & Crous, P. W. (2012a). *Cylindrocarpon* root rot: multi-gene analysis reveals novel species within the *Ilyonectria radicicola* species complex. *Mycological Progress*, *11*(3), 655-688. <https://doi.org/10.1007/s11557-011-0777-7>
- Cabral, A., Rego, C., Nascimento, T., Oliveira, H., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2012b). Multi-gene analysis and morphology reveal novel *Ilyonectria* species associated with black foot disease of grapevines. *Fungal Biology*, *116*(1), 62-80. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.09.010>
- Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, *91*(3), 553-556. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061051>
- Carlucci, A., Lops, F., Mostert, L., Halleen, F., & Raimondo, M. L. (2017). Occurrence fungi causing black foot on young grapevines and nursery rootstock plants in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, *56*(1), 10-39. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-18769

- Castillo-Sanmiguel, P. A., Cortés-Sánchez, L. R., & Acero-Godoy, J. (2022). Molecular aspects of tomato (*Solanum lycopersicum*) vascular wilt by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and antagonism by *Trichoderma* spp. *Revista mexicana de fitopatología*, 40(1), 82-102. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-1>
- Cepero de García, M. C., Restrepo, S, Franco, A. E., Cárdenas, M, Vargas, N. (2012) *Biología de hongos*. Ediciones Uniandes - Universidad de los Andes.
- Chandra, N. S., Wulff, E. G., Udayashankar, A. C., Nandini, B. P., Niranjana, S. R., Mortensen, C. N., & Prakash, H. S. (2011). Prospects of molecular markers in *Fusarium* species diversity. *Applied microbiology and biotechnology*, 90(5), 1625-1639. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3209-3>
- Chaverri, P., Salgado, C., Hirooka, Y., Rossman, A. Y., & Samuels, G. (2011). Delimitation of *Neonectria* and *Cylindrocarpon* (Nectriaceae, Hypocreales, Ascomycota) and related genera with *Cylindrocarpon*-like anamorphs. *Studies in mycology*, 68(1), 57-78. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.03>
- Chen, L. H., Huang, X. Q., Yang, X. M., & Shen, Q. R. (2013). Modeling the effects of environmental factors on the population of *Fusarium oxysporum* in cucumber continuously cropped soil. *Communications in soil science and*

plant analysis, 44(15), 2219-2232.

<https://doi.org/10.1080/00103624.2012.760577>

Chen, Q., Yin, S. L., Zhang, X. G., Ma, X. Y., Zhong, S., & Zhang, G. Z. (2021).

Dactylonectria species associated with black root rot of strawberry in China.

Australasian Plant Pathology, 50(5), 501-

511. <https://doi.org/10.1007/s13313-021-00804-1>

Choi, H. W., Hong, S. K., Lee, Y. K., Kim, W. G., & Chun, S. (2018). Taxonomy

of *Fusarium fujikuroi* species complex associated with bakanae on rice in

Korea. *Australasian Plant Pathology*, 47(5), 23-34.

<https://doi.org/10.1007/s13313-017-0536-6>

Chugnas Villena, I. (2018). *Etiología y patogénesis de fungosis del orégano*

(*Origanum vulgare* L.) en la provincia de Cajamarca [Título Profesional,

Universidad Nacional de Cajamarca]. Repositorio académico de la

Universidad de Cajamarca.

<https://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/3165>

Crous, P. W. (2002). *Taxonomy and pathology of Cyliandrocladium (Calonectria)*

and allied genera. American Phytopathological Society (APS Press).

Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Risède, J. M., Simoneau, P., & Hywel-Jones, N.

L. (2004). *Calonectria* species and their *Cyliandrocladium* anamorphs:

species with sphaeropedunculate vesicles. *Studies in mycology*, 50, 415-430. <https://doi.org/10.3114/sim.55.1.213>

Dahm, H., & Strzelczyk, E. (1987). Cellulolytic and Pectolytic Activity of *Cylindrocarpon destructans* (Zins.) Scholt. Isolates Pathogenic and Non-Pathogenic to Fir (*Abies alba* Mill.) and Pine (*Pinus sylvestris* L.). *Journal of Phytopathology*, 118(1), 76-83.

Dann, E. K., Cooke, A. W., Forsberg, L. I., Pegg, K. G., Tan, Y. P., & Shivas, R. G. (2012). Pathogenicity studies in avocado with three nectriaceous fungi, *Calonectria ilicicola*, *Gliocladiopsis* sp. and *Ilyonectria liriodendri*. *Plant Pathology*, 61(5), 896-902. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02579>

Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(772). <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>.

Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>

del Villar Ruiz de la Torre, J. A., & Melo Herráiz, E. (2010). *Guía de plantas medicinales del Magreb.*

<https://es.slideshare.net/marcovinicioroblesaguiar/gua-de-plantas-medicinales-del-magreb>

Dirección Regional de Agricultura Tacna. (2023). Serie histórica del cultivo de orégano en Tacna, según variables, período 2018-2023 [Archivo PDF].

Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W. y Sharon, A. (2017). Plant pathogenic fungi.

The fungal kingdom, 5 (1), 701-726.

<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0023-2016>

Erper, I., Agustí-Brisach, C., Tunali, B., & Armengol, J. (2013). Characterization

of root rot disease of kiwifruit in the Black Sea region of Turkey. *European*

Journal of Plant Pathology, 136, 291-300. [https://doi.org/10.1007/s10658-](https://doi.org/10.1007/s10658-012-0163-6)

012-0163-6

Erper, I., Ozer, G., Alkan, M., Zholdosbekova, S., & Turkkan, M. (2021). First

report of *Dactylonectria torresensis* causing black root rot of strawberries

in Kyrgyzstan. *Journal of Plant Pathology*, 103, 379-380.

<https://doi.org/10.1007/s42161-020-00706-z>

Estrada Ashcalla, C. I. (2020). *Efecto de diferentes abonos orgánicos en el*

rendimiento del cultivo de orégano (Origanum vulgare) en el distrito de San

Luis, Carlos Fermín Fitzcarrald, Ancash, 2019. [Título Profesional,

Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/4476>

Fan, S., Zhao, F., Zhang, J., Shang, W., & Hu, X. (2021). American ginseng root rot caused by *Fusarium redolens* in China. *Plant Disease*, *105*(9), 2734. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2600-PDN>

Farh, M. E. A., Kim, Y. J., Kim, Y. J., & Yang, D. C. (2018). *Cylindrocarpon destructans/Ilyonectria radicola*-species complex: Causative agent of ginseng root-rot disease and rusty symptoms. *Journal of ginseng research*, *42*(1), 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.01.004>

Fierro, F. F. (2014). Electroforesis de ADN. En A. Cornejo, A. Serrato, B. Rendón & M.G. Rocha (Eds.), *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos* (pp. 27-51). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

French, E. R., & Hebert, T. T. (1980). *Métodos de investigación fitopatológica*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.

Gaetán, S. A., Curioni, A., & Madia, M. S. (2007a). Recent occurrence of *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* on marjoram in Argentina. *Australasian Plant Disease Notes*, *2*(1), 115–116. <https://doi.org/10.1071/dn07048>

- Gaetán, S. A., Madia, M. S., & Perez, A. (2007b). Recent outbreak of *Fusarium* crown and root rot caused by *Fusarium solani* on marjoram in Argentina. *Australasian Plant Disease Notes*, 2(1), 15–16. <https://doi.org/10.1071/dn07006>
- Gai, X. T., Hu, Y. X., Dai, K., Wang, J. M., Jiang, N., Lu, C. H., & Xia, Z. Y. (2023). First Report of Tobacco *Fusarium* Root Rot Caused by *Fusarium redolens* in China. *Plant Disease*, 107(2), 556. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0374-PDN>
- García Pérez, E., Castro Álvarez, F., Gutiérrez Uribe, A., & García Lara, S. (2012). Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(2), 339–353. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i2.1467>
- Gatch, E. W., & du Toit, L. J. (2017). Limestone-mediated suppression of *Fusarium* wilt in spinach seed crops. *Plant disease*, 101(1), 81-94. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-16-0423-RE>
- Gibert, S., Edel-Hermann, V., Gautheron, E., Gautheron, N., Sol, J. M., Capelle, G., Galland, R., Bardon-Debats, A., Lambert, C., & Steinberg, C. (2022). First report of *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium redolens*, and *Fusarium solani* causing root rot in pea in France. *Plant Disease*, 106(4), 1297. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0833-PDN>

- Gramaje, D., & Armengol, J. (2011). Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies. *Plant disease*, 95(9), 1040-1055. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-11-0025>
- Gramaje, D., Úrbez-Torres, J. R., and Sosnowski, M. R. 2018. Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: Current strategies and future prospects. *Plant Disease*. 102(1), 1-28. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0512-FE>
- Guan, Y. M., Lu, B. H., Wang, Y., Gao, J., & Wu, L. J. (2014). First report of root rot caused by *Fusarium redolens* on ginseng (*Panax ginseng*) in Jilin province of China. *Plant Disease*, 98(6), 844-844. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-13-0922-PDN>
- Guan, Y. M., Ma, Y. Y., Jin, Q., Wang, Q. X., Liu, N., Fu, Y. P., Zhang, Y. Y., & Li, Y. (2020). Multi-locus phylogeny and taxonomy of the fungal complex associated with rusty root rot of *Panax ginseng* in China. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.618942>
- Guan, Y. M., Zhang, S. N., Ma, Y. Y., Zhang, Y., & Zhang, Y. Y. (2021). Occurrence of *Dactylonectria torresensis* causing root rot on *Astragalus membranaceus* in northeastern China. *Plant Disease*, 105(4), 1219-1219. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0278-PDN>

- Güngör-Savaş, N., Akgül, D. S., Özarslandan, M., & Yıldız, M. (2020). First report of *Dactylonectria alcacerensis* and *Dactylonectria torresensis* associated with black Foot disease of grapevine in Turkey. *Plant Disease*, *104*(7), 2027. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0385-PDN>
- Haapalainen, M., Latvala, S., Kuivainen, E., Qiu, Y., Segerstedt, M., & Hannukkala, A. O. (2016). *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum* and *F. redolens* associated with basal rot of onion in Finland. *Plant pathology*, *65*(8), 1310-1320. <https://doi.org/10.1111/ppa.12521>
- Halleen, F., Fourie, P. H., & Crous, P. W. (2006). A review of black foot disease of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, *45*, S55-S67. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1845
- Hamini-Kadar, N., Edel-Hermann, V., Gautheron, N., & Steinberg, C. (2010). First report of *Fusarium commune* and *Fusarium redolens* causing crown and root rot on tomato in Algeria. *New Disease Reports*, *22*(3). <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2010.022.003>
- Hancioglu, N. E., Kurunc, A., Tontul, I., & Topuz, A. (2021). Growth, water use, yield and quality parameters in oregano affected by reduced irrigation regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *101*(3), 952–959. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10703>

- Hassan, H. A. (2020). Biology and Integrated Control of Tomato Wilt Caused by *Fusarium oxysporum lycopersici*: A Comprehensive Review under the Light of Recent Advancements. *Journal of Botany Research*, 3(1), 84-99. <https://doi.org/10.36959/771/565>
- Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. (2018). *Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. Mc Graw Hill.
- Hume Sangines, V. (2007). *Efecto protector de diferentes dosis de Glomus spp. frente al hongo patógeno causante de pudrición radicular en plantas de Origanum vulgare "orégano" bajo condiciones de invernadero* [Título Profesional]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann
- Jiaping, L., & Wenjuan, S. (2021). Cotton/halophytes intercropping decreases salt accumulation and improves soil physicochemical properties and crop productivity in saline-alkali soils under mulched drip irrigation: A three-year field experiment. *Field Crops Research*, 262, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.108027>
- Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*, 20(4), 1160-1166. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>

- Kee, Y. J., Zakaria, L., & Mohd, M. H. (2020). Morphology, phylogeny and pathogenicity of *Fusarium* species from *Sansevieria trifasciata* in Malaysia. *Plant pathology*, 69(3), 442-454. <https://doi.org/10.1111/ppa.13138>
- Klauer García, D. F. (2009). *Manual técnico de cultivo ecológico de orégano (Origanum sp. L.)*. El Taller Asociación de Promoción y Desarrollo.
- Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A., del Mar Jimenez-Gasco, M., Katan, J., Retig, B., & Jiménez-Díaz, R. M. (2006). Temperature response of chickpea cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, causal agent of *Fusarium* wilt. *Plant Disease*, 90(3), <https://doi.org/365-374.10.1094/PD-90-0365>
- Langenhoven, S. D., Halleen, F., Spies, C. F., Stempien, E., & Mostert, L. (2018). Detection and quantification of black foot and crown and root rot pathogens in grapevine nursery soils in the Western Cape of South Africa. *Phytopathologia Mediterranea*, 57(3), 519-537. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-23921
- Lawrence, D. P., Nouri, M. T., & Trouillas, F. P. (2019). Taxonomy and multi-locus phylogeny of *Cylindrocarpon*-like species associated with diseased roots of grapevine and other fruit and nut crops in California. *Fungal systematics and evolution*, 4(1), 59-75. <https://doi.org/10.3114/fuse.2019.04.06>

- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual* (1.^a ed.). Wiley-Blackwell.
- Li, W., Zhang, X., Pei, W., & Zheng, G. (2021). First report of root rot caused by *Dactylonectria torresensis* on *Bletilla striata* (Baiji) in Yunnan, China. *Plant Disease*, *105*(3), 698-698. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-20-2166-PDN>
- Limache Yufra, H. (2012). *Efecto del nitrógeno y fósforo en el rendimiento de hoja seca y aceite esencial en el orégano (Origanum vulgare L.) ecotipo peruano mejorado* [Título Profesional, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. Repositorio académico de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. <http://tesis.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/532>
- Linares Linares, M. Y. (2010) *Fusarium spp.: un modelo para el análisis de patógenos multihospedero*. [Tesis de Magister, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio institución de la Pontificia Universidad Javeriana. <http://hdl.handle.net/10554/4712>
- Lombard, L., Van Der Merwe, A., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2014a). Lineages in Nectriaceae: Re-evaluating the generic status of *Ilyonectria* and allied genera. *Phytopathologia Mediterranea*, *53*(3), 515-532. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14976

- Lombard, L., Van der Merwe, N. A., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2015). Generic concepts in Nectriaceae. *Studies in Mycology*, 80(1), 189-245. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.12.002>
- Lombard, V., Golaconda Ramulu, H., Drula, E., Coutinho, P. M., & Henrissat, B. (2014b). The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic acids research*, 42. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1178>
- Maddison, D.W. & Maddison, D.R. (2018). Mesquite: un Sistema modular para Análisis evolutivo. Versión 3.61
- Madigan, M. T., Clark, D. P., Stahl, D., & Martinko, J. M. (2010). *Brock biology of microorganisms* (13th ed.). Benjamin Cummings.
- Manici, L. M., Kelderer, M., Franke-Whittle, I. H., Rühmer, T., Baab, G., Nicoletti, F., Top, A., Insam, H., & Naef, A. (2013). Relationship between root-endophytic microbial communities and replant disease in specialized apple growing areas in Europe. *Applied soil ecology*, 72, 207-214. <https://doi.org/10.1016/j.apsil.2013.07.011>
- Manici LM, Kelderer M, Caputo F, Saccà ML, Nicoletti F, Topp AR, Mazzola M (2018) Involvement of *Dactylonectria* and *Ilyonectria* spp. in tree decline affecting multi-generation apple orchards. *Plant Soil* 425, 217–230. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3571-3>

- Martini, P., Pane, A., Raudino, F., Chimento, A., Scibetta, S., & Cacciola, S. O. (2009). First report of *Phytophthora tentaculata* causing root and stem rot of oregano in Italy. *Plant Disease*, 93(8), 843–843. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-93-8-0843B>
- Michal Johnson, J., & Oelmüller, R. (2009). Mutualism or parasitism: life in an unstable continuum. What can we learn from the mutualistic interaction between *Piriformospora indica* and *Arabidopsis thaliana*?. *Endocytobiosis and cell research: journal of the International Society of Endocytobiology*, 19, 81-111.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *2010 gateway computing environments workshop (GCE)* (pp. 1-8). Ieee.
- MINAGRI. (2019). *Análisis de mercado del orégano 2015-2019*.
- Miranda Ramos, V. M. (2016). *Evaluación del cultivo de orégano (Origanum vulgare L.) Propagado por esquejes bajo diferentes dosis del enraizador root - hor y tiempos en la localidad de ventilla - La Paz* [Título Profesional, Universidad Mayor de San Andrés]. Repositorio académico de la Universidad Mayor de San Andrés. <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/10376>

- Munkvold, G. P. (2017). *Fusarium* species and their associated mycotoxins. *Mycotoxigenic fungi: methods and protocols*, 51-106. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_4
- Naranjo-Ortiz, M. A., & Gabaldón, T. (2019). Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*, 94(6), 2101-2137. <https://doi.org/10.1111/brv.12550>
- Nigro, F., Antelmi, I., Sion, V., Parente, P., & Pacifico, A. (2019). First report of *Dactylonectria torresensis* causing foot and root rot of olive trees. *Plant disease*, 103(4), 768-768. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1381-PDN>
- Noble, R., & Coventry, E. (2005). Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. *Biocontrol science and*. 15(1), 3–20. <https://doi.org/10.1080/09583150400015904>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(5), 2044-2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>
- O'Donnell, K. (1993). *Fusarium* and its near relatives. In D.R. Reynolds & J.W. Taylor (Eds.), *The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic*

Speciation in Fungal Systematic (pp.225-233). CAB International, Wallingford.

O'Donnell, K., & Cigelnik, E. (1997). Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular phylogenetics and evolution*, 7(1), 103-116. <https://doi.org/10.1006/mpev.1996.0376>

Ölmez, Ş., Ören, E., Bayraktar, H., & Mutlu, N. (2021). First report of *Fusarium redolens* associated with root and crown rot on black cumin in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 103(2), 747-748. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00826-0>

Ortiz, A. C., & Lombardo, M. C. M. (2009). Cultivo de plantas medicinales en la provincia de Jaén. *Boletín Del Instituto de Estudios Giennenses*, 200, 195–230.

Paulitz, T. C., & Bélanger, R. R. (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annual review of phytopathology*, 39(1), 103-133. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.103>

Pečenka, J., Eichmeier, A., Peňázová, E., Baránek, M., León, M., & Armengol, J. (2018). First report of *Dactylonectria torresensis* causing black-foot disease on grapevines in the Czech Republic. *Plant disease*, 102(10), 2038. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0411-PDN>

- Perincherry, L., Lalak-Kańczugowska, J., & Stępień, Ł. (2019). *Fusarium*-produced mycotoxins in plant-pathogen interactions. *Toxins*, *11*(11), 664. <https://doi.org/10.3390/toxins11110664>
- Pineda Espinoza, L. (2021). *Efecto de una crema a base de orégano (Origanum vulgare) en la cicatrización de las lesiones dérmicas inducidas en cuyes (Cavia porcellus) Huánuco - 2021* [Título Profesional, Universidad Nacional “Hermilio Valdizán”]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán. <https://hdl.handle.net/20.500.13080/7196>
- Qostal, S., Kribel, S., Chliyeh, M., Mouden, N., El Alaoui, M. A., Serghat, S., & Ouazzani Touhami, A. (2021). First report of *Fusarium redolens* causing root rot disease of wheat and barley in Morocco. *Journal of Fungal Biology*, *11*(1), 263-273. <https://doi.org/10.5943/cream/11/1/19>
- Rambaut A. (2018). FigTree. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*, *67*(5), 901-904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Rana, A., Sahgal, M., & Johri, B. N. (2017). *Fusarium oxysporum*: genomics, diversity and plant–host interaction. *Developments in fungal biology and applied mycology*, 159-199. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4768-8_10

- Ravensberg, W. J. (2011). *A roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of arthropods* (10^aed). Springer Science & Business Media.
- Rego, C., Oliveira, H., Carvalho, A., & Phillips, A. (2000). Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea*, 39(1), 76-79. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1546
- Reis, P., Cabral, A., Nascimento, T., Oliveira, H., & Rego, C. (2013). Diversity of *Ilyonectria* species in a young vineyard affected by black foot disease. *Phytopathologia Mediterranea*, 52(2), 335-346. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-12719
- Rodríguez-Molina, M. C., Medina, I., Torres-Vila, L. M., & Cuartero, J. (2003). Vascular colonization patterns in susceptible and resistant tomato cultivars inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 0 and 1. *Plant Pathology*, 52(2), 199-203. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00810.x>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice

across a large model space. *Systematic biology*, 61(3), 539-542.

<https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

Salas-Portugal, F., & Alagón-de la Sota, P. C. (2016). Producción y exportación de orégano de la Región de Tacna.

Sánchez, J., Iturralde, P., Koch, A., Tello, C., Martínez, D., Proaño, N., Martínez, A., Viera, W., Ayala, L & Flores, F. (2019). *Dactylonectria* and *Ilyonectria* species causing black foot disease of Andean Blackberry (*Rubus Glaucus* Benth) in Ecuador. *Diversity*, 11(11), 218.

<https://doi.org/10.3390/d11110218>

Scott, J. C., Gordon, T. R., Shaw, D. V., & Koike, S. T. (2010). Effect of temperature on severity of *Fusarium* wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*. *Plant disease*, 94(1), 13-17.

<https://doi.org/10.1094/PDIS-94-1-0013>

Serrato, A., Flores, L., Apórtela, J., & Sierra, E. (2014). PCR: reacción en cadena de la polimerasa. En A. Cornejo, A. Serrato, B. Rendón & M.G. Rocha (Eds.), *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos* (pp. 53-73). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Steinkellner, S., Mammerler, R., Vierheilig, H. (2008). Germination of *Fusarium oxysporum* in root exudates from tomato plants challenged with different *Fusarium oxysporum* strains. *Eur. J. Plant Pathol.* 122,395-401. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9306-1>
- Stuthman, D. D., Leonard, K. J., & Miller-Garvin, J. (2007). Breeding crops for durable resistance to disease. *Advances in agronomy*, 95, 319-367. [https://doi.org/10.1016/s0065-2113\(07\)95004-x](https://doi.org/10.1016/s0065-2113(07)95004-x)
- Suga, H., & Hyakumachi, M. (2004). Genomics of phytopathogenic *Fusarium*. *Applied mycology and biotechnology*, 4, 161-189. [https://doi.org/10.1016/S1874-5334\(04\)80009-1](https://doi.org/10.1016/S1874-5334(04)80009-1)
- Sulca Quispe, L. (2023). *Eficacia de Trichoderma harzianum y Bacillus subtilis en el control de la pudrición radicular (Cylindrocarpon destructans) del orégano (Origanum vulgare L.), bajo condiciones de invernadero*. [Tesis Doctoral, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. <https://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/20.500.12510/3042>

Tarapa Chagua, E. A. (2010). *Comercialización de orégano orgánico como especialidad en la región Tacna - Perú* [Título de Especialista, Universidad de Buenos Aires]. Repositorio institucional de la Universidad de Buenos Aires.

<http://ri.agro.uba.ar/files/download/tesis/especializacion/2016tarapachaguaefrainamador.pdf>

Tolosa Almendros, V. M. (2015). *Identificación de especies de Dactylonectria e Ilyonectria asociadas al pie negro de la vid en Castilla la Mancha*. [Trabajo de Master, Universitat Politècnica de València]. Repositorio institucional de la Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/66813>

Torbati, M., Arzanlou, M., Sandoval-Denis, M., & Crous, P. W. (2018). Multigene phylogeny reveals new fungicolous species in the *Fusarium tricinctum* species complex and novel hosts in the genus *Fusarium* from Iran. *Mycological. Progress*, 18(2), 119-133. <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1422-5>

Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research*, 44(W1), W232-W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>

- Turland, N. J., Wiersema, J. H., Barrie, F. R., Greuter, W., Hawksworth, D. L., Herendeen, P. S., Knapp, S., Kusber, W.H., Li, D., Marhold, K., May, T.W., McNeill, J., Monro, A. M., Prado, J., Prince, M.J., & Smith, G. F. (2018). Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y Plantas (Código de Shenzhen). *Werner Greuter, Herbarium Mediterraneum, Università degli Studi di Palermo, Italy, and Botanischer Garten & Botanisches Museum Berlin-Dahlem, Freie, Universität Berlin, Germany*
- Valderrama, J. M. V., Ortigosa, F., & Cañas, R. A. (2020). Métodos de secuenciación de ácidos nucleicos: Primera generación. *Encuentros en la Biología*, 13(173), 19-25. <https://doi.org/10.24310/enbio.v13i173.17342>
- Van Baarlen, P., Van Belkum, A., Summerbell, R. C., Crous, P. W., & Thomma, B. P. (2007). Molecular mechanisms of pathogenicity: how do pathogenic microorganisms develop cross-kingdom host jumps? *FEMS microbiology reviews*, 31(3), 239-277. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00065.x>
- Vera, E. (2013). *Identificación morfológica y molecular de especies de Fusarium en plantas de nochebuena* [Título Profesional, Instituto Tecnológico de Tehuacán].
- Villalobos Pineda, K. M. (2018). *Caracterización molecular de los principales ecotipos de “orégano” (Origanum sp.) en la región Tacna* [Título Profesional, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio

académico de la Universidad Agraria la Molina.
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/3389>

Walter, S., Nicholson, P., & Doohan, F. M. (2010). Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. *New Phytologist*, *185*(1), 54-66. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03041.x>

Wang, M. M., Crous, P. W., Sandoval-Denis, M., Han, S. L., Liu, F., Liang, J. M., Duan, W., & Cai, L. (2022). *Fusarium* and allied genera from China: species diversity and distribution. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, *48*(1), 1-53. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2022.48.01>

Watanabe, T. (2010). *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: morphologies of cultured fungi and key to species* (3.^a ed.). CRC Press

Wei, J., & Wu, B. (2020). Chemistry and bioactivities of secondary metabolites from the genus *Fusarium*. *Fitoterapia*, *146*(4). <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104638>

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, *18*(1), 315-322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>

Wulff, E. G., Sørensen, J. L., Lübeck, M., Nielsen, K. F., Thrane, U., & Torp, J. (2010). *Fusarium* spp. associated with rice Bakanae: ecology, genetic

diversity, pathogenicity and toxigenicity. *Environmental Microbiology*, 12(3), 649-657. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02105.x>

Xu, C. Y., Gao, H. H., Han, Q., Jia, C. B., Swingle, B., Gao, M., & Su, J. Y. (2024). First report of *Fusarium redolens* causing root rot of Goji berry cv. 'Ningqi-7' in China. *Journal of Phytopathology*, 172(2), e13278. <https://doi.org/10.1111/jph.13278>

Yang, L., Gao, W., Huo, J., Zhang, C., Xu, L., & Wang, Y. (2023). First Report of Stem and Root Rot Caused by *Fusarium oxysporum* on *Geranium* in China. *Plant Disease*, 107(5), 1623. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-22-0560-PDN>

Yossen, V., & Conles, M. (2014). Eficacia de fungicidas in vitro para el control de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, 91(1), 19–25. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-30182014000100003&script=sci_arttext&tlng=en

Zerillo, M. M., Adhikari, B. N., Hamilton, J. P., Buell, C. R., Lévesque, C. A., & Tisserat, N. (2013). Carbohydrate-active enzymes in *Pythium* and their role in plant cell wall and storage polysaccharide degradation. *PLoS One*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072572>

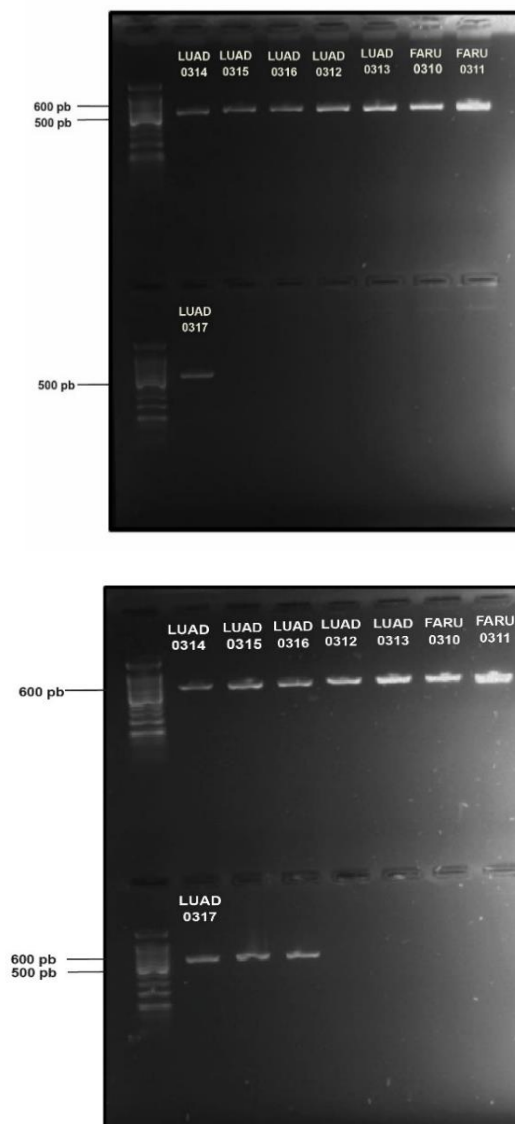
Zimowska, B. (2015). Fungi threatening the cultivation of oregano (*Origanum vulgare* L.) in South-Eastern Poland. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 14(4), 65–78. www.acta.media.pl

Zúñiga Vásquez, J. C. (2016). *Tres niveles de “humus de lombriz” y dos tipos de “té de estiércol” en la producción de orégano (Origanum x majoricum Cambessedes) var. “nigra” con manejo orgánico* [Título Profesional, Universidad Nacional San Agustín]. Repositorio académico de la Universidad de San Agustín. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/1776>

IX. ANEXOS

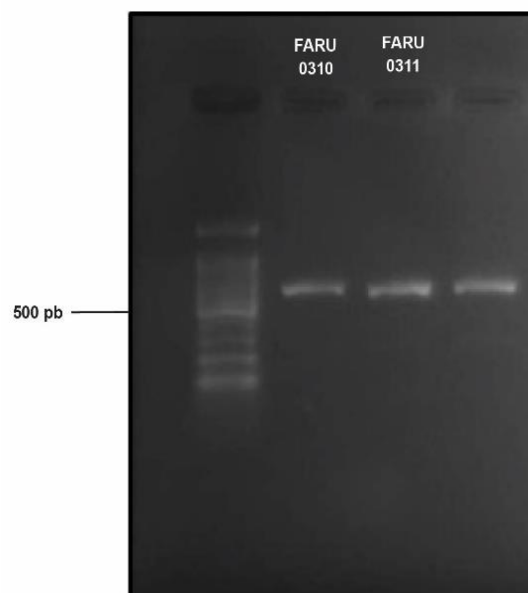
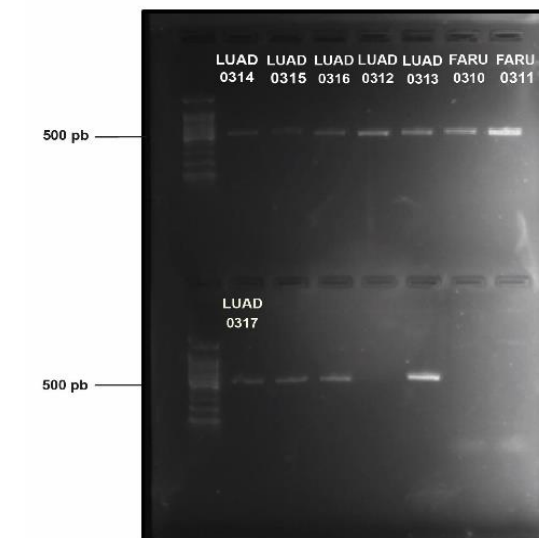
Anexo 1

Electroforesis de productos PCR: Arriba con el marcador ITS y abajo con 28s



Anexo 2

Electroforesis de productos PCR: Arriba con el gen TEF y abajo con tubulina



Anexo 3

Recolección de las plantas del cultivo de orégano en Alto Camilaca, Candarave.



Anexo 4

Preparación del sustrato para la prueba de patogenicidad



Anexo 5

Esquejes de orégano en el invernadero de la Facultad de Ciencias

**Anexo 6**

Preparación de los productos PCR y electroforesis en gel de agarosa



Anexo 7*Secuencia consenso ITS para el aislado FARU0310*

GTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTT
TACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATTTGTTGCCTCGGCGGTG
CCTGTTCCGACAGCCCGCCAGAGGACCCCAAACCCCTGATTACATTTAA
GAAGTCTTCTGAGTAAACCGATTAAATAAATCAAACTTTCAACAACG
GATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAG
TAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACA
TTGCGCCCGCTAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCA
ACCCTCAAGCCCCCGGGCTTGGTGTTTGGGGGATCGGGCGAGCCTCCGC
GCCCCGCGTCCCCTAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGTAGCTTCCTCTGC
GTAGTAGCACACCTCGCACTGGGAAACAGCGCGGCCACGCCGTTAAA
CCCCGACTTCTGAACGTTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCT
GAACTTAAGCATATCA

Anexo 8*Secuencia consenso ITS para el aislado FARU0311*

TGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGT
TTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATTTGTTGCCTCGGCGGT
GCCTGTTCCGACAGCCCGCCAGAGGACCCCAAACCCCTGATTACATTTA
AGAAGTCTTCTGAGTAAACCGATTAAATAAATCAAACTTTCAACAAC
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
ATTGCGCCCGCTAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCA
AACCTCAAGCCCCCGGGCTTGGTGGTTGGGGGATCGGGCGAGCCTCCG
CGCCCCGCGTCCCCTAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGTAGCTTCCTCTG
CGTAGTAGCACACCTCGCACTGGGAAACAGCGCGGCCACGCCGTTAA
ACCCCCGACTTCTGAACGTTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGC
TGAACCTTAAGCATATC

Anexo 9*Secuencia consenso 28S para el aislado FARU0310*

AAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCA
 ACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCTTCGGGTCCGAGTTGTAATTTGTA
 GAGGATGCTTTTGGTGAGGTGCCTTCCGAGTTCCTGGAACGGGACGC
 CATAGAGGGTGAGAGCCCCGTCTGGTTGGACACCGATCCTCTGTAAAG
 CTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGG
 TATATGTCTTCTAAAGCTAAATATTGGCCAGAGACCGATAGCGCACAA
 GTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTTAAAAA
 GTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTCATGACCAGACTTGGGCTT
 GGTTGATCATCCAGGGTTCTCCCTGGTGCCTCTTCCAGTTCAGGCCAG
 CATCAGTTCGCTGTGGGGGATAAAGGCTTTGGGAATGTGGCTCCCTCG
 GGAGTGTTATAGCCCATTGTGTAATACCCTGTGGTGGACTGAGGTTTCG
 CGCATTTCGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTTCATCAGCGACCCGTCTA

Anexo 10*Secuencia consenso 28S para el aislado FARU0311*

GAGGAAAAAGGAACCAACAGGGATTGCCCTAGTAACGGCGAGTGAAG
 CGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCTTCGGGTCCGAGTTGTAAT
 TTGTAGAGGATGCTTTTGGTGAGGTGCCTTCCGAGTTCCTGGAACGG
 GACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTCTGGTTGGACACCGATCCTCTG
 TAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATG
 GGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATATTGGCCAGAGACCGATAGCG
 CACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTT
 AAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTCATGACCAGACTT
 GGGCTTGGTTGATCATCCAGGGTTCTCCCTGGTGCCTCTTCCAGTTCA
 GGCCAGCATCAGTTCGCTGTGGGGGATAAAGGCTTTGGGAATGTGGCT
 CCCTCGGGAGTGTTATAGCCCATTGTGTAATACCCTGTGGTGGACTGA
 GGTTTCGCGCATTTCGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTTCATCAGCGACCCG
 TC

Anexo 11*Secuencia consenso TEF para el aislado FARU0310*

TCATCGAGAAAGTTCGAGAAGGTTGGTCCTCTTTTTCCGATTTTATCCT
 CGATCGTCGGTCGATTCCCACGTCGCCGGTCCTGCACCCGACGCACAT
 TCTCACCCCTCGATCAAATTTCCACACTGCAATTTTTTTTGGTGGGGC
 GAATTTTACCCCTCCACACATTTGTGGTTGAAATTTGCCCCGCCCCACC
 CTAGCATCTCAACCACAAACTCGAGCCTCGTCACATACTATGCACAGA
 AACTGACAACGTCGCCTTACAGGAAGCCGCTGAGCTCGGCAAGGGTT
 CCTTCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCTGAGCGTGAGC
 GTGGTATCACCATCGATATCGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCCGCT
 ACTTCGTCACCGTCATTGGTAAGTCGCAGCTGTCCATTTACCTTGACCT
 GCTTGAACCTTGTCTAACTATTTGCCACAGACGCTCCCGGACATCGTG
 ATTCATCAAGAACATGATCACTGGGTTACCTCCA

Anexo 12*Secuencia consenso TEF para el aislado FARU0311*

CATCGAGAAGTTCGAGAAGGTTGGTCCTCTTTTTCCGATTTTATCCTCG
 ATCGTCGGTCGATTCCCACGTCGCCGGTCCTGCACCCGACGCACATTCT
 CACCCCTCGATCAAATTTCCACACTGCAATTTTTTTTGGTGGGGCGAA
 TTTTACCCCTCCACACATTTGTGGTTGAAATTTGCCCCGCCCCACCCTA
 GCATCTCAACCACAAACTCGAGCCTCGTCACATACTATGCACAGAATA
 CTGACAACGTCGCCTTACAGGAAGCCGCTGAGCTCGGCAAGGGTTCCT
 TCAAGTATGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCTGAGCGTGAGCGTG
 GTATCACCATCGATATCGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCCGCTACTT
 CGTCACCGTCATTGGTAAGTCGCAGCTGTCCATTTACCTTGACCTGCTT
 GAACTTGTCTAACTATTTGCCACAGACGCTCCCGGACATCGTGATTT
 CATCAAGAACATGATCACTGGGTTACCTCCA

Anexo 13*Secuencia consenso TUB para el aislado FARU0310*

GGTGAGATTGTAAGTTGCCTGCCTCTAGCCGTGCTCTGCTCGCTCTTGA
 CGACGCGGTGGTTACCTGCTTGGAGCCGCTGCCCTGATTCTACCCCG
 CTGCAGCATTTCACCGCCTCGAGCAAACAAAGCCACGGCTTCAACC
 ACGACGTGATTCTGGGACATGATGGCTAATATGACTTCTTGTGCAATA
 TAGGTCCACCTCCAGACCGGCCAGTGCGTAAGTGCCTCCTCTTCCTCGT
 TGACAACACGGCGGAGATTCTAACAACGCGTGGATAGGGTAACCAA
 TTGGTGCTGCTTTCTGGCAGACCATCTCTGGCGAGCATGGTCTTGACAG
 CAATGGTGTCTACAACGGCACCTCCGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAG
 CGTCTACTTCAACGAGGTACGTGATCAAACCCTGCTGCCTGCTCTGCCT
 CTGGAAGCACGAACTCACACCACCCAGGCCTCTGGCAACAAGTATGT
 CCCTCGCGCCGTCCTCGTCGATCTCGAGCCCGGTACCATGGACGCCGT
 CCGTGCCGGCCCCCTTCGGCCAGCTCTTCCGTCCCC

Anexo 14*Secuencia consenso TUB para el aislado FARU0311*

GGTGAGATTGTAAGTTGCCTGCCTCTAGCCGTGCTCTGCTCGCTCTTGA
 CGACGCGGTGGTTACCTGCTTGGAGCCGCTGCCCTGATTCTACCCCG
 CTGCAGCATTTCACCGCCTCGAGCAAACAAAGCCACGGCTTCAACC
 ACGACGTGATTCTGGGACATGATGGCTAATATGACTTCTTGTGCAATA
 TAGGTCCACCTCCAGACCGGCCAGTGCGTAAGTGCCTCCTCTTCCTCGT
 TGACAACACGGCGGAGATTCTAACAACGCGTGGATAGGGTAACCAA
 TTGGTGCTGCTTTCTGGCAGACCATCTCTGGCGAGCATGGTCTTGACAG
 CAATGGTGTCTACAACGGCACCTCCGAGCTCCAGCTCGAGCGCATGAG
 CGTCTACTTCAACGAGGTACGTGATCAAACCCTGCTGCCTGCTCTGCCT
 CTGGAAGCACGAACTCACACCACCCAGGCCTCTGGCAACAAGTATGT
 CCCTCGCGCCGTCCTCGTCGATCTCGAGCCCGGTACCATGGACGCCGT
 CCGTGCCGGCCCCCTTCGGCCAGCTCTTCCGTCCCC

Anexo 15*Secuencia consenso HIST para el aislado FARU0310*

GTGGCAAGGCCCTCGCAAGCAGCTTGCTTCCAAGGCTGGTGAGTCCC
 ATCGCCGGCGCGCCATTTACTTGACGCGTCGCGTTTCCATCAACAATG
 CATCATACTAACTTCAACCATCAACAGCCCGCAAGAGCGCCCCCTCTA
 CCGGTGGCGTCAAGAAGCCTCACCGCTACAAGCCCGGTACCGTCGCTC
 TCCGTGAGATTCGTCGCTACCAGAAGTCGACCGAGCTCCTCATCCGCA
 AGCTCCCCTTCCAGCGTCTCGTGAGTTCAAACACAACACCTTTAACTTT
 CAACCACACATTATCTAACATTAGACACAGGTCCGTGAGATCGCTCAG
 GACTTCAAGAGCGATCTTCGCTTCCAGTCCTCTGCCATTGGTGCTCTCC
 AGGAGTCCGTGAGTCCTACCTCGTCTCCCTCTTCGAGGACACCAACC
 TGTGCGCCATCCACGCCAAGCGTGTCACCATCCAGTCCAAGG

Anexo 16*Secuencia consenso HIST para el aislado FARU0311*

GTGGCAAGGCCCTCGCAAGCAGCTTGCTTCCAAGGCTGGTGAGTCCC
 ATCGCCGGCGCGCCATTTACTTGACGCGTCGCGTTTCCATCAACAATG
 CATCATACTAACTTCAACCATCAACAGCCCGCAAGAGCGCCCCCTCTA
 CCGGTGGCGTCAAGAAGCCTCACCGCTACAAGCCCGGTACCGTCGCTC
 TCCGTGAGATTCGTCGCTACCAGAAGTCGACCGAGCTCCTCATCCGCA
 AGCTCCCCTTCCAGCGTCTCGTGAGTTCAAACACAACACCTTTAACTTT
 CAACCACACATTATCTAACATTAGACACAGGTCCGTGAGATCGCTCAG
 GACTTCAAGAGCGATCTTCGCTTCCAGTCCTCTGCCATTGGTGCTCTCC
 AGGAGTCCGTGAGTCCTACCTCGTCTCCCTCTTCGAGGACACCAACC
 TGTGCGCCATCCACGCCAAGCGTGTCACCATCCAGTCCAAGG

Anexo 17*Secuencia consenso ITS para el aislado LUAD0312*

TAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTT
 ACAACTCCCAAACCCCTGTGAACATAACCTTAATGTTGCCTCGGCGGAT
 CAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCAAACT
 CTAATGTTTCTTATTGTAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAA
 AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
 CAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAA
 TCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCCCCGGGTTTGGTGTGGGGGATC
 GGCTCTGCCTTCTGGCGGTGCCGCCCCCGAAATACATTGGCGGTCTCG
 CTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAACGCGG
 CGCGGCCATGCCGTAGAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCA
 GGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT

Anexo 18*Secuencia consenso ITS para el aislado LUAD0313*

ACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTAC
 AACTCCCAAACCCCTGTGAACATAACCTTAATGTTGCCTCGGCGGATCA
 GCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCAAACTCT
 AATGTTTCTTATTGTAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAA
 CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCA
 AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATC
 TTTGAACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTT
 GAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCCCCCGGGTTTGGTGTGGGGATCG
 GCTCTGCCTTCTGGCGGTGCCGCCCCCGAAATACATTGGCGGTCTCGCT
 GCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAACGCGGCG
 CGGCCATGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGG
 TAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAT

Anexo 19*Secuencia consenso ITS para el aislado LUAD0317*

CGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGT
 TTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATAACCTTAATGTTGCCTCGGCGG
 ATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCAAA
 CTCTAATGTTTCTTATTGTAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCA
 AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
 GCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGA
 ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTG
 TTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCCCCGGGTTTGGTGTGGGGAT
 CGGCTCTGCCTTCTGGCGGTGCCGCCCCCGAAATACATTGGCGGTCTC
 GCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAACGCG
 GCGCGTCCATGCCGTAGAACCCCGACTTCTGAATGTTGACCTCGGATC
 AGGTAGGAATACCCCTCAACTTAAGCATAT

Anexo 20*Secuencia consenso ITS para el aislado LUAD0316*

TGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGT
 TTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATAACCTTACTGTTGCCTCGGCGG
 ATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCCTA
 AACTCTGTTTCTATATGTAACCTTCTGAGTAAAACCATAAATAAATCAA
 AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
 CAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAA
 TCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTT
 CGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCCCTCGGGTTTGGTGTGGGGATCG
 GCGAGCCTTTCTGGCAAGCCGGCCCCGAAATCTAGTGGCGGTCTCGCT
 GCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTAAAACCCTCGCAACTGGAACGCGGCG
 CGGCCAAGCCGTTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAG
 GTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATC

Anexo 21*Secuencia consenso 28S para el aislado LUAD0312*

GAGGAAAAGGAACCAACAGGGATTGCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGC
 GGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCTTTCGGGCCCGAGTTGTAATT
 TAGTAGAGGATACTTTTGATGCGGTGCCTTCCGAGTTCCTGGAACGG
 GACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTCTGGTTGGATGCCAAATCTCTG
 TAAAGTTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATG
 GGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATATTGGCCAGAGACCGATAGCG
 CACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTT
 AAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGTTTATGACCAGACTTG
 GACTTGGTTAATCATCTGGGGTTCTCTCCAGTGCACCTTTCCAGTTCAG
 GCCAGCATCAGTTTTCGCCGGGGGATAAAGGCAGCGGGAATGTGGCTC
 TCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGCTGTGTAATACCCTGGTGGGGACTG
 AGGTTTCGCGCTTCTGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAACGACCC
 GTCTA

Anexo 22*Secuencia consenso 28S para el aislado LUAD0313*

AACCAACAGGGATTGCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCT
 CAAATTTGAAATCTGGCTTTCGGGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGAT
 ACTTTTGATGCGGTGCCTTCCGAGTTCCTGGAACGGGACGCCATAGA
 GGGTGAGAGCCCCGTCTGGTTGGATGCCAAATCTCTGTAAAGTTCCTT
 CGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGGGAGGTATATG
 TCTTCTAAAGCTAAATATTGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAG
 TGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTTAAAAAGTACGT
 GAAATTGTTGAAAGGGAAGCGTTTATGACCAGACTTGGACTTGGTTAA
 TCATCTGGGGTTCTCTCCAGTGCACCTTTCCAGTTCAGGCCAGCATCAG
 TTTTCGCCGGGGGATAAAGGCAGCGGGAATGTGGCTCTTTCGGGGAG
 TGTTATAGCCCGCTGTGTAATACCCTGGTGGGGACTGAGGTTTCGCGCT
 TCTGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAACGACCCGTCT

Anexo 23*Secuencia consenso 28S para el aislado LUAD0317*

GAGGAAAAGGAACCAACAGGGATTGCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGC
 GGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCTTTCGGGCCCCGAGTTGTAATT
 TGTAGAGGATACTTTTGATGCGGTGCCTTCCGAGTTCCTGGAACGGG
 ACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTCTGGTTGGATGCCAAATCTCTGT
 AAAGTTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATGG
 GAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATATTGGCCAGAGACCGATAGCGC
 ACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTTA
 AAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGTTTATGACCAGACTTGG
 ACTTGGTTAATCATCTGGGGTTCTCTCCAGTGCACTTTTCCAGTTCAGG
 CCAGCATCAGTTTTTCGCCGGGGGATAAAGGCAGCGGGAATGTGGCTCT
 CTCGGGGAGTGTTATAGCCCGCTGTGTAATACCCTGGTGGGGACTGA
 GGTTTCGCGCTTCTGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAACGACCCG
 TCTA

Anexo 24*Secuencia consenso 28S para el aislado LUAD0316*

GAGGAAAAGGAACCAACAGGGATTGCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGC
 GGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCTCTCGGGCCCCGAGTTGTAATT
 TAGTAGAGGATGCTTTTGATGCGGTGCCTTCCGAGTTCCTGGAACGG
 GACGCCATAGAGGGTGAGAGCCCCGTCTGGTTGGATGCCAAATCTCTG
 TAAAGCTCCTTCAACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCTAAATG
 GGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCG
 CACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTT
 AAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGTTTATGACCAGACTTG
 GACTTGGTTAATCATCTGGGGTTCTCCCCAGTGCACTTTTCCAGTTCAG
 GCCAGCATCAGTTTTCCCCGGGGGATAAAGGCAGCGGGAATGTGGCTC
 TCTTCGGGGAGTGTTATAGCCCGCCGTGTAATACCCTGGGGGGGACTG
 AGGTTTCGCGCATCTGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAACGACCC
 GTCTA

Anexo 25*Secuencia consenso TEF para el aislado LUAD0312*

CATCGAGAAAGTTCGAGAAGGTTAGTCAATATCCCTTCGATTGCGCGC
 TCCCATCGATCCCCACGACTCGCCCCTTCACTCGAAACGCATCCATTAC
 CCCGCTCGAGCCCGAAAATTTTGCGGTGCACCGTGATTTTTTTGGTGG
 GGTATCTTACCCCGCCACTCGAGTGACGGATGCGCTTGCCCTGTTCCCA
 CAAAACCTTACTACCCTGCCGCGCACTATCATATGTCTTGCAGTCACTA
 ACCACTGGACAATAGGAAGCCGCCGAGCTCGGAAAGGGTTCCTTCAA
 GTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAAGCCGAGCGTGAGCGTGGTAT
 CACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCTCGCTACTATGTC
 ACCGTCATTGGTATGTTGTCACTGTCTCATAACCACCATGCTTTCATGCT
 AACATCCCTCTCAGATGCCCCCGGTCATCGTGATTTTCATCAAGAACAT
 GATCACTGGGTTACCTCCA

Anexo 26*Secuencia consenso TEF para el LUAD0313*

TCATCGAGAAAGTTCGAGAAGGTTAGTCAATATCCCTTCGATTGCGCG
 CTCCCATCGATCCCCACGACTCGCCCCTTCACTCGAAACGCATCCATTA
 CCCCGCTCGAGCCCGAAAATTTTGCGGTGCACCGTGATTTTTTTGGTGG
 GGGTATCTTACCCCGCCACTCGAGTGACGGATGCGCTTGCCCTGTTCCC
 ACAAACCTTACTACCCTGCCGCGCACTATCATATGTCTTGCAGTCACT
 AACCACTGGACAATAGGAAGCCGCCGAGCTCGGAAAGGGTTCCTTCA
 AGTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAAGCCGAGCGTGAGCGTGGTA
 TCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCTCGCTACTATGT
 CACCGTCATTGGTATGTTGTCACTGTCTCATAACCACCATGCTTTCATGC
 TAACATCCCTCTCAGATGCCCCCGGTCATCGTGATTTTCATCAAGAACAT
 GATCACTGGGTTACCTCCA

Anexo 27*Secuencia consenso TEF para el aislado LUAD0317*

TCATCGAGAAAGTTCGAGAAGGTTAGTCAATATCCCTTCGATTGCGCG
 CTCCCATCGATCCCCACGACTCGCCCCTTCACTCGAAACGCATCCATTA
 CCCCCTCGAGCCCGAAAATTTTGCAGTGCACCGTGATTTTTTTGGTG
 GGGTATCTTACCCCGCCACTCGAGTGACGGATGCGCTTGCCCTGTTCCC
 ACAAACCTTACTACCCTGCCGCGCACTATCATATGTCTTGCAGTCACT
 AACCCTGGACAATAGGAAGCCGCCGAGCTCGGAAAGGGTTCCTTCA
 AGTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAAGCCGAGCGTGAGCGTGGTA
 TCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCTCGCTACTATGT
 CACCGTCATTGGTATGTTGTCACTGTCTCATACCACCATGCTTTCATGC
 TAACATCCCTCTCAGATGCCCCCGGTCATCGTGATTTTCATCAAGAACAT
 GATCACTGGGTTACCTCCA

Anexo 28*Secuencia consenso TEF para el aislado LUAD0316*

CATCGAGAAAGTTCGAGAAGGTTAGTCACTTTCCCTTCGATCGCGCGC
 CCTTTTGCCCATCGATTTCCCCTTCGACTCGCCGCTCCCATACTCG
 AACCTGCCCGCTACCCCGCTCGAGGCCAAAATTTTGCAGTGCACCG
 GTAATATTTTTTGGTGGGGCATTACCCCGCCACTCGAGACGGGCGCG
 CTTGCCCTCTTCCACACAATCACAATGAGCGCGGATCATCACGTGTC
 AACAGTAACTAACCCTCAATAATAGGAAGCCGCTGAGCTCGGTAA
 GGGTTCCTTCAAGTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAAGCCGAGCG
 TGAGCGTGGTATCACCATCGATATTGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCT
 CGCTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTGTCGCTAATGTCTCATACA
 ATCATCATTGTAATAACGTTTCATCCAGACGCTCCCGGTCACCGTGATT
 TCATCAAGAACATGATCACTGGGTTACCTCCA

Anexo 29*Secuencia consenso TEF para el aislado LUAD0314*

TCATCGAGAAAGTTTCGAGAAGGTTAGTCACTTTCCCTTCGATCGCGCG
 TCCTTTGCCCATCGATTTCCCCTACGACTCGAAATGTGCCCGCTACCCC
 GCTCGAGACCAAAAATTTTGCAATATGACCGTAATTTTTTTTGGTGGG
 GCACTTACCCCGCCACTTGAGCGACGGGAGCGTTTGCCCTCTTAACCA
 TTCTCACAACCTCAATGAGTGCGTCGTCACGTGTCAAGCAGTCACTAA
 CCATTCAACAATAGGAAGCCGCTGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGT
 ACGCCTGGGTTCCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCA
 CCATCGATATTGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCTCGCTACTATGTCAC
 CGTCATTGGTATGTTGTCGCTCATGCTTCATTCTACTTCTCTTCGTA
 ACTA
 ACATATCACTCAGACGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATG
 ATCACTGGGTACCTCCA

Anexo 30*Secuencia consenso TEF para el aislado LUAD0315*

TCATCGAGAAAGTTTCGAGAAGGTTAGTCACTTTCCCTTCGATCGCGCG
 TCCTTTGCCCATCGATTTCCCCTACGACTCGAAATGTGCCCGCTACCCC
 GCTCGAGACCAAAAATTTTGCAATATGACCGTAATTTTTTTTGGTGGG
 GCACTTACCCCGCCACTTGAGCGACGGGAGCGTTTGCCCTCTTAACCA
 TTCTCACAACCTCAATGAGTGCGTCGTCACGTGTCAAGCAGTCACTAA
 CCATTCAACAATAGGAAGCCGCTGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGT
 ACGCCTGGGTTCCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCA
 CCATCGATATTGCTCTCTGGAAGTTCGAGACTCCTCGCTACTATGTCAC
 CGTCATTGGTATGTTGTCGCTCATGCTTCATTCTACTTCTCTTCGTA
 ACTA
 ACATATCACTCAGACGCTCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATG
 ATCACTGGGTACCTCCA