



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**“IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA Y AISLAMIENTO DE
MICROORGANISMOS ENDÓFITOS DE FRUTOS NATIVOS
DE *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense*”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO DE
BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

AUTOR:

ALFARO PÉREZ, GÍDER
AVILA PAREDES, DORIS KELLY

ASESOR:

Mg. HUALPA CUTIPA, EDWIN

LIMA – PERÚ

2019

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
INFORME DEL TRABAJO DE INVESTIGACION

Yo, **Mg. EDWIN HUALPA CUTIPA**, docente de la asignatura Seminario de Tesis II, de la Universidad María Auxiliadora; en mi condición de docente de investigación según el Artículo 10 de la **Resolución CU N°018-2019-UMA**, expreso mi conformidad con el trabajo de investigación presentado por los bachilleres:

N°	Bachiller	Trabajo de Investigación
1	GÍDER ALFARO PÉREZ	IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA Y
2	DORIS KELLY ÁVILA PAREDES	AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS ENDÓFITOS DE FRUTOS NATIVOS DE <i>Capsicum baccatum</i> y <i>Capsicum chinense</i> .

Declaro que el trabajo de investigación se ha elaborado según lineamientos de la resolución **CU N°071-2019-UMA**.

Lima, 13 de Diciembre de 2019



Mg. Edwin Hualpa Cutipa

Docente Seminario de Tesis II

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a Dios, por darnos la vida y permitirnos llegar a este momento importante en nuestra formación profesional.

A nuestros padres y familiares por su apoyo, consejos, guía y comprensión en momentos difíciles por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por darnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, por el apoyo y fortaleza en momentos de dificultad y debilidad.

Un Agradecimiento especial al Mg. Edwin Hualpa Cutipa, docente investigador, asesor de la presente investigación. Por su apoyo orientación y consejo.

Agradecemos a nuestros compañeros, y a todas las amistades y amigos que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este trabajo de investigación.

Agradecemos a nuestros docentes por haber compartido sus conocimientos y sabios consejos a lo largo de nuestra carrera, y a la Universidad, por darnos la facilidad y acceso de los laboratorios para concluir este trabajo.

RESUMEN

En el siguiente trabajo de investigación se tuvo como **objetivo** determinar los componentes bioactivos y microorganismos presentes en frutos nativos de *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense*. La **metodología** empleada para alcanzar este objetivo fue recolectar los frutos de ajíes nativos que son cultivados en Huaral, para analizar los componentes bioactivos se realizó una maceración de frutos de ambas especies para así obtener el extracto seco, esta identificación fue hecha aplicando diferentes pruebas. Con respecto a los microorganismos fueron obtenidos a partir de los frutos triturados y se sembraron en diferentes tipos de agar con la finalidad de encontrar diversidad de hongos y bacterias. Los principales **resultados** obtenidos en este estudio con respecto a metabolitos secundarios encontrados como azúcares reductores, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, quinonas, lactonas, y alcaloides, la presencia de estos metabolitos probablemente confieren características medicinales a estos frutos de ajíes nativos. Por otra parte se logró aislar diferentes bacterias y hongos endófitos; dentro del grupo de las bacterias se encontraron bacterias que pertenecían a grupos Gram+ con formas de cocos y bacilos en el caso de los hongos se identificó parcialmente ciertos géneros como *Aspergillus sp*, *Colleotricum sp*, *Trichoderma sp*, *Penicillium sp*. La presencia de estos microorganismos evidencia que las plantas de ajíes nativos conviven simbióticamente con una diversidad de microorganismos, dándole ciertas ventajas competitivas frente a diferentes tipos de estrés. En **conclusión** en este trabajo se identificó la presencia de metabolitos secundarios en los ajíes nativos evaluados, lo cual concuerda con estudios previos realizados por otros autores, además se logró el aislamiento de microorganismos endófitos a partir de estos frutos.

Palabras claves. Ají escabeche, Ají limo, Metabolito secundario.

ABSTRACT

In the following research work, the **objective was to** determine the bioactive components and microorganisms present in native fruits of *Capsicum baccatum* and *Capsicum chinense*. The **methodology** used to achieve this objective was to collect the fruits of native peppers that are cultivated in Huaral, to analyze the bioactive components a fruits maceration of both species was made to obtain the dry extract, this identification was made applying different tests. With respect to the microorganisms, they were obtained from the crushed fruits and sowed in different types of agar in order to find diversity of fungi and bacteria. The main **results** obtained in this study with respect to secondary metabolites found as reducing sugars, amino acids, phenolic compounds, flavonoids, tannins, quinones, lactones, and alkaloids, the presence of these metabolites probably confer medicinal characteristics to these fruits of native peppers. On the other hand it was possible to isolate different bacteria and endophyte fungi; within the group of bacteria were found bacteria belonging to Gram+ groups with forms of coconuts and bacilli. In the case of fungi, certain genera were partially identified such as *Aspergillus sp*, *Collecotricum sp*, *Trichoderma sp*, *Penicillium sp*. The presence of these microorganisms evidences that native pepper plants coexist symbiotically with a diversity of microorganisms, giving them certain competitive advantages against different types of stress. In **conclusion** in this work was identified the presence of secondary metabolites in the evaluated native peppers, which agrees with previous studies carried out by other authors, in addition was achieved the isolation of endophytic microorganisms from these fruits.

Keywords. Pickled chili, Lime chili, Secondary Metabolite.

ÍNDICE

PORTADA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INDICE	vi
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Planteamiento del problema	2
1.2. Formulación del problema	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. Justificación	4
2 MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.1.1 Tesis Internacionales	5
2.1.2. Tesis Nacionales	7
2.2. Base teórica	9
2.2.1. Origen del <i>Capsicum</i>	9
2.2.2. Historia de los <i>Capsicum</i> en el Perú	9
2.2.3. Características principales del género <i>Capsicum</i>	9
2.2.4. Usos de los <i>Capsicum</i>	10
2.2.5. Manejo del cultivo y época de siembra	12
2.2.6. Metabolitos secundarios	13
2.2.7. Capsaicina	13
2.2.8. Oleorresina	13
2.2.9. Especies	14

	2.2.9.1. <i>Capsicum chinense</i> (Ají limo)	15
	2.2.9.2. <i>Capsicum baccatum</i> (Ají Escabeche)	15
	2.2.10. Microorganismos endófitos	16
	2.2.10.1. Caracterización molecular de microorganismos	17
	2.2.10.2. Aplicación y uso de microorganismos	17
	2.2.10.3. Tipos de Microorganismos	18
	2.3. Definición de términos básicos	21
	2.4. Hipótesis	21
3	METODOLOGÍA	22
	3.1. Tipo de investigación	22
	3.2. Nivel de investigación	22
	3.3. Diseño de la investigación	22
	3.4. Área de estudio	22
	3.5. Población y muestra: Criterios de inclusión y exclusión	22
	3.6. Variables y operacionalización de variables	23
	3.7. Procedimiento de recolección de datos	23
	3.7.1. Recolección y procesamiento de la especie vegetal	23
	3.7.2. Preparación del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> “ají escabeche” y <i>Capsicum chinense</i> “ají limo”	23
	3.7.3. Análisis cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Capsicum baccatum</i> “ají escabeche” y <i>Capsicum chinense</i> “ají limo”.	24
	3.7.4. Protocolo de desinfección de los frutos <i>Capsicum baccatum</i> “ají escabeche” y <i>Capsicum chinense</i> “ají limo” para aislamiento de microorganismos endófitos.	25
4	RESULTADOS	26
	4.1. Identificación de los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de <i>Capsicum baccatum</i> .	26
	4.2. Identificación de los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de <i>Capsicum chinense</i> .	27
	4.3. Aislamiento de los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de <i>Capsicum baccatum</i> .	27

4.4.	Aislamiento de los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de <i>Capsicum chinense</i> .	34
5.	DISCUSIÓN	40
6.	CONCLUSIONES	41
7.	RECOMENDACIONES	42
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
9.	ANEXOS	48
9.1.	Matriz de consistencia	48
9.2.	Constancia de identificación taxonómica.	49
9.3.	Recolección de frutos de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	51
9.4.	Recolección de frutos de <i>Capsicum chinense</i> ají limo	52
9.5.	Prueba fitoquímica del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Capsicum baccatum</i>	53
9.6.	Prueba fitoquímica del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Capsicum chinense</i>	54
9.7.	Aislamiento y sembrado de microorganismos provenientes de ajíes <i>Capsicum baccatum</i> y <i>Capsicum chinense</i> en placas Petri.	55

LISTA DE FIGURAS

Fig 1. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	29
Fig 2. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	29
Fig 3. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	29
Fig 4. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	30
Fig 5. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	30
Fig 6. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	30
Fig 7. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	31
Fig 8. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	31
Fig 9. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	31
Fig 10. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	32
Fig 11. Hongo endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	32
Fig 12. Hongo endófitas aislado del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	32
Fig 13. Hongo endófitas aislado del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	33
Fig 14. Hongo endófitas aislado del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	33
Fig 15. Hongo endófitas aislado del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> ají escabeche.	33
Fig 16. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	35
Fig 17. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	36
Fig 18. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	36
Fig 19. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	36
Fig 20. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	37
Fig 21. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	37
Fig 22. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	37
Fig 23. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	38
Fig 24. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	38
Fig 25. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	38
Fig 26. Bacteria endófitas aislada del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	39
Fig 27. Hongo endófitas aislado del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	39
Fig 28. Hongo endófitas aislado del fruto de <i>Capsicum chinense</i> ají limo.	39
Fig 29. Pruebas de coloración y precipitación.	53

LISTA DE TABLAS

Tabla N°1. Ajíes peruanos más conocidos.	14
Tabla N° 2. Reactivos utilizados en el análisis cualitativo fitoquímico.	24
Tabla 3. Compuestos bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de <i>Capsicum baccatum</i> .	26
Tabla 4. Compuestos bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de <i>Capsicum chinense</i> .	27
Tabla 5. Microorganismos endófitos aislados del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> “ají escabeche”	28
Tabla 6. Bacterias y hongos observados macroscópicamente.	28
Tabla 7. Microorganismos endófitos aislados del fruto de <i>Capsicum chinense</i> “ají limo”	34
Tabla 8. Bacterias y hongos observados macroscópicamente.	35

INTRODUCCIÓN

Los frutos de ajíes son utilizados en culinaria y medicina, además han contribuido considerablemente en la industria y la salud de la humanidad para la prevención de enfermedades; manteniendo su trascendencia y uso tradicional. En el Perú son utilizados en gastronomía y como antiinflamatorio, analgésico, cicatrizante, antiespasmódico, antirreumáticas, y antibacteriano. Estos productos naturales, hoy en día son considerados como una de las “medicinas” más significativas por su efectividad terapéutica. Los estudios científicos relacionados a estos frutos han demostrado la presencia de metabolitos secundarios, los cuales probablemente sean los responsables de los efectos farmacológicos de estos frutos.

Este estudio es de importancia para la comunidad ya que aporta beneficios terapéuticos como especies nativas que pretende contribuir al conocimiento fitoquímico de los frutos puesto que los reportes de metabolitos y aislamiento de microorganismos endófitos de estas localidades son escasos; por ello se pretende determinar los compuestos bioactivos presentes así como, aislar bacterias y hongos endófitos.

Tiene como propósito dar a conocer la importancia del estudio de los frutos que fueron obtenidos de la ciudad de Huaral, ya que estos productos tienen una alta demanda en la población debido a los diversos usos. Presentando la formulación del problema, el problema principal, problemas secundarios los cuales están alineados a los objetivos planteados, así como la justificación, limitaciones y viabilidad del trabajo.

Se presentan los antecedentes de la investigación que tienen por objetivo Determinar los componentes bioactivos y microorganismos presentes en frutos nativos de *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense*, para conocer sus metabolitos que poseen, además bacterias y hongos endófitos que habitan en los frutos.

En el desarrollo metodológico se empleó diversas estrategias donde se definió que el estudio era básico, exploratorio y descriptivo simple; también se realizó una breve descripción del lugar donde se desarrolló el estudio, y en una tabla de variables se plasmó los indicadores, escala y dimensiones del estudio.

Se describe los resultados mediante imágenes y tablas, al igual que las discusiones, conclusiones y recomendaciones que se llega producto de la investigación, finalmente se menciona las fuentes de información que comprende la bibliografía que se utiliza para el desarrollo del presente trabajo.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

A nivel mundial, los *Capsicum* presentan una elevada variedad de especies (*Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens* y *Capsicum pubescens*), dichas especies y variedades tienen gran diversidad de sabores, colores, formas, además contienen grandes cantidades de metabolitos; oleorresina, capsaicina y otras. Estas especies son cultivadas y difundidas en todo el mundo con diferentes denominaciones como: Ají, chile, pimiento, chili pepper. La trascendencia que presentan estos ajíes se mantiene constante debido al uso que le dio el hombre en tiempos remotos por sus características propias (8).

En América latina la aparición del género *Capsicum* y su diversidad data de 10,000 años aproximadamente, lo cual ha contribuido a enriquecer el ámbito culinario, social, religioso, cultural, medicinal y económico (8).

El Perú, es denominado como el país con mayor diversidad nativa de *Capsicum*. El ají escabeche "*Capsicum baccatum*" y el ají limo "*Capsicum chinense*" son considerados ajíes de mayor importancia por su alto contenido de capsaicinoides, compuestos fenólicos y sus propiedades antioxidantes. Estos frutos se encuentran distribuidos mayormente en los departamentos de: Ica, La Libertad, Tacna, Loreto y Lima debido a que presenta un clima favorable para su cultivo (7).

El distrito de Huaral, por presentar temperaturas que oscilan entre los 25°C es un lugar apto para el cultivo de *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense*. Además, estos frutos interactúan con microorganismos endófitos y epifitos, benéficos y otras causantes de enfermedades donde afectan la calidad de los frutos (10). La diversidad poblacional de microorganismos es variable, dependiendo de la especie, genotipo, estado de desarrollo del fruto y condiciones ambientales en la que se cultiva. Sin embargo pocos estudios acerca de los metabolitos y microorganismos endófitos en estos frutos han sido realizados. Por lo tanto es primordial conocer las características fitoquímicas de estos frutos y la diversidad de microorganismos que habitan en ella. Para lo cual este proyecto de investigación se pretende identificar metabolitos y microorganismos endófitos presentes en los frutos; para generar una mayor información.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuáles son los componentes bioactivos y microorganismos endófitos presentes en frutos nativos de *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense*?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cuáles son los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico de frutos nativos de *Capsicum baccatum*?

¿Cuáles son los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico de frutos nativos de *Capsicum chinense*?

¿Cuáles son los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum baccatum*?

¿Cuáles son los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum chinense*?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar los componentes bioactivos y microorganismos presentes en frutos nativos de *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense*.

1.3.2. Objetivos específicos

Identificar los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de *Capsicum baccatum*.

Identificar los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de *Capsicum chinense*.

Aislar los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum baccatum*.

Aislar los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum chinense*.

1.4. Justificación

Teóricamente este estudio se justifica debido a que se genera información acerca de los ajés nativos que presentan componentes bioactivos y microorganismos endófitos, que constituyen una parte fundamental de la biodiversidad y alimentación. Con propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antibacterianas y antioxidantes. Las cuales requieren una validación científica.

Metodológicamente el presente estudio se justifica debido a que se aplicó una metodología específica para el procesamiento de las muestras biológicas. Se realizó una secuencia de pruebas que permite reconocer los componentes bioactivos; se aplicó métodos de aislamiento para identificar la presencia de microorganismos que habitan los frutos.

Socialmente se justifica debido a que los datos obtenidos mediante las pruebas y métodos realizados a dichas especies nativas proporcionaran información sobre las propiedades medicinales y producción de estos frutos para generar conocimiento e informar a la población diaria del potencial farmacológico dando una revaloración y valor agregado.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.2.1. Tesis Internacionales

Mejía (2), caracterizó metabolitos secundarios en especies de *Capsicum*. Analizó la humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido. Los métodos que empleó fueron: separación Soxhlet con etanol absoluto y por inmersión con etanol absoluto. Demostrando que el *Capsicum annuum* 80.15%, *pubescens* 83.95%, y *chinense* 69.85%, presentan elevados porcentajes de humedad y que los niveles de cenizas totales en los tres tipos son menores a 8.5% de lo determinado en la Norma NTE INEN 2532:2010. Concluye que el *Capsicum annuum L*, la variedad que posee mayor porcentaje de capsaicinoides mediante la técnica de Soxhlet (34.35%), asimismo la determinación de alcaloides confirma la presencia de los mismos en las tres variedades de ajíes.

Rozete (3), realizó la caracterización fitoquímica de 6 variedades de *Capsicum chinense Jacq.* A través de la cuantificación de capsaicinoides, carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante por el método de reducción DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo). Además, evaluó la presencia de metabolitos secundarios por comparación con estándares comerciales utilizando cromatografía líquida acoplada a un detector UV (HPLC-UV) y cromatografía líquida acoplada a un detector de masas en tándem (HPLC MS/MS). Demostraron un valioso concentrado de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina). El picor obtenido del análisis sensorial encontrando una relación directa entre ambos parámetros ($r=0.8956$) y en el análisis fitoquímico encontraron un alto contenido en fenoles, ácido ascórbico y tocoferoles, lo cual presenta una gran actividad antioxidante.

Palacios (4), realizó la caracterización morfológica de 93 accesiones de *Capsicum spp*, que permitió afirmar la disposición de variabilidad dentro de la especie, en específico los descriptores del diseño de la planta, estructuras reproductivas y productividad que explicaron el 78% de la variabilidad total (determinación de compuestos primordiales). La distancia DICE

(coeficiente de similitud) posibilitó crear grupos de acuerdo a su origen y caracteres de flor y fruto, inconvenientemente no permitió apartar entre especies. El análisis discriminante permitió deducir que las cortas distancias genéticas entre *C. annuum*, *C. baccatum* y *C. chinense* puede revelar que estas especies conforman un solo grupo morfológico.

González, Almaraz et al (5), aislaron cepas de rizobacterias de suelos de la región de la serranía de México, para estimar su contenido y su empleo en la promoción del desarrollo de plántulas en chile poblano. Las cepas fueron caracterizadas por su magnitud para solubilizar fosfatos, sostener nitrógeno y producir auxinas. Aislaron 215 cepas, de las cuales 74 fueron solubilizadoras de fosfatos, 70 cepas tuvieron disposición para desarrollarse en medio exento de Nitrógeno, 71 cepas produjeron entre 20 y 27 $\mu\text{g/mL}$ de indoles. Las cepas inoculadas mejoraron significativamente el desarrollo del vegetal (Tukey, $p < 0.05$). De estos microorganismos *Serratia plymuthica* CPPC55 y *Rhizobium nepotum* CPAC35, presentaron las mejores características de incremento en elevación, área foliar con más de un 20 %. Ambas cepas pueden ser usadas para agigantar la calidad de plántulas de chile poblano, lo cual podría acreditar un mejor establecimiento y cuidado de éstas en la agricultura.

Cabra, et al (6), aislaron e identificaron microorganismos encontrados en los residuos del fruto de *Ricinus communis*. Usaron medios de cultivo selectivos para la determinación morfológica y bioquímica y para la tipificación molecular se utilizó el sistema de PCR con oligonucleótidos universales RM y RB del gen 16S para bacterias y secuencias intergénicas ITS1 e ITS4 para hongos y levaduras. Las secuencias fueron analizadas identificándose nueve especies de hongos, siendo *Penicillium brevicompactum* el sobresaliente; 12 especies de bacterias, en donde la especie más recurrente fue *Bacillus* sp.; y dos especies de levaduras, *Rhodosporidium paludigenum* y *Pichia burtonii*. La identidad de la microbiota nativa vigente en los residuos de higuera es estrechamente promisorio, aportando un amplio entendimiento relacionado a la variación metabólica de cada una de las cepas aisladas. La superior cifra de aislamientos se obtuvo de la masa, posiblemente debido al elevado contenido de nutrientes presentes en este residuo.

2.2.1. Tesis Nacionales

Ríos (7), analizó que el *Capsicum baccatum* es considerado el ají de mayor importancia cultivado en el Perú. En su descripción mencionó la finalidad de generar información útil para un proceso de mejoramiento genético para su caracterización agromorfológica. Se empleó el estudio de varianza (para aprobar la aptitud de los descriptores) a una probabilidad 5%, el cual incluyen medidas de disposición y esparcimiento (media, desviación estándar y coeficiente de variación). Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre selecciones en la totalidad de caracteres, especialmente en los concernientes con el producto. Recomendando realizar ensayos en áreas como: densidad de siembra, niveles de fertilización, entre otros aspectos.

Espinoza (8), confirmó una alta similitud entre los nombres comunes usados en las zonas de origen de los ajíes y los datos de identificación morfológica con el objetivo de profundizar los conocimientos acerca de los ajíes nativos del Perú. La denominación para la accesión 76 (ají verde) se confunde con el ají verde de Tumbes y Piura, que pertenece a la especie *C. baccatum*. La denominación para la accesión 90 (ají mochero) se confunde con el ají mochero de La Libertad, que es un ají característico de color amarillo y planta de porte bajo. El autor menciona que en un futuro sería recomendable revisar la denominación de estos ajíes para evitar confusiones tanto en la siembra como en los mercados.

Chávez (9), identificó la presencia de fitopatógenos fúngicos en frutos de cuatro especies de *Capsicum*. Realizaron la búsqueda con el propósito de identificar hongos y bacterias que albergan de manera normal en frutos luego de su recolección. Además evaluaron que se comercializan de manera normal y no es fiscalizado por ninguna entidad. Posteriormente se observó que en su mayoría llevan consigo infecciones causadas por fitopatógenos de diferente etiología debido a que no son asépticas. Concluyeron que el ají escabeche (*Capsicum baccatum*) de coloración naranja, comúnmente suelen ser afectados por hongos *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.* Y *Cladosporium sp* y el ají limo (*Capsicum chinense*) de color rojo y naranja son dañados por

hongos *Fusarium sp.*, *Rhizopus stolonifer* y *Cladosporium sp.* Y no encontraron infección por bacterias.

Castañeda y Salazar (10), evaluaron la composición química de tres extractos de *Capsicum pubescens*. En el estudio fitoquímico utilizaron el método de Ciulei, en el cual detectaron elevado contenido de agua (90%), y capsaicinoides como: capsaicina en 32,9% y dehidrocapsaicina en 53,2%. Los pimientos rojos maduros, presentan un elevado contenido de compuestos antioxidantes y constituyen un filtro elemental de vitamina C, vitamina A y licopeno, siendo uno de los alimentos desintoxicantes crecidamente significativo. Concluyeron que en todos los extractos predominaron los alcaloides. Además detectaron grasas, aceites, lactonas, coumarinas, triterpenos, esteroides, catequinas, resinas, azúcares reductores, fenoles y taninos.

Villavicencio (11), caracterizó la actividad químico-nutricional y antioxidante de dos variedades de rocoto (rojo y amarillo). La composición de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina) fue evaluado tanto en pulpa como en placenta + semillas por intermedio de HPLC. El contenido de capsaicinoides fue escaso en la pulpa, siendo la dihidrocapsaicina la de superior concentración. El contenido total de capsaicinoides del rocoto amarillo fue superior al del rojo tanto en pulpa (101.6 vs. 35.25 $\mu\text{g/g}$ de espécimen fresca) como en placenta + semillas (893.5 vs. 340.3 $\mu\text{g/g}$ espécimen fresca). El contenido de polifenoles totales, determinado a través de la técnica espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, fue más en el rocoto amarillo (58.6 versus 46.1 mg EAG/100 g de espécimen fresca). La eficacia antioxidante in vitro, es determinada a través del ensayo ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno), muestra que el rocoto amarillo tiene superior acción que el rocoto rojo (1137.9 - 1060.1 $\mu\text{mol ET}$ en 100 g de espécimen fresca).

2.2. Base teórica

2.2.1. Origen del *Capsicum*

La familia *Capsicum*, lo conforma más de 25 especies, domesticados a partir de épocas antiguas en Centro y Sudamérica. Los denominados “ajíes” tienen inicios en la región andina, destacando la Selva, Alto Perú y actualmente Bolivia, desde entonces se dispersaron por todo el continente, por intermedio de aves, quienes al acabar los frutos, dispersaban las semillas mediante sus excreciones (9).

2.2.2. Historia de los *Capsicum* en el Perú

Cerca de 10,000 a.C., con la aparición de los primeros habitantes a los Andes centrales, se cree que consumían ají silvestre en su dieta diaria. En el año 8,000 a.C. se domestica el ají, resultando ser una de las especies vegetales cultivadas en América del Sur. Data del año 3,000 a.C. en donde se usó como condimento en Caral (civilización más antigua de América). En el año 500 a.C.-200 a.C. (Horizonte temprano) se empleó en los mantos funerarios Paracas, y es tallado en el obelisco Tello, de la civilización Chavín. En el año 200 a.C.-500 a.C. (Intermedio temprano) en las culturas Mochica, Nazca y la cultura Salinar (La Libertad) se cultiva el ají limo. En la fase del Tahuantinsuyo el ají es utilizado como condimento, capital, mercancía, implemento de mitos y rituales mágico-religiosos. Con la llegada de los españoles, la mayoría de especias nativas fueron dejadas de lado, esto debido a que los insumos provenientes de Europa eran considerados de primera clase y mayor prestigio, siendo el privilegio del ají, el cual subsistió a la aparición de los españoles y se posicionó como un ingrediente esencial en la nutrición. De este modo, platillos propios de la nutrición española, empezaron a incluirlos en su preparación y el ají se fue posicionando en las comidas. Hoy en día el ají es un ingrediente antiguo en todas las formas peruanas de combinación culinaria (8).

2.2.3. Características principales del género *Capsicum*

Los *Capsicum* son plantas anuales, que presentan tallos erectos, herbáceos y ramificados de tonalidad verde oscuro. Presentan hojas planas, simples y de manera lanceolada u ovoide alargada. Sus flores son perfectas

normalmente tienen cinco sépalos, pétalos, estambres y pistilos. Los pétalos (o corola), estambres y pistilos pueden ser de tonalidad blanco, blanco verdoso, verde-amarillo y morado a veces púrpura, se forman en las axilas de las ramas. La coloración varía dependiendo de las especies y variedades. Para lograr fusionar las cinco especies domesticadas de *Capsicum* evaluamos la coloración de las semillas, de los filamentos, la corola y sus modelos, y el número de flores por nexo. El medio radicular llega a profundidades de 30-60 cm, y lateralmente se extiende incluso unos 30-50 cm del soporte, sin embargo la totalidad de las raíces están a una hondura de 5 a 40 cm. La elevación media del vegetal es de 60 cm, pero este varía según el sembrado del cual se trate. El producto se define como una baya, que presenta diferentes colores y formas según la diversidad. Del intrínseco cóncavo, presenta de dos a cuatro costillas que dividen el interior del producto, estas costillas sirven asimismo de sostén de las semillas, que habitualmente es de tonalidad amarillo pálido, excepto *C. pubescens* que posee semillas de tonalidad negro (9).

2.2.4. Usos de los *Capsicum*

a. En la alimentación:

La familia *Capsicum* tiene especies, variedades usadas en alimentos populares y en la culinaria. Los tipos picantes se usan en fresco (sean verdes o maduros), en encurtidos, secos (enteros o convertidos en cenizas) o como especia industrializada. Los tipos dulces (no picantes) son utilizados en verde como una hortaliza, incluso se consumen maduros, frescos, encurtidos, asados y cocinados de múltiples formas, secos, en harina o en lata (8).

b. En la agroindustria:

Se utilizan las oleorresinas de *Capsicum*, extractos de particularidad oleosa, que provee compuestos aromáticos, pungentes y carotenoides, obtenidos de la separación de los ajíes deshidratados con solventes orgánicos (hexano, acetato de etilo o acetona), asimismo se puede utilizar bajas temperaturas con dióxido de carbono supercrítico (ScCO₂) que muestran resultados crecidamente satisfactorios en cuanto a pureza, integridad de los

carotenoides y separación de los mismos en la oleoresina obtenida. Están compuestas en su conjunto por la capsaicina, dihidrocapsaicina, capsantina y capsorrubina; las dos primeras resultan responsables de la pungencia y las otras dos de color naranja o rojiza de los frutos, y en mínima magnitud de compuestos volátiles, debido a la merma producida en el tiempo de la separación. Las oleoresinas de *Capsicum* picantes, se extraen especialmente de variedades de *C. annuum* y se usan como aditivos en la preparación cárnica, picadillos, cerdo ahumado, sopas deshidratadas, salsas, bebidas gaseosas y variedades de snack (8).

c. En la ganadería:

El *Capsicum* se usa en la producción de alimentos balanceados para pollos y gallinas ponedoras, con la solución de proporcionar pigmentación en la carne y las yemas de los huevos. En la veterinaria los ajíes picantes se han utilizado como provocador libidinoso en las gallinas (8).

d. En la medicina:

Son usados para calmar y alternar problemas como malestares de la tos, resfriados, la bronquitis, el asma y para la garganta irritada y congestionada, empleándolos en gárgaras o infusiones de ajíes macerados o de hojas del vegetal. En cenizas se usan para picaduras de insectos, quitar los efectos de la sarna y piojos. Se usa inclusive para el desvanecimiento debido a las grandes alturas (soroche), frotando ají tostado en la frente. El ají también beneficia a la producción de bilis, siendo de gran beneficio para personas estreñidas. Quita el malestar de oído causado por el frío o por el viento y elimina la punzada de muelas. En modo de emplastos y parches desafía malestares reumáticos y musculares. Las semillas se usan como analgésicos en muelas con caries (8).

e. En la defensa personal:

Existen “aerosoles de pimienta”, que son usados por policías y civiles que desean poseer algún instrumento para defenderse ante un escenario de peligro. Estos aerosoles contienen capsaicina, en una agrupación de un 15%.

En un acercamiento a la cara, la víctima sufre una inmensa quemazón en los ojos e impedimento para exhalar (8).

f. En la agricultura:

Existen insecticidas formulados con concentraciones de capsaicina que tienen una resistente emanación fumigante y repulsivo referente plagas esencialmente picadoras-chupadoras. Tenemos el Bioxter, concentrado de ajíes como una cosecha común utilizado en Programas de Conducción Integrado de Plagas y el Capsialil, la concentración de *Capsicum spp.* y *Alium sativum*, utilizado como repulsivo e desagradable orgánico de insectos, incluso utilizado en Programas de Manejo Integrado de Plagas y Manejo Integrado de cultivos (8).

g. En rituales religiosos y mágicos:

Se utiliza en ceremonias religiosas y en civilizaciones de muchos pueblos americanos. Los curanderos de los Andes peruanos lo emplean en sus rituales adivinatorios y para sahumar a las personas que han sido poseídas por algún espíritu. Asimismo, se preserva en la civilización mexicana, a partir de épocas prehispánicas, en las regiones aisladas del sur del país en el que aún se realizan ceremonias dando ofrendas a los dioses o los santos cristianos para sugerir una buena producción o el amparo de sus siembras, invocando a los espíritus de las semillas del ají (8).

2.2.5. Manejo del cultivo y época de siembra

El sembrado debe hacerse en los meses de baja temperaturas (18°C a 25°C), en temperaturas elevadas puede desplegar problemas en el incremento del producto. La costa del Perú ofrece ambientes climáticos aptos para la obtención de ajíes, en la Costa Central como el Valle de Chancay-Huaral, Supe, Barranca, el ají escabeche se cultiva a partir de julio a diciembre. La recolección en fresco de ajíes escabeche y limo no debe encajar con los meses de ascendente clima, en tal caso se puede hacer en seco (4).

2.2.6. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son producidos por los vegetales en una variedad de compuestos orgánicos que no participan en el metabolismo primario, es decir que no participan en roles conocidos en los procesos de asimilación, transporte, asimilación y diferenciación de los metabolitos primarios, por poseer una distribución limitada en la vegetación, es notorio que un producto es peculiar, el metabolito secundario usualmente se encuentra solo en las especies taxonómicas relacionadas. A través de los años el hombre ha usado los metabolitos secundarios con distintos propósitos, entre los que se destacan los usos como colorantes, insecticidas, saborizantes, fragancias, drogas terapéuticas, aditivos y cosméticos.

La principal función que se le atribuye a los metabolitos de estos grupos de especies vegetales es la protección y defensa frente al ataque de herbívoros y las infecciones microbianas, ambientales o virales, aunque también funcionan como atrayentes de insectos polinizadores y como agentes de competición planta-planta (1).

2.2.7. Capsaicina

Es un alcaloide del grupo de los compuestos naturales (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida) siendo la oleoresina, el ingrediente activo de los pimientos picantes (*Capsicum*). La capsaicina es un compuesto irritante para los mamíferos; produce una resistente sensación de quemazón en la zona bucal. La capsaicina y otros compuestos relacionadas se conocen como capsaicinoides y se desarrollan como un metabolito circunstancial de múltiples variedades de *Capsicum*, lo cual les dificulta ser consumidas por animales herbívoros. Las aves en general no resultan sensibles a los capsaicinoides. La capsaicina pura es un agregado lipofílico, inodoro, incoloro, semejante a la cera (12).

2.2.8. Oleoresina

Las oleorresinas son obtenidas de plantas de diversas especies son de naturaleza oleosa son las responsables de darle a los productos color sabor y percepción picante. Se aplican en todo los continentes como uno de los

ingredientes indispensables en los preparados alimenticios además son empleados en industria cosmética farmacéutico y como insecticidas (22).

2.2.9. Especies

Entre las especies de *Capsicum* utilizadas, tenemos cinco de las cuales son cultivadas en algunas zonas de la sociedad, se diferencian en el número y coloración de sus flores y además en el modo, tamaño y constitución de sus frutos, todas estas especies pertenecen a la descendencia de las solanáceas (13).

Entre ellas tenemos.

- ✓ *Capsicum Annum*
- ✓ *Capsicum Pubences*
- ✓ *Capsicum Frutescens*
- ✓ *Capsicum Chinense*
- ✓ *Capsicum Pendulum.*

AJÍES PERUANOS MÁS CONOCIDOS

Tabla N°1 Ajíes peruanos más conocidos.

Tipos de ajíes	Nombre científico	Nombre común	Principales regiones de producción
Principales	<i>Capsicum pubescens</i> <i>Capsicum baccatum</i> <i>Capsicum chinense</i>	Rocoto Ají amarillo Ají panca	Valle interandino, ceja de selva y selva alta. Costa, centro y sur Costa, centro y sur
Medianos	<i>Capsicum baccatum</i> L. Var. <i>Pendulum</i> <i>Capsicum chinense</i>	Ají montaña Ají charapita	Selva alta Selva alta y selva baja
Menores	<i>Capsicum baccatum</i> <i>Capsicum chinense</i> <i>Capsicum annuum</i> <i>Capsicum frutescens</i>	Verde, largo, criollo Cacho de cabra, uña de gavilán, uña de pava Pacae Ayuyo, calhuaruro, calguaruro Limos: Paringo, miscucho, bola, picante Mochero, arnaucho Dulce, pucunucho Cerezo redondo, cerezo triangular Pipi de mono Malagueta	Costa norte Costa norte Costa sur Amazonia Costa norte Costa central Amazonia Costa norte Amazonia Amazonia

Fuente: Plan de desarrollo sostenible de *Capsicum* 2018-2028.

2.2.9.1. *Capsicum chinense* (Ají limo)

En todo América es uno de los principales ingredientes, enlazado a otras variedades de nuestra alimentación, no únicamente por su picor, sino, puesto que la culinaria peruana ha asumido como ingredientes primordiales de la Costa (9).

Clasificación taxonómica:

- ✓ División: Magnoliophyta
- ✓ Clase: Magnoliopsida
- ✓ Subclase: Asteridae
- ✓ Orden: Solanales
- ✓ Familia: Solanaceae
- ✓ Género: *Capsicum*
- ✓ Especie: *Capsicum baccatum* L.

2.2.9.2. *Capsicum baccatum* (Ají Escabeche)

Es una especie única de *Capsicum* cuyo comienzo principia en Sudamérica y posiblemente en Perú (14) es un fruto prolongado, anaranjado y de gusto intenso, fundamentalmente es usado en fresco, molido o en rodajas y como condimento en salsas; las zonas de superior productividad están distribuidas en la costa peruana, comenzando en Tacna inclusive en Tumbes; en cada sector agroecológico de estos lugares prospera cultivares, con características propias de los frutos; nominándose variedades criollas. En la Costa Central (Valle de Chancay-Huaral, Supe, Barranca), se siembran desde el mes de julio-agosto, en donde las temperaturas óptimas son menores de 25°C para que el fruto cosechado sea apropiado y se conserve, hecho opuesto se obtendrá productos deformes y de baja calidad (9).

Clasificación taxonómica

- ✓ División: Magnoliophyta
- ✓ Clase: Magnoliopsida
- ✓ Subclase: Asteridae
- ✓ Orden: Solanales

- ✓ Familia: Solanoideae
- ✓ Género: *Capsicum*
- ✓ Especie: *Capsicum baccatum* L.

2.2.10. Microorganismos endófitos

La expresión endófito deriva del griego endon, que significa “dentro” y phyte que significa “planta”. En 1866, Barry fue el precursor en consagrar este vocablo, al referirse a hongos vivientes entre los tejidos del vegetal. Actualmente la expresión endófito se refiere a los microorganismos aislados de tejidos vegetales desinfectados superficialmente o extraídos de la zona interna del vegetal, que colonizan espacios intercelulares, y vasculares en tejidos de plantas sin denotar patogenicidad u ofrecer suficiente provecho. El mecanismo de desarrollo de estos microorganismos hacia su huésped, consideran la suposición de que se originaron de semillas, de la rizosfera, de filoplano o de material utilizado para la dispersión vegetativa (La invasión a la planta puede efectuarse por los estomas, heridas, áreas de emergencia de raíces laterales, estas endófitas puede formar enzimas hidrolíticas con la capacidad de destituir la pared celular de los vegetales (15).

Las bacterias endófitas se encuentran en raíces, tallos, hojas y semillas, sin embargo en muchas plantas de superior densidad de endófitos se encuentra en los rizomas. En la rizósfera existe un conjunto de microorganismos, en el que existe una disposición resistente por los nutrientes y en efecto que su medio sea limitado, con soporte a eso se ha estimado que las bacterias endófitas poseer tener algunas ventajas competitivas sobre bacterias rizosféricas, ya que el medio de los nutrientes es superior en el interior del vegetal y el número de microorganismos endófitos es limitado que los rizosféricos y patógenos. Deduciendo que los microorganismos endófitos se encuentran en relación interna con las plantas, pudiendo ofrecer beneficios más directos hacia su huésped, para el incremento en el desarrollo de las plantas que puede ser por mecanismos directos e indirectos. Los mecanismos directos es probable que incremente el contenido de las plantas de captar los nutrientes de la superficie, mediante el aumento y extensión de raíces, ayudando a la solubilización de fosfato, adherencia de nitrógeno y

atmosférico. La fabricación de sideróforos quelantes, elaboración de fitohormonas de desarrollo de la planta, elaboración de enzimas celulolíticas. Mecanismos indirectos incluyen en el alejamiento de los microorganismos que tienen un alcance perjudicial en la planta (15).

2.2.10.1. Caracterización molecular de microorganismos

La identificación molecular de una especie, se refiere al análisis específico que permite la caracterización y diferenciación entre especies, mediante el empleo de marcadores moleculares, los cuales pueden ser a nivel del DNA, RNA o proteico, asimismo su valor, el cual permite situar las relaciones filogenéticas existentes entre los microorganismos, dando parte al método de distribución vigente y permitiendo la identificación rápida y precisa de los microorganismos. Asimismo la técnica estándar para la caracterización bacteriana o fúngica es la secuenciación de regiones de DNA, con la eficiente variabilidad como para excluir entre una especie y otra, también los segmentos propiamente amplificados y luego secuenciados se encuentran los genes ribosomales (16S en procariontes y 18S en eucariotas). Para cuestión de los hongos, se requiere la secuenciación de los genes ribosomales (ADNr) y de sus espacios internos transcritos, ITS (Internal Transcribed Spacer) u otras regiones variables entre los genes conservados, asimismo se usa la 8 región ITS del ADN ribosomal, que de colaboración a la electroforesis de los productos del PCR, los fragmentos amplificados concuerdan con el tamaño de la región ITS 1 - ITS2, lo cual es frecuentemente esencial para la caracterización taxonómica precisa (15).

2.2.10.2. Aplicación y uso de microorganismos

Una de las áreas de exploración que está creciendo ágilmente es la utilización de microorganismos endófitos, dado que los hongos y bacterias que se encuentran usualmente entre las plantas pueden conferirles eficacia a insectos, plagas y enfermedades. El uso de hongos entomopatógenos para controlar enfermedades de los vegetales y nemátodos, el uso de hongos entomopatógenos como

endófitos contra insectos y enfermedades de plantas y la aplicación de agentes de regulación de enfermedades microbianas que además demuestran acción insecticida. Al mismo tiempo, los microorganismos endófitos pueden generar un nivel de metabolitos secundarios bioactivos como alcaloides, cuya elaboración depende de la cepa del hongo vigente y de la planta huésped, lo cual podría optimizar la tarea biológica o restringir la cantidad del nuevo bioplaguicida (16).

La trascendencia en los vegetales suele darse por las estomas, heridas, áreas de incidencia de raíces laterales, estas endófitas pueden elaborar enzimas hidrolíticas con capacidad de separar la pared celular de los vegetales. La instalación y la colocación de bacterias endófitas en la planta se dan por la interrelación con otros organismos asociados a la planta, a ejemplo de nemátodos, parásitos, o por características propias de su albergador (16).

2.2.10.3. Tipos de Microorganismos

a. Hongos endófitos

Los hongos se definen como aquellos microorganismos no agresivos que albergan en el interior de los tejidos de los vegetales. Estos pueden subsistir en el interior del vegetal sin causarle daño, también son capaces de provocar infecciones oportunistas a los vegetales; se encuentran en plantas terrestres como acuáticas, en las zonas tropicales y templadas. Los hongos presentan dos tipos de morfologías: una multicelular denominada filamentosa y otra unicelular denominada levaduriforme. Los hongos filamentosos (miceliares o mohos), representan el incremento apropiado de los hongos microscópicos (17).

b. Bacterias endófitas

Las bacterias endófitas hospedan en el interior de los tejidos de las plantas al menos durante una parte de su ciclo de subsistencia fuera de producir daño alguno al hospedero, establecen una agrupación simbiótica y producen múltiples beneficios para los vegetales. Las

bacterias endófitas desempeñan una gran variedad de funciones como; promotoras del desarrollo del vegetal, inspección biológica sobre una variedad de fitopatógenos, donde mejoran la eficacia de los procesos de fitoremediación de componentes tóxicos en la rizósfera. Estos microorganismos suelen ser fuentes inagotable de más de 20.000 compuestos biológicamente activos, los cuales presentan una influencia directa en la productividad y persistencia de las plantas hospederas. Las bacterias endófitas son reportadas por causar una cifra de metabolitos como antibióticos, metabolitos secundarios, incluso algunos compuestos antitumorales y agentes antiinflamatorios (18).

Gran parte de las endófitas habitan diversos espacios de la planta como apoplasto, incluyendo los espacios intercelulares de las paredes de las células y vasos del xilema. Pocas de ellas albergan los órganos reproductores de los vegetales (flores, frutos y semillas). Originan infecciones discretas dentro de los tejidos de los vegetales sanas (18).

✓ Ecología de bacterias endófitas

La planta es un hábitat eficaz en cual múltiples factores pueden influir la agrupación y la estructura en la agrupación bacteriana. El desarrollo de las bacterias endófitas varía de acuerdo a las alteraciones del inóculo, el clima durante el sembrado y genotipo de hospedero. Las múltiples estaciones, el tipo de tejido vegetal, especie y cultivares de hospedero y la interrelación con otros microorganismos benéficos; asimismo pueden afectar al patrón de colonización.

Consecuentemente, los endófitos surgen como intermediarios entre bacterias saprofitas y patogénicas de plantas. De manera universal, la microbiota endófitas y la agrupación dinámica resultan ser influenciados por los factores bióticos y abióticos que además afectan al suelo y la planta hospedera (19).

✓ Diversidad de endófitas

Las bacterias están relacionadas con las plantas como patogénicas, epifitas, endófitas, simbióticas y antagónicas. En su mayoría forman agrupaciones íntimas con las plantas y conforman grupos variados filogenéticamente representados por tipos relacionadas a los principales taxones. Las bacterias agrupadas a las plantas cambian señales con su huésped y se adaptan a diferentes mecanismos para la colonización. Aspectos importantes de la diversidad de bacterias en el ecosistema incluyen los diferentes procesos que estos realizan, la multiplicidad de la interacción y el número de niveles tróficos de los que están compuestos. En la actualidad ha despertado intereses cada vez ascendientes a aspectos afines con la constitución, distribución y labor de comunidades bacterianas y, en particular las unidades fundamentales de las cuales están integradas. El término bacteria abarca a múltiples individuos patogénicos, así como muchas especies no-patogénicas. Forman un grupo de microorganismos de ocurrencia cosmopolita en los más diversos hábitats, presentando diversidad de vías metabólicas agrupando organismos especializados en el uso de compuestos orgánicos e inorgánicos (19).

2.3. Definición de términos básicos

Endófito. El término endófito quiere decir «dentro de la planta» y se ha usado para referirse a distintos organismos que viven dentro de una planta sin que importara la relación que guardan con ella.

Aislamiento. Es la separación de un determinado microorganismo del resto de microorganismos que le acompañan.

Microorganismos. Un microorganismo, también llamado 'microbio', es un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio. Son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales superiores, una organización biológica elemental.

Diversidad. La diversidad se entiende como variedad, desemejanza o diferencia.

Genotipo. Se refiere a la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN. Normalmente el genoma de una especie incluye numerosas variaciones o polimorfismos en muchos de sus genes.

Nativo. Básicamente, la palabra hace referencia al origen de individuo con respecto a su lugar de nacimiento.

Metabolitos. Un metabolito es cualquier sustancia producida durante el metabolismo.

2.4. Hipótesis

Implícita.

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

Básico

3.2. Nivel de investigación

Exploratorio

3.3. Diseño de la investigación

Descriptivo simple

3.4. Área de estudio

Las muestras de ajíes nativos fueron extraídas del Valle del Huaral que está ubicada en la Provincia de Huaral, en el Departamento de Lima a 188 m. s. n. m.

3.5. Población y muestra: Criterios de inclusión y exclusión

✓ Población: frutos de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y *Capsicum chinense* “ají limo” de la Provincia de Huaral.

✓ Muestra: 1 kg del fruto de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y 1 kg de *Capsicum chinense* “ají limo” maduros, enteros y en buen estado

Criterios de inclusión:

- Frutos maduros
- Frutos en buen estado de conservación
- Libre de partículas extrañas

Criterios de exclusión:

- Frutos malogrados
- Aplastados
- Inmaduros

3.6. Variables y operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Metabolitos secundarios	Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas	Marcha fitoquímica	Análisis cualitativo fitoquímico	Pruebas de coloración y precipitación	Presencia(+) Ausencia(-)
Microorganismos endófito	Grupo específico de microorganismos capaces de colonizar los tejidos internos de la planta	Aislamiento	Presencia de hongos y bacterias endófitas	Crecimiento de microorganismos en medios de cultivo	Diluciones al 100, 10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5

3.7. Procedimiento de recolección de datos

3.7.1. Recolección y procesamiento de la especie vegetal

Frutos de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y *Capsicum chinense* “ají limo”, fueron recolectados en el distrito de Huaral provincia Huaral y departamento de Lima en el mes de Agosto. Se seleccionaron frutos maduros en buen estado (1 kg.), se limpiaron todas las impurezas con agua potable, las cuales para su transporte fueron conservadas en un cooler a temperatura de 2-8°C hasta su utilización para la elaboración del extracto hidroalcohólico y aislamiento. La clasificación taxonómica fue certificada por el biólogo, Mag. María Isabel La Torre Acuy, en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, según el sistema de clasificación de Arthur Cronquist (1988). (anexo2)

3.7.2. Preparación del extracto hidroalcohólico del fruto de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y *Capsicum chinense* “ají limo”

Se utilizó la técnica propuesta por Lock O (21), la cual fue modificada de la siguiente manera: Se utilizó 1 kg del fruto de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y *Capsicum chinense* “ají limo”, se trozó eliminando las

semillas, posterior a ello se deshidrató con estufa a calor seco modelo SN30 “Memmert” por 72 horas a una temperatura de 40°C y finalmente se realizó la pulverización con ayuda de un molino hasta la obtención de partículas uniformes y homogéneas.

Previo a la extracción fue necesario hidratar al fruto molido con etanol 70°, el extracto líquido obtenido se depositó en una estufa para eliminar la sustancia volátil (etanol 70°), posterior a ello se recolectó el extracto en un frasco ámbar.

3.7.3. Análisis cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y *Capsicum chinense* “ají limo”.

Para el análisis cualitativo fitoquímico se realizaron pruebas de coloración y precipitación. Se utilizó 3gr del extracto seco del fruto de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y *Capsicum chinense* “ají limo”, diluida en 50ml de agua estéril. Se colocó 1 ml del extracto en cada tubo de ensayo y se agregaron los reactivos respectivos, donde se identificó los metabolitos primarios y secundarios.

Tabla N° 2 Reactivos utilizados en el análisis cualitativo fitoquímico.

REACTIVOS	METABOLITOS
Molish	Identifica azúcares reductores
Fehling A y B	Identifica azúcares reductores
Benedict	Identifica azúcares reductores
Ninhidrina	Identifica aminoácidos
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos
Shinoda	Flavonoides
Gelatina	Taninos
Borntrager	Identifica quinonas
Baljet	Lactonas
Agua	Saponinas
Dragendorff	Alcaloides
Mayer	Alcaloides

Fuente: elaboración propia

3.7.4. Protocolo de desinfección de los frutos *Capsicum baccatum* “ají escabeche” y *Capsicum chinense* “ají limo” para aislamiento de microorganismos endófitos.

- Se utilizó la técnica propuesta por Rojas M. et al (20). la cual fue modificada de la siguiente manera:
- Se seleccionaron aleatoriamente los frutos de ajíes escabeche y limo.
- Los frutos vegetales fueron colocados en frascos de vidrio estériles en el laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora.
- Se realizará el proceso de esterilización al material vegetal (frutos) con una solución de etanol 70% por 3 minutos. Luego realizar 3 enjuagues con agua destilada. Seguido en hipoclorito de sodio al 3% por 6 minutos con el fin de esterilizar la superficie y evitar el aislamiento de microorganismos epífitos, fitopatógenos y transitorios.
- Para finalizar la desinfección se realizó 6 enjuagues con agua destilada.
- Se utilizó 4 ajíes de cada especie vegetal, se trituró usando un mortero esterilizado añadiendo alíquotas de solución isotónica (solución salina al 9%).
- Se tomó una alíquota 1 ml y se realizaron diluciones en 9 ml de una dilución isotónica (1/10).
- Se realizaron diluciones sucesivas hasta la 10⁻⁵.
- 500 µl de cultivo diluido, fueron agregados a las placas con medios de cultivo (Agar Dextrosa Papa, Agar Manitol, Agar Bacto Peptona, Agar LB, Agar Nutritivo, Agar Sabouraud). Se distribuyó utilizando la asa digralsky previamente esterilizado.
- Finalmente las placas fueron encubadas a una temperatura 25 °C por 5 – 10 días
- Para comprobar el crecimiento se realizaron observaciones diarias a los cultivos, para el posterior conteo de colonias.
- Aislamiento e identificación: Una vez visualizado el crecimiento se realizó una observación microscópica de las principales estructuras fúngicas y bacterianas. En estas últimas se realizó tinción graham.

4. RESULTADOS

4.1. Identificación de los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de *Capsicum baccatum*.

Tabla 3. Compuestos bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de *Capsicum baccatum*.

REACTIVOS	METABOLITOS	RESULTADO
Molish	Identifica azúcares reductores	+
Fehling A y B	Identifica azúcares reductores	+
Benedict	Identifica azúcares reductores	+
Ninhidrina	Identifica aminoácidos	+
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
Shinoda	Flavonoides	+
Gelatina	Taninos	-
Borntrager	Identifica quinonas	-
Baljet	Lactonas	+
Agua	Saponinas	-
Dragendorff	Alcaloides	+
Mayer	Alcaloides	+

Leyenda (-) Ausencia (+) presencia.

Fuente: elaboración propia

En la identificación de *Capsicum baccatum* ají escabeche mediante el método de coloración y precipitación se encontró que este fruto posee metabolitos primarios y secundarios como azúcares reductores, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas y alcaloides lo cual se evidencia en la tabla 3 y en anexo fig.29.

4.2. Identificación de los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de *Capsicum chinense*.

Tabla 4. Compuestos bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de *Capsicum chinense*.

REACTIVOS	METABOLITOS	RESULTADO
Molish	Identifica azúcares reductores	+
Fehling B	Identifica azúcares reductores	+
Benedict	Identifica azúcares reductores	-
Ninhidrina	Identifica aminoácidos	+
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	-
Shinoda	Flavonoides	+
Gelatina	Taninos	+
Borntrager	Identifica quinonas	+
Baljet	Lactonas	+
Agua	Saponinas	-
Dragendorff	Alcaloides	+
Mayer	Alcaloides	+

Leyenda (-) Ausencia (+) presencia.

Fuente: elaboración propia

En la identificación de *Capsicum chinense* ají limo mediante el método de coloración y precipitación se comprobó que poseen metabolitos primarios y secundarios como azúcares reductores, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas y alcaloides lo cual se evidencia en la tabla 4 y en anexo fig.30.

4.3. Aislamiento de los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum baccatum*.

El aislamiento de microorganismos endófitos se realizó en 6 distintos medios de cultivo, Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar Luria Bertani (LB), Agar Manitol Salado (AMS), Agar Nutritivo (AN), Agar Sabouraud (AS), Agar Bacto Peptona (BPA), se realizaron 6 diluciones para cada medio de cultivo, obteniendo un total de 36 muestras cultivadas. El crecimiento de microorganismos endófitos se observó en 20 del total de las muestras cultivadas. En la identificación macroscópica se observó un mayor crecimiento de bacterias en 12 muestras (Tabla 5), y en el caso del crecimiento de hongos se observó en 8 muestras (Tabla 6)

Tabla 5. Microorganismos endófitos aislados del fruto de *Capsicum baccatum* “ají escabeche”

AGARES	DILUCIONES					
	10 ⁻⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
ALB	X	X	X			
PDA				X	X	
AN	X		X		X	X
AS AGAR SABOURAUD						
MSA						
BPA AGAR BACTO PEPTONA	X	X		X		

Leyenda (x) crecimiento de microorganismos.

De las 36 siembras solo se pudo observar el crecimiento en 12 muestras de agar de las cuales se visualizó el crecimiento de microorganismos endófitos en mayor cantidad sobre Agar Nutritivo

Las diluciones que permitieron el mayor crecimiento fueron las diluciones 10⁻⁰.

Tabla 6. Bacterias y hongos observados macroscópicamente.

AGARES	DILUCIONES					
	10 ⁻⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
ALB	X	X	X		✓	
PDA				X	X	
AN	X	✓	X		X	X
AS AGAR SABOURAUD	✓		✓	✓		✓
MSA	✓					
BPA AGAR BACTO PEPTONA	X	X	✓	X		

Leyenda (X) bacterias (✓) hongos.

A nivel macroscópico se observó el crecimiento de hongos en 8 placas de agar (ALB, AN, AS, MSA, y BPA) y 12 placas con crecimiento bacteriano donde se observó mayor crecimiento bacteriano en las placas con agar (AN).

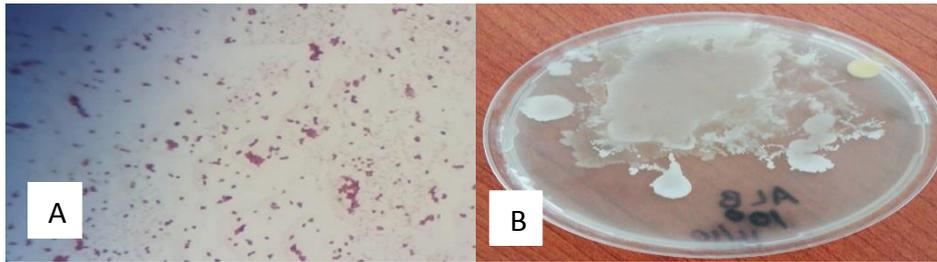


Fig 1. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar LB en una dilución 10^{-0} .

En la **fig 1.** Se visualiza macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de los frutos de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

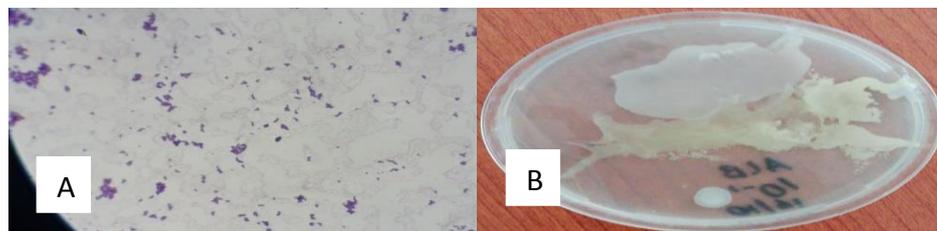


Fig 2. Bacteria endófitas aisladas de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar LB en una dilución 10^{-1} .

En la **fig 2.** Se observa macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de los frutos de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

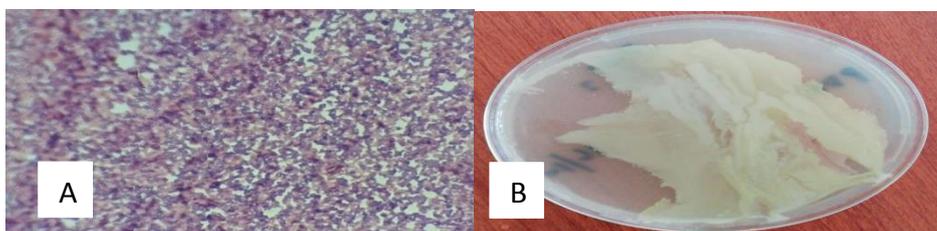


Fig 3. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar PDA en una dilución 10^{-3} .

En la **fig 3.** Macroscópicamente y microscópicamente se visualiza la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de los frutos de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

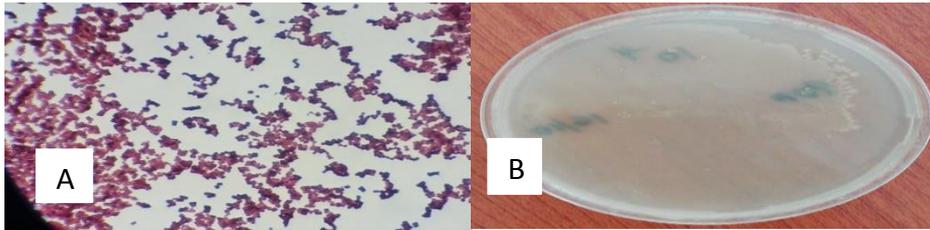


Fig 4. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar PDA en una dilución 10^{-4} .

En la **fig 4.** Por sus características morfológicas se visualizan cocos que pertenecen a Gram positivos que fue aislado de los frutos de *Capsicum baccatum*.

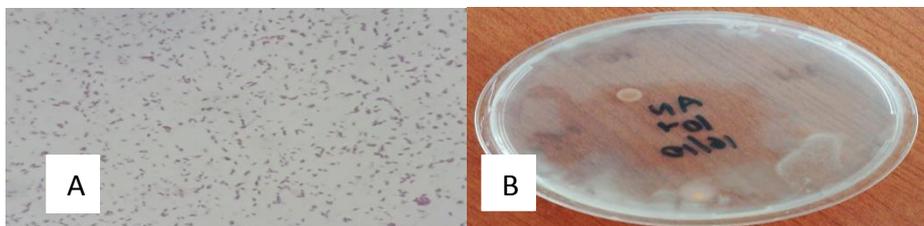


Fig 5. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AN en una dilución 10^{-1} .

En la **fig 5.** Analizando macroscópica y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas son cocobacilos Gram positivos.

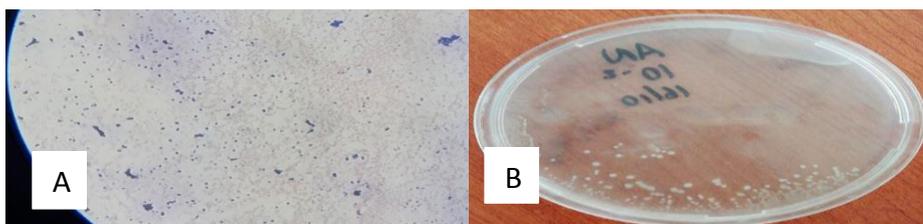


Fig 6. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AN en una dilución 10^{-2} .

En la **fig 6.** Se visualiza macroscópica y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

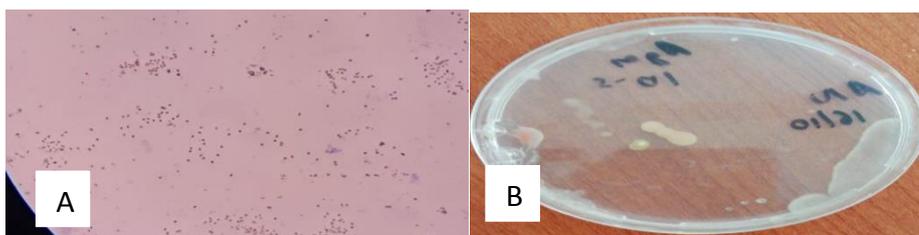


Fig 7. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AN en una dilución 10^{-5} .

Una bacteria es observada en forma de cocos gram positivos en la fig. 7, esta bacteria endófitas fue aislada de los frutos de *Capsicum baccatum*

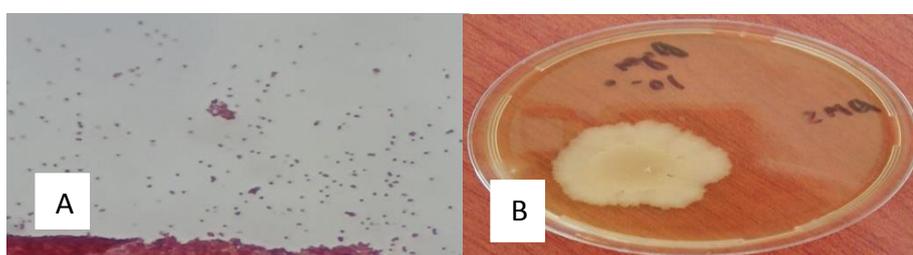


Fig 8. Bacteria endófitas aisladas del *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AMS en una dilución 10^0 .

En la **fig 8.** Se visualiza macroscópica y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

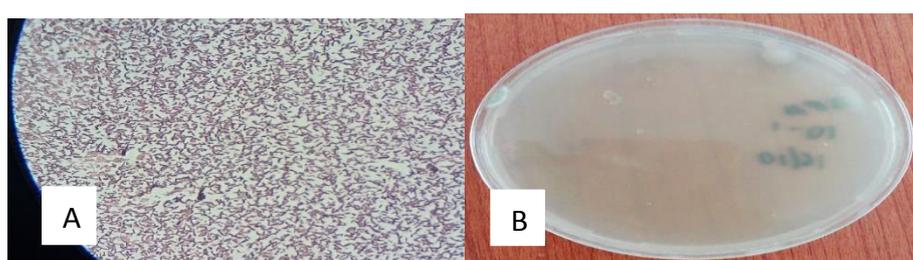


Fig 9. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar BPA en una dilución 10^{-1} .

En la **fig 9.** Macroscópica y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas son bacilos Gram positivos.

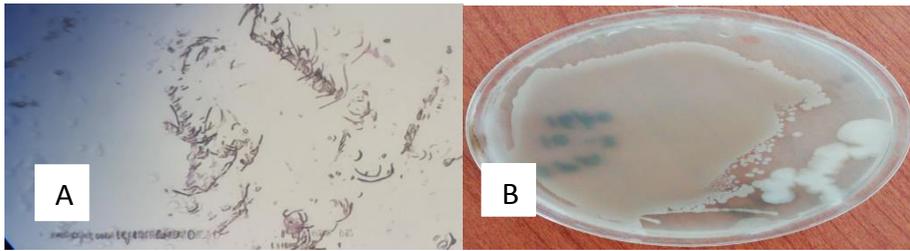


Fig 10. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar BPA en una dilución 10^{-3} .

En la **fig 10**. Por sus características morfológicas se visualizan bacilos que pertenecen a Gram positivos que fue aislado de los frutos de *Capsicum baccatum*.

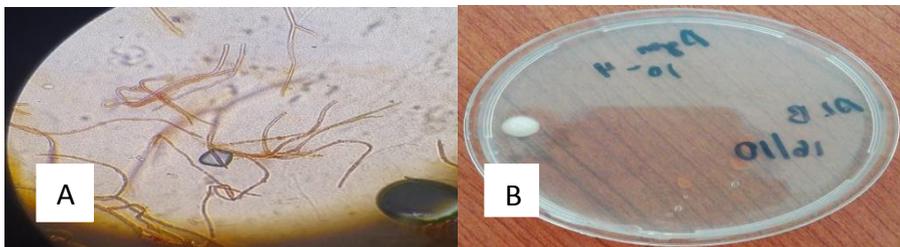


Fig 101. Hongo endófito aislado del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Hongo endófito observado a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecido sobre agar ALB en una dilución 10^{-4} .

En la **fig 11**. Analizando macroscópica y microscópicamente la forma de un hongo endófito que fue aislado de los frutos de *Capsicum baccatum* el cual no pudo ser identificado.

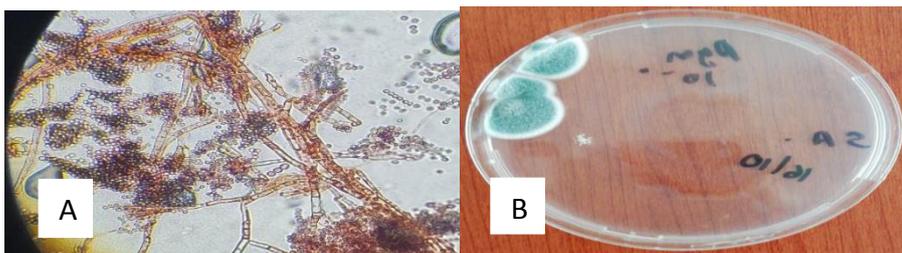


Fig 12. Hongo endófito aislado del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Hongo endófito observado a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecido sobre agar SA en una dilución 10^{-0} .

En la **fig 12**. Se visualiza macroscópica y microscópicamente la forma de un hongo endófito que fue aislado del fruto de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas probablemente pertenece al género *Penicillium sp.*

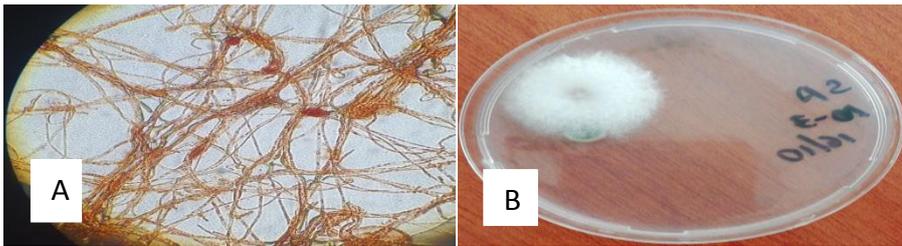


Fig 13. Hongo endófito aislado del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Hongo endófito observado a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecido sobre agar SA en una dilución 10^{-3} .

En la **fig 13.** Se observa macroscópica y microscópicamente la forma de un hongo endófito que fue aislado del fruto de *Capsicum baccatum* el cual no pudo ser identificado.

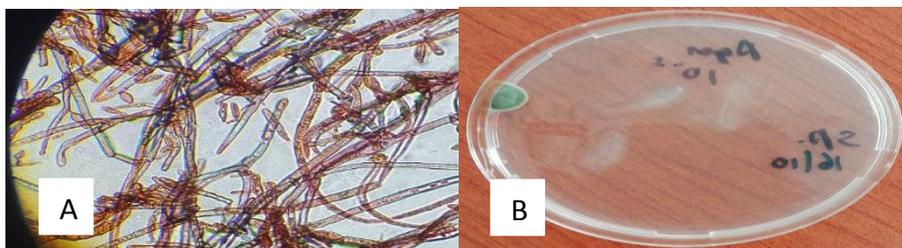


Fig 14. Hongo endófito aislado del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Hongo endófito observado a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecido sobre agar SA en una dilución 10^{-5} .

En la **fig 14.** Se visualiza macroscópica y microscópicamente la forma de un hongo endófito que fue aislado del fruto de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas probablemente pertenece al género *Trichoderma* sp.

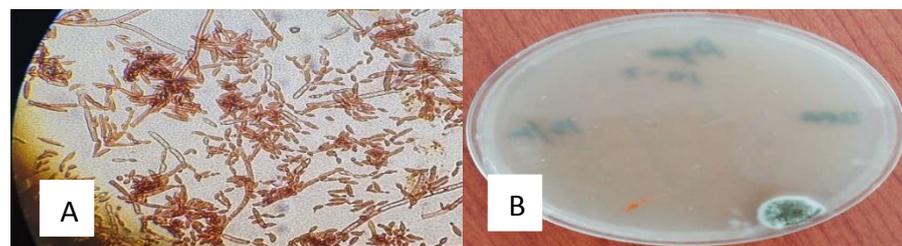


Fig 15. Hongo endófito aislado del fruto de *Capsicum baccatum* ají escabeche. **A.** Hongo endófito observado a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecido sobre agar BPA en una dilución 10^{-2} .

En la **fig 15.** Se visualiza macroscópica y microscópicamente la forma de un hongo endófito que fue aislado del fruto de *Capsicum baccatum* que por sus características morfológicas probablemente pertenece al género *Trichoderma* sp.

4.4. Aislamiento de los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum chinense*.

El aislamiento de microorganismos endófitos se realizó en 6 distintos medios de cultivo, Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar Luria bertani (LB), Agar Manitol Salado (AMS), Agar Nutritivo (AN), Agar Sabouraud (AS), Agar Bacto Peptona (BPA), se realizaron 6 diluciones para cada medio de cultivo, obteniendo un total de 36 muestras cultivadas. El crecimiento de microorganismos endófitos se observó en 30 muestras del total de agares cultivadas. En la identificación macroscópica presentó un mayor crecimiento de bacterias en 27 agares en comparación al crecimiento de hongos con 3 crecimientos. (Tabla 8).

Tabla 7. Microorganismos endófitos aislados del fruto de *Capsicum chinense* “ají limo”

AGARES	DILUCIONES					
	10 ⁻⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
ALB	X	X	X	X	X	
PDA	X	X		X	X	X
AN	X	X		X		X
AS AGAR SABOURAUD	X	X	X	X		
MSA	X	X	X	X		
BPA AGAR BACTO PEPTONA	X	X	X	X	X	

Leyenda (x) crecimiento de microorganismos

De las 36 siembras solo se pudo observar el crecimiento en 27 placas de agar de las cuales se observó el crecimiento de microorganismos endófitos en mayor cantidad sobre agar PDA y BPA

Las diluciones en cuales presentó el mayor crecimiento fueron las diluciones 10⁻⁰, 10⁻¹, 10⁻³.

Tabla 8. Bacterias y hongos observados macroscópicamente.

AGARES	DILUCIONES					
	10 ⁻⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
ALB	X	X	X	X	X	
PDA	X	X	✓	X	X	X
AN	X	X		X	✓	X
AS AGAR SABOURAUD	X	X	X	X		
MSA	X	X	X	X		
BPA AGAR BACTO PEPTONA	X	X	X	X	X	✓

Leyenda (X) bacterias (✓) hongos

Macroscópicamente se observó el crecimiento de hongos en 3 placas de agar (PDA, AN, y BPA) y 27 placas con crecimiento bacteriano podemos resaltar que se obtuvo mayor crecimiento bacteriano en las placas con agar (ALB, PDA, y PBA)

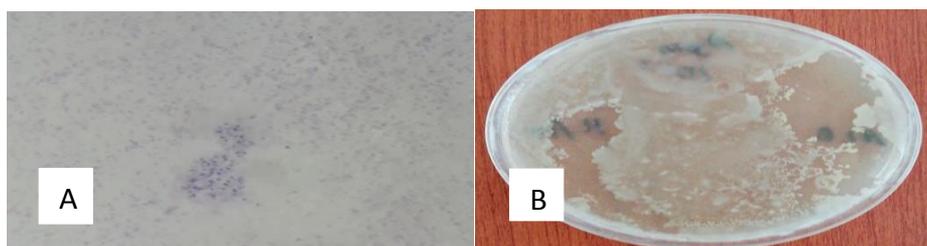


Fig 16. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observada a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar ALB en una dilución 10⁻³.

En la **fig 16.** Se visualiza macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

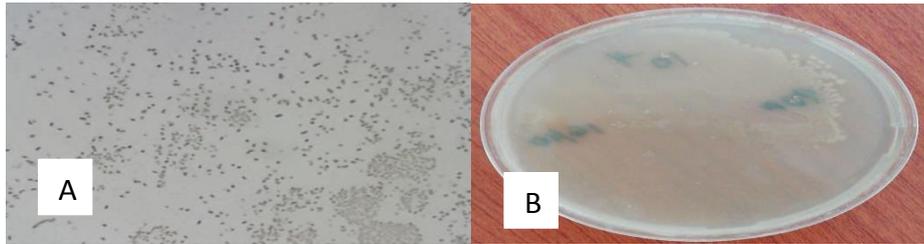


Fig 17. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observada a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar PDA en una dilución 10^{-4} .

En la **fig 17.** Se observa macroscópica y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

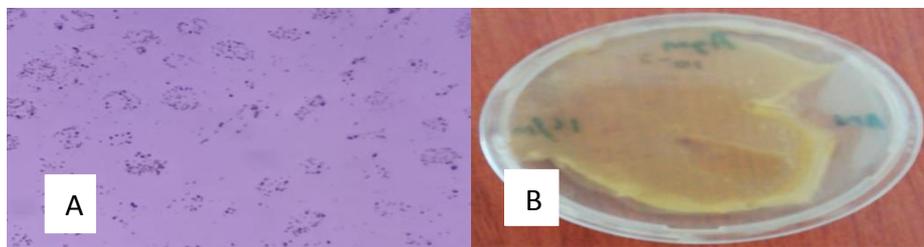


Fig 18. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observada a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AN en una dilución 10^{-3} .

Analizando la **fig 18.** Macroscópica y microscópicamente se observa la forma de cocos Gram positivos de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense*.

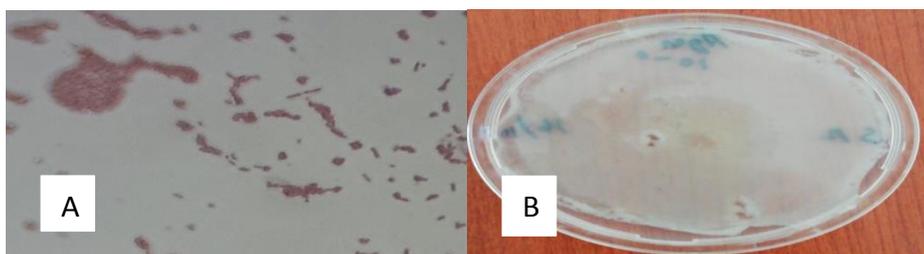


Fig 19. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observada a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AS en una dilución 10^0 .

En la **fig 19.** Macroscópica y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son cocobacilos Gram positivos.

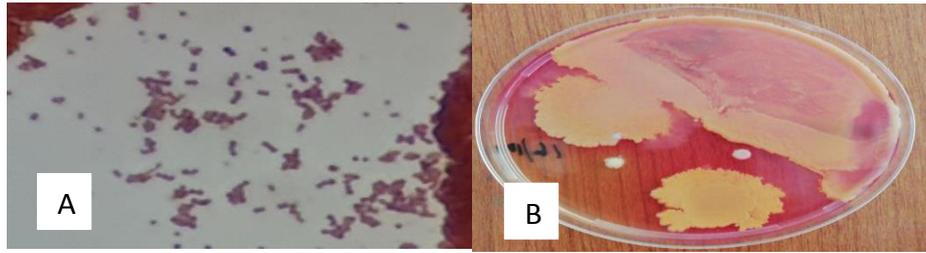


Fig 20. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AMS en una dilución 10^0 .

En la **fig 20.** Se distingue macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

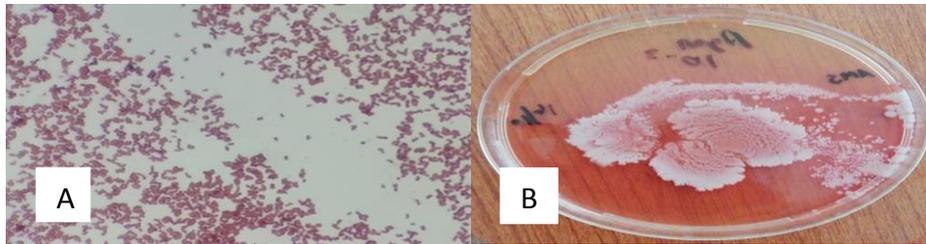


Fig 21. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AMS en una dilución 10^{-3} .

En la **fig 21.** Por sus características morfológicas se visualiza cocos Gram positivos que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense*.

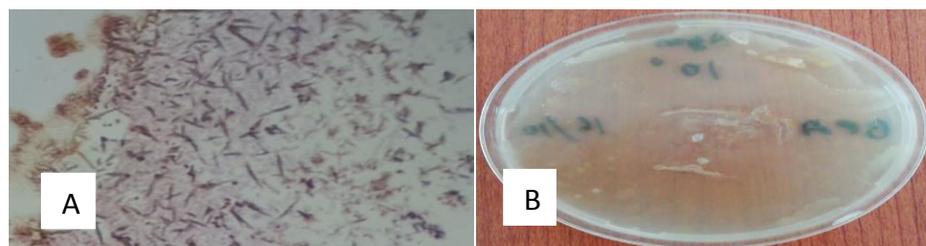


Fig 22. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar BPA en una dilución 10^0 .

En la **fig 22.** Se observa macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son bacilos Gram positivos.

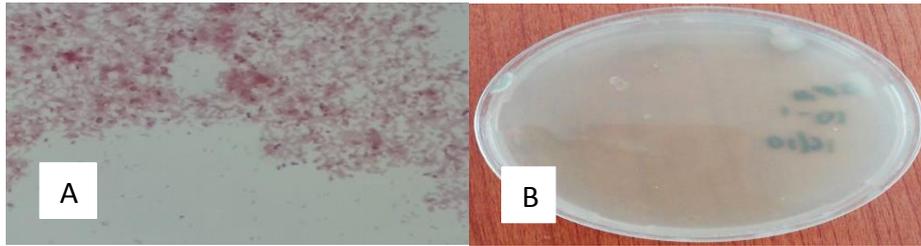


Fig 23. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar BPA en una dilución 10^{-1} .

En la **fig 23.** Se visualiza macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

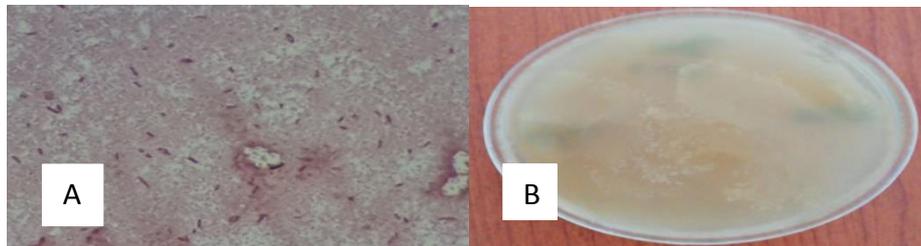


Fig 24. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar BPA en una dilución 10^{-2} .

Analizando la **fig 24** se observa macroscópicamente y microscópicamente bacilos Gram positivos que fueron aislados de los frutos de *Capsicum chinense*.

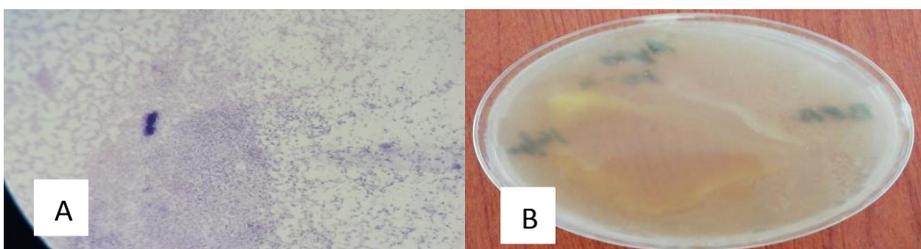


Fig 25. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar BPA en una dilución 10^{-4} .

En la **fig 25.** se observa macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

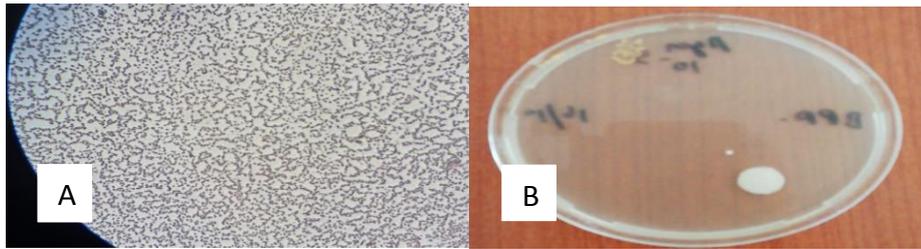


Fig 26. Bacteria endófitas aisladas del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Bacteria endófitas observadas a 40x. **B** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar BPA en una dilución 10^{-5} .

En la **fig 26.** Se visualizan macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislado de los frutos de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas son cocos Gram positivos.

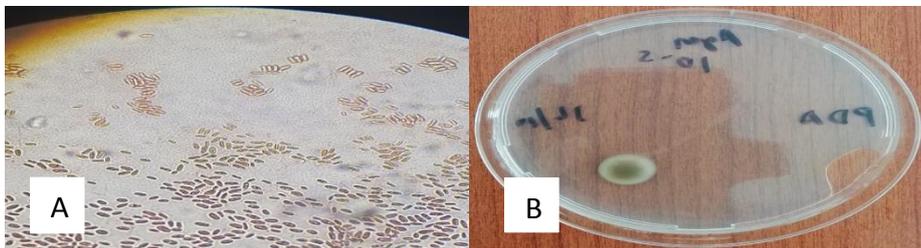


Fig 27. Hongo endófito aislado del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Hongo endófito observado a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecido sobre agar PDA

En la **fig 27.** Macroscópicamente y microscópicamente se visualiza la forma de un hongo endófito que fue aislado del fruto de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas probablemente pertenece al género *Colleotricum sp.*



Fig 28. Hongo endófito aislado del fruto de *Capsicum chinense* ají limo. **A.** Hongo endófito observado a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecido sobre agar BPA

En la **fig 28.** Se observa macroscópicamente y microscópicamente la forma de un hongo endófito que fue aislado del fruto de *Capsicum chinense* que por sus características morfológicas probablemente pertenece al género *Aspergillus sp*

5. DISCUSIÓN

En el análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense* (Tabla 3-4), se evidencia la presencia de metabolitos primarios (carbohidratos, azúcares reductores) y metabolitos secundarios (fenoles, flavonoides, quinolonas, lactonas y alcaloides) los cuales fueron analizados mediante la prueba de coloración y precipitación de la misma manera un estudio realizado por Rozete (3), utilizando la misma técnica caracterizó y cuantificó diferentes metabolitos secundarios; capsaicinoides, carotenoides y fenoles totales corroborando los resultados encontrados en este estudio. Así también Castañeda y Salazar (10), encontraron mayor predominación de alcaloides en frutos de la especie. Además detectaron grasas, aceites, lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, catequinas, resinas, azúcares reductores, fenoles y taninos; lo cual evidencia la presencia de metabolitos similares en ambas especies.

En el aislamiento de microorganismos endófitos se identificaron diversas bacterias en formas de cocos y bacilos Gram positivas (Tabla 5-8), además hongos de los géneros: *Aspergillus sp*, *Colletotricum sp*, *Trichoderma sp*, *Penicillium sp* (Fig 11-15, 26-28). Por su parte Chavez (9), aisló hongos patógenos a partir de frutos de *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense* los cuales albergan estos frutos llevando consigo infecciones que los afectan, de igual manera en este estudio se logró identificar presencia de hongos que probablemente pueden afectar y dañar el desarrollo de los frutos.

6. CONCLUSIONES

En el análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Capsicum baccatum* “ají escabeche” se comprobó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: como azúcares reductores, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas y alcaloides los cuales poseen variadas propiedades farmacológicas.

En el análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Capsicum chinense* “ají limo” se comprobó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: azúcares reductores, aminoácidos, flavonoides, taninos, quinonas, lactonas y alcaloides con propiedades farmacológicas que podrían aportar un beneficio a la mejora de la salud.

En el aislamiento de microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum baccatum* ají escabeche se encontraron diferentes bacterias Gram positivas en formas de cocos y bacilos así mismo hongos de diferente género *Penicillium sp.* *Trichoderma sp.*

En el aislamiento de microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de *Capsicum chinense* ají limo se encontraron diferentes bacterias Gram positivas en formas de cocos y bacilos así mismo hongos de diferente género *Colletotricum sp.* *Aspergillus sp.*

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Profundizar los estudios del extracto hidroalcohólico del fruto de *Capsicum chinense* “ají limo” y de *Capsicum baccatum* “ají escabeche”, para poder determinar que función esencial puede cumplir cada metabolito encontrado en la mejora de la salud con el empleo de vegetales que están al alcance de todos.
- ✓ Ampliar los estudios de los microorganismos endófitos caracterizados, que fueron registrados como las mejores cepas, obtenidos de las diferentes pruebas de los frutos.
- ✓ Caracterizar molecularmente los hongos y bacterias las cepas aisladas de los frutos de *Capsicum*.
- ✓ Aislar y determinar molecularmente otros microorganismos endófitos que albergan las plantas, a partir de frutos nativos que son cultivados en Perú, para optimizar su uso en la agrobiotecnología.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sierra M, Barros R, Gómez D, Mejía A, Suarez D. Productos Naturales: Metabólicos Secundarios y Aceites Esenciales: Fundación Universitaria Agraria de Colombia – Uniagraria. Bogotá; 2018.11 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/334656228_PRODUCTOS_NATURALES_METABOLITOS_SECUNDARIOS_Y_ACEITES_ESENCIALES
2. Mejía F. Aislamiento y Caracterización Físicoquímica de la Capsaicina de Tres Variedades de Ají [Licenciada]. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2013. [Citado 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5728/T-PUCE-5882.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Rozete M, Caracterización fitoquímica y evaluación sensorial de variedades de Chile Habanero (*capsicum chinense Jacq.*). Doctor; 2019 [Citado el 29 de Sep de 2019].Disponible en: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1506/1/PCB_M_Tesis_2019_Mary_Jose_Rozete_Navarro.pdf
4. Palacios S, Caracterización morfológica de accesiones de *Capsicum* spp [Doctor]. Universidad Nacional de Colombia; 2007[Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/3305/1/7501007.2007.pdf>
5. Gonzalez A, et al. Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annum l.*).Rev. Int. Contam. Ambie: 33 (3) 463-474; 2017 [Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/rica.2017.33.03.09/46702>
6. Cabra T, Meneses D, Galeano N. Identificación de microorganismos asociados a residuos de higuierilla (*Ricinus communis*). Rev. Colomb. Quim: 44(2):10-15; 2015. [Citado el 29 Sep del 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v44n2/v44n2a02.pdf>

7. Rios M. Caracterización agromorfológica de diez selecciones de ají escabeche (*Capsicum baccatum* var. *pendulu*) bajo las condiciones de la Molina. [Ing. Agr]. Universidad Nacional Agraria La Molina; 2017 [Citado el 29 de Nov del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2831/F01-R567-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Espinoza D. Caracterización morfológica de ajíes de la costa del Perú. [Ing. Agr]. Universidad Nacional Agraria La Molina; 2017 [Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2733/F01-E77-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Chávez J. Identificación de fitopatógenos fúngos y bacterianos en frutos de cuatro especies del género *Capsicum* al estado post cosecha. [Bachiller]. Universidad Nacional de Cajamarca; 2015 [Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1794/TESIS%20esther%20chavez%20cuchca%2009-12-2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. Castañeda B, Salazar A, Estudio fitoquímico, toxicidad aguda y efectos antiulceroso y antitumoral de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *Capsicum pubescens*, «Rocoto». Art. Cult; 2014; 319-314. [Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible: https://www.researchgate.net/publication/271527405_PHYTOCHEMICAL_STUDY_ACUTE_TOXICITY_AND_ANTIULCER_AND_ANTITUMOR_EFFECTS_OF_AQUEOUS_ETHANOLIC_AND_METHANOLIC_EXTRACTS_OF_Capsicum_pubescens_Rocoto

11. Villavicencio B, Caracterización químico-nutricional y actividad antioxidante de dos muestras de *Capsicum pubescens* (“rocoto rojo y amarillo”) provenientes de villa rica (Pasco). [Q.F]. Universidad Cayetano Heredia; 2016. [citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/637/Caracterizaci%C3%B3n%20qu%C3%admiconutricional%20y%20actividad%20antioxidante%20de%20dos%20muestras%20de%20Capsicum%20pubescens%20%28Rocoto%20rojo%20y%20amarillo%29%20provenientes%20de%20Villa%20Rica%20%28Pasco%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. Delgado R, optimización de los métodos de obtención de la capsaicina del ají limo (*Capsicum sinense jacq*) para la determinación de la dosis letal del pulgón verde (aphididae). [Bachiller]. Universidad Nacional de San Agustín; 2018. [Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/5923/QUdezekr.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
13. Sánchez M, Estudio Investigativo del ají, análisis de sus propiedades y nuevas recetas para la cocina. [Administrador Gastronómico]. Universidad Tecnológica Equinoccial; 2015. [Citado 29 Sep del 2019]. Disponible en: http://repositorio.ute.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/16110/63339_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y
14. Moreno S, Extractos de algas marinas en el rendimiento y calidad de ají escabeche (*Capsicum baccatum var. pendulum*) bajo condiciones de cañete. [Ing. Agr]. Universidad Nacional Agraria la Molina; 2017. [Citado el 30 de noviembre del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2751/F04-M673-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

15. Mosquera O, Aislamiento e identificación de hongos endófitos de la especie *piper aduncum* (piperaceae) y su actividad bactericida antagónica frente a distintas cepas microbianas. [Q. Industrial]. Universidad Tecnológica de Pereira; 2015. [Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/5332/66062G643.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Jimenez E, Vélez S. Estudio de microorganismos endófitos en plantas de *Rhizophora mangle* en dos ecosistemas de manglar del caribe colombiano. [Doctor]. Universidad Libre de Colombia; 2008 [Citado el 29 de Sep del 2019]. Disponible en: http://cinto.invemar.org.co/alfresco/d/d/workspace/SpacesStore/b961fa9c-de47-4641-82e5-672aa4a5ee39/Jimenez,%20E.%20&%20S.%20Velez,%202008.pdf?ticket=TICKET_c4b34e2efcac08f6a241617da84b3d48bcbd72e4
17. Trujillo D, aislamiento de un hongo endófito de *piper crassinervium* (piperaceae) y su evaluación antibacteriana. [Tecnólogo Químico]. Universidad Tecnológica de Pereira; 2016. [Citado el 29 Sep del 2019]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71399670.pdf>
18. Rosales E. Micropropagación y Biotización de jojoba (*Simmondsia chinensis* L. [Schneider]) Mediante bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal [Tesis doctoral]. Centro de Investigaciones Biológicas del Norte, S.C; 2017. [Citado el 29 del 2019]. 114 p. Disponible en: https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/417/1/perez_e.pdf
19. Pérez C, Rojas S, Vale M. Biología y perspectiva de microorganismos endófitos asociados a plantas. Rev. Colombiana cienc. Anim. 1(2).2009:5-8. Recuperado a partir de: https://www.researchgate.net/publication/46117056_Biologia_y_perspectiva_de_microorganismos_endofitos_asociados_a_plantas
20. Rojas M.et al. Aislamiento de micromicetos endófitos en cladodios de *Opuntia* sp en el Morro de la Mancha.[Tesis Doctoral]unam.2018.

- 21.** Lock O. Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales .
3ª ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
- 22.** Restrepo M, Oleorresinas de capsicum en la industria alimentaria. Revista Lasallista de Investigación, vol. 3, núm. 2, julio-diciembre, 2006, pp. 43-47. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/695/69530208.pdf>

9. ANEXOS

9.1 Matriz de consistencia

Título: IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS ENDÓFITOS DE FRUTOS NATIVOS DE <i>Capsicum baccatum</i> y <i>Capsicum chinense</i> .						
Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Dimensiones	Indicadores	Metodología
<p>Problema general</p> <p>¿Cuáles son los componentes bioactivos y microorganismos endófitos presentes en frutos nativos de <i>Capsicum baccatum</i> y <i>Capsicum chinense</i>?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>¿Cuáles son los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico de frutos nativos de <i>Capsicum baccatum</i>?</p> <p>¿Cuáles son los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico de frutos nativos de <i>Capsicum chinense</i>?</p> <p>¿Cuáles son los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de <i>Capsicum baccatum</i>?</p> <p>¿Cuáles son los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de <i>Capsicum chinense</i>?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar los componentes bioactivos y microorganismos presentes en frutos nativos de <i>Capsicum baccatum</i> y <i>Capsicum chinense</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Identificar los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de <i>Capsicum baccatum</i>.</p> <p>Identificar los componentes bioactivos del extracto hidroalcohólico del fruto nativo de <i>Capsicum chinense</i>.</p> <p>Aislar los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de <i>Capsicum baccatum</i>.</p> <p>Aislar los microorganismos endófitos presentes en los frutos nativos de <i>Capsicum chinense</i>.</p>	<p>Implícita</p>	<p>Metabolitos secundarios</p> <p>Microorganismos endófitos</p>	<p>Análisis cualitativo fitoquímico</p> <p>Presencia de hongos bacterias endófitas</p>	<p>Pruebas de coloración y precipitación</p> <p>Crecimiento de microorganismos en medios de cultivo</p>	<p>A) MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:</p> <p>Tipo de investigación: Básico</p> <p>Nivel de investigación: Exploratorio</p> <p>Diseño de la investigación: Descriptivo simple.</p> <p>B) POBLACIÓN Y MUESTRA:</p> <p>Población: frutos de <i>Capsicum baccatum</i> y <i>Capsicum chinense</i> de la Provincia de Huaral.</p> <p>Muestra: 1 kg del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> y 1 kg de <i>Capsicum chinense</i> maduros, enteros y en buen estado</p>

9.2 Constancia de identificación taxonómica.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA Nº 301-USM-2019

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto) recibida de **Doris Kelly Ávila Paredes y Gider Alfaro Pérez**, estudiantes de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada y clasificada como: ***Capsicum baccatum* L.** tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SOLANALES

FAMILIA: SOLANACEAE

GENERO: *Capsicum*

ESPECIE: *Capsicum baccatum* L.

Nombre Vulgar: "Ají limo"

Determinado por: Mag. María Isabel La Torre Acuy.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime pertinente.

Lima, 19 setiembre de 2019

Dra. JOAQUINA ALBAN CASTILLO
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



JAC/ddb



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 300-USM-2019

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto) recibida de **Doris Kelly Avila Paredes y Gider Alfaro Pérez**, estudiantes de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada y clasificada como: ***Capsicum baccatum*** L. tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SOLANALES

FAMILIA: SOLANACEAE

GENERO: *Capsicum*

ESPECIE: *Capsicum baccatum* L.

Nombre Vulgar: "Ají escabeche"
 Determinado por: Mag. María Isabel La Torre Acuy.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime pertinente.

Lima, 17 setiembre de 2019

Dra. JOAQUINA ALBAN CASTILLO
 JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb



9.3 Recolección de frutos de *Capsicum baccatum* ají escabeche



Recolección de ajíes.



Capsicum baccatum.



Procesamiento de la especie vegetal.

9.4 Recolección de frutos de *Capsicum chinense* ají limo



Capsicum baccatum.



Procesamiento de la especie vegetal.

9.5 Prueba fitoquímica del extracto hidroalcohólico del fruto de *Capsicum baccatum*.



Fig 29. Pruebas de coloración y precipitación.

9.6 . Prueba fitoquímica del extracto hidroalcohólico del fruto de *Capsicum chinense*.

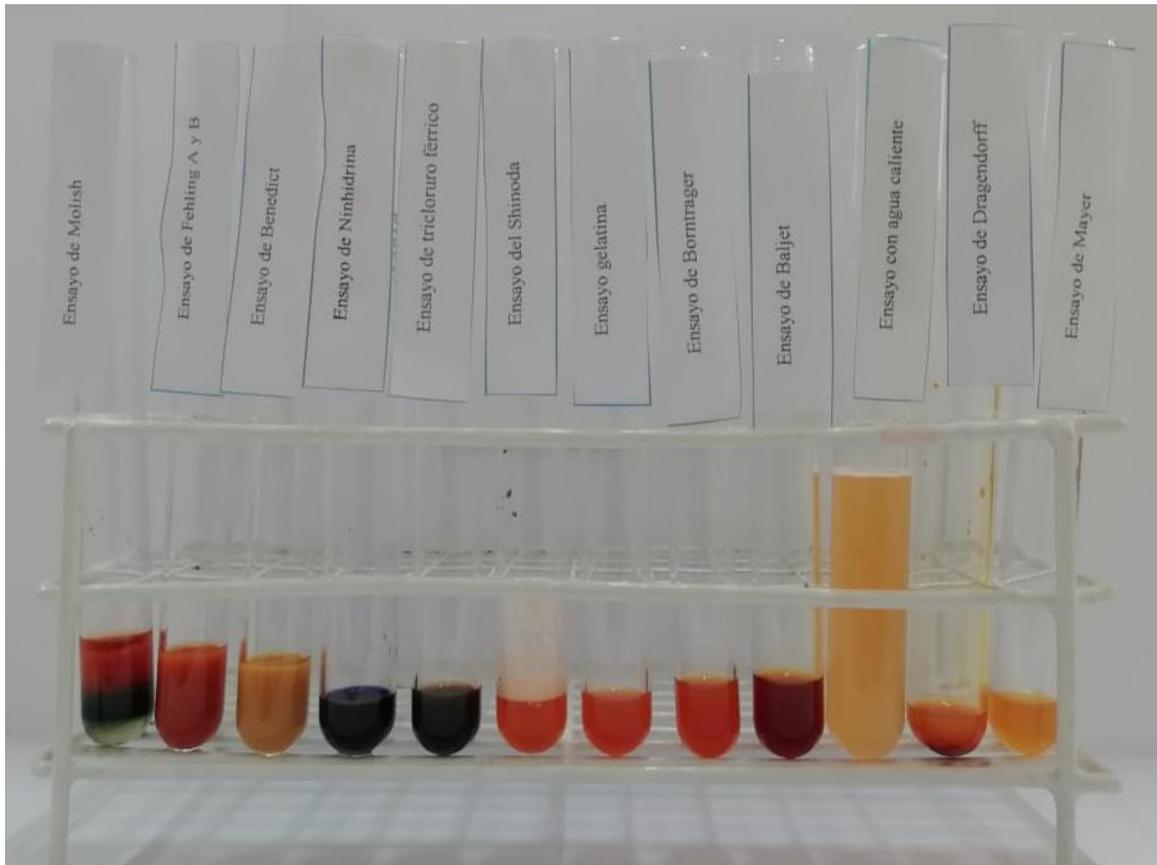


Fig 30. Pruebas de coloración y precipitación.

9.7 Aislamiento y sembrado de microorganismos provenientes de ajíes *Capsicum baccatum* y *Capsicum chinense* en placas Petri.



Extracto fresco de los frutos.



Sembrado de alícuotas del extracto fresco en agares.



Crecimiento de microorganismos en agares.