

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y
ENSEÑANZA

SUBDIRECCIÓN GENERAL ADJUNTA DE ENSEÑANZA

PROGRAMA DE POSGRADO

EVALUACIÓN DE RESISTENCIA DE CULTIVARES CRIOLLOS DE
CHILE DULCE (*Capsicum annum*) A *Phytophthora*
capsici Y DETERMINACIÓN DE RAZAS FISIOLÓGICAS DEL
HONGO.

Tesis sometida a consideración del Comité Técnico Académico
del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y
Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de
Investigación y Enseñanza, para optar al grado de

MAGISTER SCIENTIAE

POR

JORGE ADALBERTO MERCADO MEJIA

Centro Agronómico Tropical De Investigación Y
Enseñanza

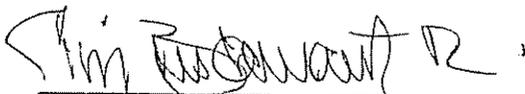
Turrialba, Costa Rica

1990

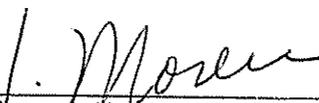
Esta tesis ha sido aceptada, en su presente forma, por la Coordinación del Programa de estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales Renovables del CATIE, y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

COMITE ASESOR:



Elkin Bustamante, Ph.D.
Profesor Consejero



Jorge Morera Monge, Ph.D.
Miembro del Comité



José Martí Jiménez, M.Sc.
Miembro del Comité



Ramón Lastra Rodríguez, Ph.D.
Coordinador, Programa de Estudios de Posgrado



Dr. José Luis Parisí
Subdirector General Adjunto de Enseñanza



Jorge Adalberto Mercado Mejía
Candidato

DEDICATORIA

A mi esposa, Alicia.

A mis hijos, Jorge, Dorys y Wendy.

A mis padres:

Maria Elena Echeverría y
José Antonio Mercado

A mis hermanas:

Francisca Milagro y
Francisca Consuelo

AGRADECIMIENTOS

Hago constar mis agradecimientos :

Al M.S José Arce Borda, por haber contribuido a forjar mi vida profesional.

Al PhD Elkin Bustamante, por su amistad y permanente disposición en la asesoría del trabajo de tesis.

Al PhD Jorge Morera Monge, por su amistad y ayuda en la revisión del documento final.

Al M.S. José Martí Jiménez por su colaboración en todas las etapas del trabajo.

A los Srs Arturo Gamboa y Walter Bermúdez por su valiosa ayuda en los trabajos de laboratorio e invernadero

A la PhD Gilda Piaggio por la valiosa colaboración en el análisis de los datos

A mis compañeros de promoción y a todas aquellas personas que nos brindaron su amistad.

A todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron en la ejecución del trabajo experimental.

BIOGRAFIA

El autor nació en la ciudad de Ilobasco, Cabañas, El Salvador, el 20 de agosto de 1951. Realizó sus estudios de primaria en la Escuela Bernardo Perdomo y su secundaria en el Instituto Nacional de Ilobasco.

En 1970 ingresó a la Escuela Nacional de Agricultura (R. Q.) donde obtuvo el título de Agrónomo.

A partir de 1972 inició sus labores profesionales en la Dirección General de Recursos Naturales Renovables y en 1976 en el Centro de tecnología Agrícola (CENTA), institución en la que continua laborando.

En 1974 inició sus estudios en la Universidad de El Salvador habiéndose graduado en 1986 donde obtuvo el título de Ingeniero Agrónomo

En septiembre de 1988, ingresó al Programa de posgrado del CATIE, en Turrialba, Costa Rica donde obtuvo el título de Magister Scientiae en octubre de 1990 en la rama de Manejo Integrado de Plagas

INDICE

	Nº Página
RESUMEN	x
SUMMARY	xii
LISTA DE CUADROS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xv
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	2
2.1 Sintomatología de la enfermedad	2
2.2 Distribución geográfica de la enfermedad	3
2.3 Resistencia genética	3
2.3.1 Resistencia juvenil	5
2.3.2 Métodos de evaluación de resistencia	6
2.3.3 Método de inoculación para determinar resistencia	6
2.3.4 Bases genéticas de la herencia para obtener resistencia a <i>P. capsici</i>	7
2.4 Razas fisiológicas	9
2.5 Efecto del agua sobre la incidencia de la enfermedad	12
2.6 Hospederos	13
2.7 Evaluación de la enfermedad	14
2.7.1 Metodología de evaluación	15
2.8 Concentración de inóculo	15
2.8.1 Evaluación en invernadero	16
2.8.2 Evaluación de campo	16
2.9 Período de incubación del patógeno	17
2.10 Supervivencia de <i>P. capsici</i>	17
2.11 Diseminación de la enfermedad	18
2.12 Otros métodos de control	18
2.12.1 Control biológico	18
2.12.2 Control cultural	18
2.12.3 Control químico	19
3. MATERIALES Y METODOS	20
3.1 Ubicación	20
3.2 Etapa de preparación del material experimental	20

	Nº	Página
3.2.1	Material experimental de chile	20
3.2.2	Selección de plantas diferenciales	21
3.2.3	Material experimental de <i>P. capsici</i>	21
3.2.3.1	Aislamiento del patógeno	22
3.2.3.2	Cultivos monospóricos	24
3.3	etapa Experimental	26
3.3.1	Laboratorio	26
3.3.1.1	Determinación de razas fisiológicas en hoja desprendida.	26
3.3.1.1.1	Diseño experimental	27
3.3.1.2	Caracterización <i>in vitro</i> de 12 razas fisiológicas de <i>P. capsici</i>	27
3.3.1.2.1	Crecimiento diametral de <i>P.</i> <i>capsici</i>	28
3.3.1.2.2	Producción de zoosporas	28
3.3.1.3	Evaluación de resistencia en hoja de 11 cultivares de chile a 10 razas fisiológicas	28
3.3.1.3.1	Diseño experimental	29
3.3.2	Fase invernadero	30
3.3.2.1	Determinación de razas fisiológicas en plantas en el invernadero.	30
3.3.2.1.1	Análisis de la información	31
3.3.2.2	Determinación de la incidencia y patogenicidad de 10 razas fisiológicas a 11 cultivares de chile dulce.	31
3.3.2.3	Evaluación de resistencia de 11 cultivares de chile a la mezcla de cuatro inóculos.	32
3.3.3	Campo	33
3.3.3.1	Evaluación del efecto del riego y la concentración de zoosporas en la resistencia de 11 cultivares de chile dulce	33
3.3.3.1.1	Evaluación de la Enfermedad vía	35

	Nº	Página
3.3.3.1.2	Análisis de la Información	36
3.3.3.2	Evaluación de concentraciones mayores de 4×10^5 zoosporas/ml bajo condiciones de campo	36
4.	RESULTADOS Y DISCUSION	38
4.1	Fase de laboratorio	38
4.1.1	Determinación de razas fisiológicas en hoja desprendida	38
4.1.2	Caracterización de 12 razas fisiológicas de <i>P. capsici</i>	43
4.1.2.1	Evaluación del crecimiento diametral de 12 razas fisiológicas de <i>P. capsici</i> .	43
4.1.2.2	Producción de zoosporas de 12 razas fisiológicas de <i>P. capsici</i>	46
4.1.3	Evaluación de resistencia en hoja desprendida de 11 cultivares chile dulce a 10 razas fisiológicas.	48
4.2	Fase de Invernadero	50
4.2.1	Determinación de razas fisiológicas inoculando en la base de la planta.	50
4.2.2	Determinación de incidencia y patogenicidad de 10 razas fisiológicas	53
4.2.3	Evaluación de resistencia de 11 cultivares de chile a la mezcla de cuatro inóculos	60
4.3	Fase de campo	61
4.3.1	Evaluación del efecto del riego y la concentración de zoosporas de <i>P. capsici</i> en la resistencia de 11 cultivares de chile dulce	61
4.3.1.1	Inoculación	62
4.3.1.2	Efecto de la interacción cultivar por concentración sobre la resistencia o susceptibilidad hacia <i>P. capsici</i>	63

	Nº Página
4.3.1.3 Efecto del riego sobre la resistencia o susceptibilidad de los cultivares de chile a <i>P. capsici</i>	69
4.3.1.4 Efecto de la alta concentración de inóculo en el comportamiento de la resistencia o susceptibilidad de los cultivares de chile.	71
4.3.1.5 Efecto de la altura de planta sobre la resistencia o susceptibilidad a <i>P. capsici</i> .	73
4.3.2 DISCUSION GENERAL	75
4.3.2.1 Determinación de razas fisiológicas.	75
4.3.2.2 Resistencia de cultivares de Chile Criollo a <i>P. capsici</i> .	77
4.3.2.3 Diferenciación de razas fisiológicas y resistencia en cultivares	80
5. CONCLUSIONES	81
6. RECOMENDACIONES	83
7. BIBLIOGRAFIA CITADA	85
8. ANEXOS	91

MERCADO MEJIA, J. A. 1990. Evaluación de resistencia de cultivares criollos de chile dulce (*Capsicum annuum*) A *Phytophthora capsici* y determinación de razas fisiológicas del hongo. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 94 p.

Palabras claves: *Phytophthora capsici*, *Capsicum annuum*, Resistencia, Razas fisiológicas.

RESUMEN.

La marchitez fungosa del chile, causada por *Phytophthora capsici*, es una enfermedad muy severa capaz de producir pérdidas entre 10 y 100 % de acuerdo a la resistencia y manejo del cultivar utilizado. Su control demanda el uso de muchas prácticas culturales y químicas y sin embargo el problema persiste, a pesar del incremento en los costos de producción y la contaminación del medio ambiente.

Por las razones antes expuestas se planteó evaluar cultivares criollos de chile de Centro América y Panamá para determinar si presentan algún nivel de resistencia que permita utilizarlos como material genético en programas de mejoramiento; conocer la variabilidad en virulencia de las razas fisiológicas y determinar si el riego y la concentración de zoosporas tienen efecto sobre el nivel de resistencia de los materiales evaluados.

Para dar respuesta a estas interrogantes se caracterizó y evaluó las razas fisiológicas y se determinó el nivel de resistencia de los cultivares criollos en laboratorio, invernadero y campo.

Los resultados de las evaluaciones demostraron que solamente el cultivar "CATIE-Cacao" presentó una resistencia intermedia correspondiente a una incidencia menor del 50%,

intermedia correspondiente a una incidencia menor del 50%, cuando fue inoculado con concentraciones menores de 3.2×10^9 zoosporas/ml/planta. El resto de cultivares fueron clasificados como susceptibles. También se comprobó que cada aislamiento de tejido afectado puede estar compuesto por una mezcla de razas, lo cual dificulta el mejoramiento de los materiales por ser estos resistentes a una raza pero susceptibles a otra. Se logró clasificar 16 razas fisiológicas las cuales presentaron diferencias en incidencia y patogenicidad, habiéndose encontrado razas no patogénicas. El nivel de incidencia de la enfermedad se alcanzó en un menor tiempo cuando se aplicó una sola raza que cuando se utilizó una mezcla de razas.

De acuerdo a los resultados se considera conveniente determinar el componente genético del cultivar "CATIE-Cacao" que le confiere resistencia y evaluar las razas de *P. capsici* que no fueron patogénicas así como el uso de mezclas para determinar su aplicación en control biológico.

MERCADO MEJIA, J. A. 1990 Evaluation of the resistance of domestic red pepper (*Capsicum annuum*), *Phytophthora capsici*, and the determination of the physiological races of fungal wilt. Tesis Mag. Sc., Turrialba, Costa Rica. CATIE. 94 p.

Key words: *Phytophthora capsici*, *Capsicum annuum*, resistance, physiological races.

SUMMARY

Fungal wilt of red pepper caused by *Phytophthora capsici* is a very severe disease which may produce losses between 10 and 100% according to the resistance and management of the cultivar utilized. Its control requires the use of many cultural and chemical practices; however, the problem remains, despite of the increase in production costs and environmental pollution.

Due to the above-mentioned reasons, an evaluation of domestic cultivars of red pepper from Central America and Panama was carried out, in order to determine: whether they present a level of resistance that would permit their use as genetic material in improvement programs, to know the variability of virulence of the physiological races of the fungus, and to determine if irrigation and the concentration of zoospores have an effect on the level of resistance of the materials evaluated.

To answer these questions, physiological races were characterized and evaluated, and the level of resistance of the domestic cultivars was determined in the laboratory, in the greenhouse, and in the field.

The results of the evaluations showed that only the cultivar "CATIE-Cacao" presented intermediate resistance corresponding to an incidence lower than 50% when inoculated with concentrations lower than 3.2×10^6 zoospores/ml/plant. The other cultivars were classified as being susceptible. It was also shown that each isolate from the infected tissue was composed of a mixture of races, which makes material improvement more difficult since cultivars may be resistant to one race but susceptible to another. It was possible to classify 16 physiological races which presented incidence and pathogenicity differences, as well as non-pathogenic races. A given level of disease incidence was reached in a shorter period of time when only one race was applied than when a mixture of races was used.

According to the results, it is considered convenient to determine the genetic component of the cultivar "CATIE-Cacao" which confers resistance to *P. capsici* and to evaluate non-pathogenic races, and the use of mixtures to determine their applicability in biological control.

LISTA DE CUADROS

	Nº Página
Cuadro 1. Cultivares criollos de chile evaluados para la búsqueda de resistencia a <i>P. capsici</i>	21
Cuadro 2. Inóculo de <i>P. capsici</i> utilizado en la evaluación de cultivares criollos de chile.	22
Cuadro 3. Razas fisiológicas de <i>P. capsici</i> determinadas por su patogenicidad 10 días después de inoculadas en hoja desprendida de siete especies diferenciales.	39
Cuadro 4. Incidencia de 10 razas fisiológicas en la evaluación de resistencia en hoja desprendida.	48
Cuadro 5. Razas fisiológicas de <i>P. capsici</i> determinadas por su patogenicidad 10 días después de inoculadas en el cuello de plantas de siete especies diferenciales.	52
Cuadro 6. Porcentaje de incidencia de 10 razas fisiológicas inóculadas en 11 cultivares de chile bajo condiciones de invernadero 26 días después de la inoculación	53
Cuadro 7. Porcentaje de incidencia provocado por 10 razas fisiológicas de <i>P. capsici</i> en 11 cultivares de chile dulce evaluados en el tiempo.	55
Cuadro 8. Análisis de varianza combinado para las seis lecturas de incidencia de <i>P. capsici</i> .	64
Cuadro 9. Comportamiento de 11 cultivares de chile criollo bajo tres concentraciones de inóculo de <i>P. capsici</i> .	65

Cuadro 10. Prueba de Duncan para la interacción riego por concentración a dos niveles de probabilidad	70
Cuadro 11. Altura de planta de 11 cultivares de chile dos días antes de la inoculación.	74
Cuadro 12. Comparación de efecto producido por los cultivos monóspóricos en el cultivar Criollo Guatemalteco bajo condiciones de laboratorio e invernadero.	76
Cuadro 13. Evaluación de resistencia de 11 cultivares de chile en laboratorio y campo.	78

LISTA DE FIGURAS

		Nº Página
Figura 1	Crecimiento promedio diario de <i>P. capsici</i> en dos medios de cultivo	43
Figura 2	Crecimiento diametral de doce razas fisiológicas en V - 8.	44
Figura 3	Crecimiento diametral de doce razas fisiológicas en P5 VPP-B	45
Figura 4	Producción promedio de zoosporas en dos medios de cultivo	46
Figura 5	Producción promedio de zoosporas por ml en P5 VPP-B	47
Figura 6	Producción promedio de zoosporas por ml en V-8	47
Figura 7	Porcentaje de incidencia de la raza uno en 11 cultivares de chile	56
Figura 8	Porcentaje de incidencia de la raza ocho en 11 cultivares de chile	57
Figura 9	Porcentaje de incidencia de la raza nueve en 11 cultivares de chile	58
Figura 10	Porcentaje de incidencia de la raza 13 en 11 cultivares de chile	58
Figura 11	Comportamiento de cinco cultivares de chile a la mezcla de cuatro inóculos	60

Figura 12 Incrementos en los porcentajes de incidencia de cuatro cultivares de chile durante seis semanas a partir del momento de inoculación	63
Figura 13 Efecto de la concentración de inóculo en la incidencia de <i>P. capsici</i>	67
Figura 14 Comportamiento de cuatro cultivares de chile bajo el efecto de la concentración 3.2×10^9	68
Figura 15 Comportamiento de cuatro cultivares de chile a concentraciones mayores a 4×10^9 zoosporas/ml	71

1. INTRODUCCION

La marchitez fungosa del chile causada por *Phytophthora capsici* es la principal limitante que tiene este cultivo en la mayoría de las áreas productoras del mundo Reifschneider *et al.*, 1986, con pérdidas que oscilan entre un 10 y 100%, razón por la cual en muchas áreas se ha abandonado el cultivo o se ha desplazado hacia nuevas áreas donde la enfermedad no está presente (Mora, 1989).

Ante la dificultad de la lucha química contra *P.capsici* muchos intentos se han hecho con prácticas que disminuyen la cantidad de inóculo inicial tales como rotación de cultivos, elevar la altura de camellones de siembra y otras labores culturales, sin embargo, el problema persiste.

La forma más factible y económica sugerida para solucionar el problema de la marchitez, es a través de la incorporación de resistencia en los cultivares, ya que una vez obtenida los costos de control se disminuyen y se evita la contaminación del medio ambiente.

Muy pocas investigaciones se han realizado para determinar si los cultivares de chile criollo presentan resistencia a *P.capsici*. Azurdía y González, 1986, sugieren que los genes de resistencia deben buscarse en los materiales criollos en las áreas de diversidad del cultivo.

El presente estudio busca determinar si a nivel de las zonas productoras de Centro América y Panamá existe germoplasma criollo que presente resistencia a esta enfermedad; determinar si en el área existe una o más razas fisiológicas del patógeno y si el riego y la concentración de zoosporas son factores que afectan la expresión de resistencia de los cultivares, dado que se ha reportado que cultivares con cierto nivel de resistencia al ser expuestos a estas condiciones llegan a presentar la enfermedad.

2. REVISION DE LITERATURA

La marchitez fungosa del chile causada por *Phytophthora capsici* es una enfermedad muy severa. En semillero, los daños suelen ser muy graves y podría destruir una siembra en muy poco tiempo, especialmente cuando el hongo se encuentra bajo condiciones favorables de temperatura (25-28°C) y alta humedad. *P. capsici* es un hongo sumamente agresivo y puede destruir campos enteros de chile, calabaza, berenjena, melón, tomate y pepino en un tiempo relativamente corto, debido a su gran velocidad de crecimiento y abundante esporulación (Alfaro y Vega, 1971; Kreutzer, et al., 1940; Wiant y Tucker, 1940).

2.1 Sintomatología de la enfermedad

La marchitez fungosa puede atacar cualquier parte o partes de la planta y a cualquier edad. Los síntomas son diferentes si se presenta en la época seca en cultivos bajo riego o durante la época lluviosa (Malaguti y Pontis, 1950).

Cuando la enfermedad se presenta en plántulas de almácigo lo hace en forma de "manchones", los cuales se extienden rápidamente, provocando el síntoma característico del mal del talluelo o caída del almácigo. Por lo general la infección inicial se manifiesta a nivel del suelo, aunque también puede presentarse en el brote terminal o en la parte central del tallo. Los tallos con la enfermedad presentan una mancha de color castaño rojizo que avanza hacia arriba y llega a cubrir todo el contorno del tallo, la parte afectada por el hongo pierde turgencia y la plántula puede caer o quedar erguida.

Si las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de la enfermedad, cualquier almácigo puede ser destruido totalmente en 24 a 48 horas (Sarasola y Rocca, 1975; Alfaro y Vega, 1971).

Cuando las plantas se encuentran en el campo, los síntomas de la enfermedad se presentan generalmente a partir de los dos

meses y el número de plantas enfermas aumenta en forma progresiva, a medida que las plantas se acercan a la madurez.

La enfermedad se localiza en la parte más baja del tallo en forma de lesiones secas al nivel del suelo (Leonian, 1922). La lesión consiste en una mancha de color marrón verdusca que se ennegrece según el grado de lignificación de la planta. Las raíces presentan manchas similares que se oscurecen conforme aumenta la enfermedad (Malaguti y Pontis, 1950).

El primer síntoma de la enfermedad se presenta como una marchitez en las hojas cuando la transpiración alcanza su mayor intensidad, después esa marchitez se extiende al resto de la planta de manera permanente. Las hojas de las plantas enfermas aparecen colgantes, poco turgentes pero conservando su color verde; el cual continúa hasta el momento en que la planta se seca. Al disminuir la vitalidad de la planta, hace la aparición el color rojo de los frutos, seguido por su corrugamiento. Los tallos continúan erguidos con las hojas de color pardo rojizo y frutos secos, corrugados y colgando de la planta (Alfaro y Vega, 1971).

2.2 Distribución geográfica de la enfermedad

Desde el momento que Leonian, 1922, encontró en México que la marchitez del chile era causada por *P. capsici*, muchos reportes se han hecho de la enfermedad lo cual indica que está presente en varios países de América y en España (Mora, 1977; Fernández, 1983; Bazán de Segura, 1962; Sarasola y Rocca, 1975; Malaguti y Pontis, 1950; Reifschneider *et al.*, 1986).

2.3 Resistencia genética

La identificación e incorporación de resistencia durable a marchitez causada por *P. capsici* ha sido parte de los objetivos de muchos trabajos de investigación (Reifschneider *et al.*, 1986), sin embargo en muy pocos casos se ha logrado resultados satisfactorios.

La resistencia genética es considerada la piedra angular de cualquier programa de control integrado de plagas (Valencia y Estrada, 1986) y es la forma más eficaz y económica (Mora, 1977) de control de enfermedades debido a que no eleva los costos de producción (González, 1986), ni contamina el medio ambiente.

La resistencia debe buscarse en poblaciones de gran variabilidad genética (González, 1976), esta resistencia puede encontrarse en los cultivares criollos (Mora, 1977) de los países de Centro América y en especial en las colecciones de Guatemala, dado que ese país se considera como centro de diversidad de *Capsicum spp.* (Azurdía y González, 1986).

Ante la dificultad de la lucha química contra *P. capsici*, muchos intentos se han realizado en América para obtener cultivares resistentes, sin embargo en la mayoría de los casos no se ha logrado llegar a la inmunidad y sólo con algunos cultivares se han obtenido niveles altos de resistencia. Kimble y Grogan, 1960, evaluaron 613 líneas y variedades de *Capsicum annum* para determinar resistencia a *P. capsici*, estos autores encontraron una serie de selecciones que fueron clasificadas como resistentes; la selección PI 201234 presentó un 95% de plantas sin daño después de 30 días de evaluación; en contraste el cultivar "California Wonder" presentó la enfermedad en forma severa cinco días después de la inoculación. Esta misma selección PI 201234 al ser evaluada en Perú junto a otras 99 variedades resultó ser una variedad con alto grado de resistencia (Bazán de Segura, 1962).

Barksdale *et al.*, 1984 y Smith *et al.*, 1967, demostraron el alto grado de resistencia que presenta esta variedad al tizón foliar y a la pudrición de la base del tallo causado por *P. capsici*.

Jiménez *et al.*, 1988, al evaluar las introducciones 17245 y 17248 de origen panameño demostraron que éstas presentan

resistencia intermedia a *P. capsici*, siendo la más promisoría la 17245 por sus características agronómicas.

Romero, 1962, evaluó diversas colecciones de chile "pasilla" y "serrano" y determinó que estas colecciones son completamente inmunes, pero las colecciones de chile "mulato" son muy susceptibles y que dentro de las colecciones de chile "ancho" existe todo un rango de variación en cuanto a resistencia.

Peter et al., 1984, evaluó tres líneas experimentales de chile picante y seis cultivares comerciales de chile dulce, solamente la línea "Kau cluster" fue resistente (menos del 25 % de plantas con síntomas) y tres fueron clasificadas como moderadamente resistentes.

Romero, 1962, demostró que el material genético que en el país de origen habían manifestado resistencia, cuando se evaluó en ambientes diferentes, su comportamiento fue variable.

2.3.1 Resistencia juvenil

Muchos reportes se han publicado sobre la pérdida de la resistencia en germoplasma de chile considerado resistente a *P. capsici*. Café y Reifschneider, 1986, indican que inoculaciones tempranas incrementan el número de plantas que presentan la enfermedad por lo cual la edad se considera un factor importante en la resistencia de la planta. Esto demuestra que no existe resistencia juvenil y que solamente ocurre en plantas que presentan más de 34 días de edad (Reifschneider et al., 1986). Alas, 1988, demostró que las plantas entre ocho y nueve semanas de edad fueron más resistentes que plantas menores a esa edad y que la resistencia aumenta en forma proporcional a la edad, ya que el avance de la enfermedad es más rápido en plantas jóvenes que en plantas viejas (Kim et al., 1989), debido a que la

lignificación del tejido parece que dificulta y retarda el avance del patógeno (Alfaro y Vega, 1971). Este mismo fenómeno se presentó cuando Jiménez *et al.*, 1988, evaluaron 47 líneas de chile provenientes de Centro América, Estados Unidos y Brasil y encontraron que todas las líneas fueron susceptibles a nivel de invernadero, lo que evidenció que en estas líneas no existía resistencia juvenil a *P. capsici*; por lo que se considera importante estudiar parámetros como concentración de zoosporas y condiciones ambientales que afectan la resistencia juvenil (Café y Reifschneider, 1986).

2.3.2 Métodos de evaluación de resistencia

Existen muchos métodos para evaluar resistencia hacia *P. capsici* tales como inoculación en el tallo, inoculación en el suelo, inoculación en la hoja. Reifschneider *et al.*, 1986 y Alas, 1988, recomiendan que las evaluaciones para determinar resistencia deben realizarse en la base de la planta cuando éstas tengan más de 34 días de edad, debido a que plantas de menor edad no presentan ninguna resistencia. Barksdale *et al.*, 1984, demostró que el método de inoculación foliar resultó ser más fácil de manejar y más económico que el de inoculación en tallo y suelo.

Kim *et al.*, 1989, sugiere que la inoculación foliar puede ser inapropiada para la selección de resistencia en cultivares de chile a *P. capsici* debido a que los factores genéticos que gobiernan la susceptibilidad en la hoja pueden no ser los mismos que gobiernan la resistencia en el tallo o raíz.

2.3.3 Método de inoculación para determinar resistencia

Para determinar resistencia en cultivares, selecciones o líneas, el método y las condiciones de inoculación deben ser uniformes para reproducir resultados y obtener altos niveles de enfermedad (Dhingra y Sinclair, 1985).

En las evaluaciones se han utilizado diferentes inóculos tales como suelo y material vegetativo infectados (Zambrano, 1976), medio de cultivo más micelio de hongo (Polach y Webster, 1972), medio de cultivo más esporangios, aplicaciones de zoosporas en tallo, hoja y suelo (Kim *et al.*, 1989), inmersión del sistema radicular en zoosporas, no obstante el método de inoculación a la base de la planta es el más efectivo para evaluar resistencia (Reifschneider *et al.*, 1986).

Otros autores coinciden en que las concentraciones altas de inóculo (zoosporas) y el continuo y prolongado contacto del patógeno con las plantas puede hacer que plantas que presentan niveles intermedios y altos de resistencia (Barksdale *et al.*, 1984; Smith *et al.*, 1967; Jiménez *et al.*, 1987) puedan presentar síntomas de la enfermedad igual que plantas susceptibles. Jiménez *et al.*, 1989, considera que el uso de suelos infestados artificialmente meses antes del trasplante imita mejor las condiciones de campo de agricultores y que éste podría ser un método capaz de determinar niveles intermedios de resistencia, lo cual no es posible cuando se hacen inoculaciones directamente a la planta. Estos niveles intermedios de resistencia son capaces de contrarrestar el ataque que se presenta en suelos infestados naturalmente.

2.3.4 Bases genéticas de la herencia para obtener resistencia a *P. capsici*

Al estudiar las bases genéticas de la herencia para obtener resistencia a *P. capsici* deben de tomarse en consideración los siguientes resultados de la interacción planta x patógeno x medio ambiente: 1) que la epidemia se desarrolle en forma lenta en el hospedero; 2) que existan individuos altamente resistentes o inmunes a las razas presentes del patógeno.

A través de estas condiciones se podrá seleccionar individuos con niveles intermedios y altos de resistencia que sean capaces de soportar el desarrollo del patógeno, o al menos permitir que la planta pueda llegar a producir una cosecha económicamente rentable (Jiménez *et al.*, 1988).

Estudios preliminares han indicado que la resistencia a *P. capsici* es heredable; esto hace posible incrementar los niveles de resistencia por selección de líneas (Café y Reifschneider, 1986).

Las bases genéticas de la resistencia hacia *P. capsici* son diversas según el cultivar, selección o línea que se esté evaluando. Smith *et al.*, 1967, al evaluar la herencia de la resistencia en la progenie de los cruces entre las selecciones PI 129469, PI 201232, PI 201234 y variedad "Yolo Wonder" (Padre susceptible) encontró que descendientes de estos cruces presentaron resistencia transmitida por un solo par de genes, mientras que otras líneas presentaron resistencia, que fue transmitida por dos pares de genes dominantes sin efectos aditivos, los cuales transmiten alto grado de resistencia pero sin llegar a la inmunidad. Barksdale *et al.*, 1984; Heredia y Galindo, 1971; Saini y Sharma, 1978, al estudiar una progenie de cruces encontraron que la resistencia era transmitida únicamente por un solo par de genes dominantes.

Transferencia de genes

En muchas oportunidades se ha comprobado que genes de resistencia a *P. capsici* se encuentran con mayor frecuencia en especies cuyo contenido de capsicina es alto (Ovalle, 1987; Peter *et al.*, 1984). Café y Reifschneider, 1986, demostraron que esta resistencia es fácilmente heredable y se puede transferir a otros cultivares cuyo contenido de capsicina sea bajo. Saini y Sharma, 1978, al cruzar una variedad de fruto pequeño picante (alta punjencia) con una variedad de fruto grande de baja punjencia obtuvo a través de varios ciclos de

selección, variedades de frutos grandes de baja punjencia y con resistencia a la pudrición del fruto causado por *P. capsici*.

2.4 Razas fisiológicas

Raza fisiológica se entiende como la parte de la población de un patógeno cuya reacción con un grupo de cultivares permite diferenciarla de otras del mismo patógeno con base en los diferentes grados de infección (resistencia o susceptibilidad) resultantes de la interacción planta x patógeno x ambiente.

Agriós, 1985, menciona que los hongos producidos a través de procesos sexuales (oósporas, ascósporas y basidiósporas) difieren unos de otros y de sus progenitores. Por el contrario las especies que se reproducen asexualmente reducen su variabilidad. Los patógenos tales como hongos, bacterias, virus y probablemente microplasma pueden producir individuos diferentes aún en ausencia de procesos sexuales, debido a las mutaciones y adaptaciones citoplasmáticas.

Romero, 1962, observó que material genético el cual había manifestado resistencia a *P. capsici* en su país de origen, cuando se evaluó en otro ambiente se comportó diferente, esta situación dió la pauta para pensar y sugerir la existencia de razas fisiológicas del patógeno.

Diferencias cuantitativas en cuanto a enfermedad han sido observadas bajo diferentes aislamientos, los cuales difieren en su virulencia o agresividad (Kennedy *et al.*, 1986; Reifschneider *et al.*, 1986).

Galindo y Zentmyer, 1967, encontraron evidencia de que existe recombinación genética ya que al cruzar dos razas y evaluar 126 colonias monospóricas, 20 de ellas resultaron parecidas a uno de los padres, 40 parecidas al otro y 62

fueron recombinantes. Estas colonias monospóricas presentaron diferencias fenotípicas en cuanto a color.

La recombinación genética en el patógeno también fue comprobada por Romero y Erwin, 1969, cuando al realizar cultivos monospóricos partiendo de zoosporas de un cultivo monospórico, no encontraron diferencias en patogenicidad, pero al realizar cultivos monospóricos de la progenie del cruce 473 (A1) x 445 (A2) obtuvo gran variedad de razas. Estos resultados indicaron que los genes que controlan esas características en los padres, recombinan en su progenie y que los genes de patogenicidad son heredados en forma independientemente y probablemente no existen en el mismo cromosoma.

Papavizas *et al.*, 1981, encontraron que ambos tipos compatibles (A1 y A2) de *P. capsici* se encuentran presentes en campos comerciales y en varios casos fueron encontrados en el mismo campo o en la misma planta, de ahí que ambos tipos puedan cruzarse y recombinar su material genético para dar origen a nuevas razas fisiológicas.

Existen varios sistemas de clasificación de razas fisiológicas, los cuales se basan en reacciones de resistencia o susceptibilidad (Converse y Scott, 1962). Se menciona que por cada gene de resistencia o combinación de genes de resistencia en diferenciales de papa, existe una correspondiente raza fisiológica de *Phytophthora infestans*.

Para comprobar esta teoría se estudió la reacción de 30 cultivos monospóricos de *P. infestans* por medio de inoculaciones en diferenciales de papa, se encontró variación patogénica y los cultivos monospóricos mostraron diferencias en cuanto a velocidad de crecimiento, tipo y color del micelio y esporulación Romero y Erwin, 1969.

Polach y Webster, 1972, evaluaron 23 aislamientos de *P. capsici* y utilizaron varios diferenciales de las siguientes

especies: tomate (*Lycopersicon esculentum*), berenjena (*Solanum melongena*), ayote (*Cucurbita maxima*), sandía (*Citrullus lanatus*), calabaza (*Cucurbita pepo*), melón (*Cucumis melo*) y líneas de chile (*Capsicum* sp), al final lograron diferenciar 14 razas fisiológicas del patógeno.

Ovalle, 1987, realizó la caracterización de los aislamientos de *P. capsici* obtenidos en diferentes zonas de Costa Rica; observó que existía variación en su capacidad patogénica cuando fueron inoculados en las diferentes especies utilizadas como diferenciales. Esta variación de la patogenicidad en los diferenciales le permitió hacer una caracterización inicial de razas fisiológicas.

Cuando se utilizan plantas diferenciales para la clasificación de razas existe variación patogénica con respecto a los diferenciales. Esto indica que la habilidad de atacar un diferencial no significa que este inóculo tenga que producir la enfermedad en otro diferencial (Polach y Webster, 1972).

La diferenciación de razas fisiológicas en chile (*Capsicum* sp) se puede realizar inoculando el sustrato donde se cultiva la planta, la base de la misma o la hoja. Cuando se emplea esta última práctica Dhingra y Sinclair, 1985, recomiendan utilizar hojas nuevas o de edad media, las cuales deben ser colectadas por la tarde debido a su mayor contenido de carbohidratos y proteínas.

La evaluación para determinar la resistencia vertical y la horizontal requiere que los dos tipos de resistencia puedan ser distinguidos y esto no es fácil. La condición indispensable para la selección de resistencia horizontal en presencia de resistencia vertical es el uso de una raza con virulencia que permita suprimir los genes que confieren esa resistencia al cultivar (Parlevliet, 1983).

2.5 Efecto del agua sobre la incidencia de la enfermedad

La mayoría de los investigadores reportan que los factores óptimos para que *P. capsici* produzca la enfermedad son: el estado sanitario de las plantas, exceso de humedad, alta temperatura, precipitación, brillo solar, drenaje superficial, humedad relativa, salpique de la lluvia, concentración de inóculo en el suelo y el periodo de la planta en contacto con el inóculo, (Reifschneider *et al.*, 1986; Schlub, 1983; Blaker y MacDonald, 1981; Malaguti y Pontis, 1950; Ferreyra *et al.*, 1984; Alfaro y Vega, 1971; Romero, 1988; Tompkins y Tucker 1937; Tompkins, 1941; Bécerra, 1975; Barksdale *et al.*, 1984; Smith *et al.*, 1967).

Sin embargo, coinciden en que el exceso de humedad es el factor más importante en la predisposición de la planta para que el patógeno produzca la enfermedad (Romero, 1988; Tompkins y Tucker, 1937; Tompkins, 1941; Raifschneider *et al.*, 1986; Schlub, 1983; Blaker y MacDonalds, 1981; Malaguti y Pontis, 1950; Ferreyra *et al.*, 1984; Alfaro y Vega, 1971; Mora, 1988). El exceso de agua en el suelo puede deberse a un mal drenaje superficial o a exceso de lluvia.

Zambrano, 1976, encontró que los incrementos lineales de la incidencia de la enfermedad no están en relación con el aumento y disminución de la precipitación. Este autor sugiere que el mayor efecto de la precipitación es sobre la producción y diseminación del inóculo; ya que al momento en que disminuyó la precipitación la incidencia de la enfermedad aumentó.

Ribeiro, 1983, encontró que el potencial hídrico en la superficie del suelo es el factor con más influencia sobre la producción de esporangios en todas las especies de *Phytophthora* y en general la humedad relativa de 100% o potencial hídrico de cero son altamente beneficiosos para la formación de esporangios.

Blaker y MacDonalds, 1981, encontraron que plantas de una variedad de Rodendron que fueron inoculadas con una concentración entre 10^4 y 10^5 zoosporas de *Phytophthora cinnamomi* por planta bajo condiciones normales resultó ser resistente, cuando esta misma variedad fue sometida a un potencial hídrico de -16 bares y luego inoculada con la misma concentración de zoosporas por planta, éstas se volvieron susceptibles. Esto significa que la humedad del suelo puede predisponer a las plantas resistentes a la enfermedad y presentar síntomas severos al igual que las variedades susceptibles.

Ferreyra *et al.*, 1984, encontraron que en los tratamientos en los cuales las plantas de Chile hicieron contacto con el agua, el porcentaje de plantas muertas fue mayor y que las plantas que se encontraban en el surco comenzaron a marchitarse antes que aquellas que se encontraban sembradas sobre el camellón, debido a que las primeras hicieron contacto con el agua de riego durante algún momento. En las parcelas donde las plantas no estuvieron en contacto con el agua presentaron menos plantas muertas.

Alfaro y Vega, 1971, observaron que la mayor densidad de plantas muertas se da al final de los surcos, por ser donde más cantidad de agua se acumula en los riegos. El principal papel del riego es la diseminación de las zoosporas y por lo tanto la diseminación de la enfermedad a lugares más distantes, también observaron que en campos donde no existía la enfermedad y fueron regados con agua de río la enfermedad se hizo presente mientras que en terrenos que fueron regados con agua de pozo la enfermedad estuvo ausente.

2.6 Hospederos

En pruebas artificiales de laboratorio Tompkins y Tucker, 1937, encontraron que *P. capsici* fue patogénica a 14 especies de 11 géneros diferentes entre los cuales se encuentran:

Persea gratissima, *Prunus persica*, *Pyrus malus*, *Daucus carota*, *Diospyros kaki*, *Solanum melongena*, *Solanum muricatum*, *Lycopersicon esculentum*, *Capsicum annum*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita pepo*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *Cucumis sativum*. Se observó que bajo condiciones naturales el patógeno no produce la enfermedad en plantas de melón (*Cucumis melo*) pero que sí produjo la enfermedad en frutos verdes y maduros que se encontraban en contacto con el suelo.

Kellam y Zentmyer, 1986, reportaron que *P. capsici* al ser inoculada en plantas de cacao presentó la capacidad de infectar el 40 % de las plantas inoculadas y la mortalidad a las ocho semanas fue de cero por ciento.

Malaguti y Pontis, 1950, encontraron que *P. capsici* es capaz de producir enfermedad en frutos de ahuyama (*Cucurbita maxima*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*) cuando están en contacto con el suelo.

Polach y Webster, 1972 y Ovalle, 1987, para la evaluación de razas fisiológicas utilizaron como plantas diferenciales a tomate, berenjena, ayote, sandía, melón y chile, estas especies habían sido determinadas con anterioridad que eran huéspedes de *P. capsici*.

2.7 Evaluación de la enfermedad

Se ha publicado una serie de metodologías para evaluar la enfermedad causada por *P. capsici* y así determinar el nivel de resistencia que presenta la línea, variedad, selección y/o cultivar.

Se han realizado inoculaciones en plantas en diferentes estados de desarrollo; estado de 2, 4, 6, 8 hojas y en plantas que inician la floración (Kim *et al.*, 1989). Alas, 1988, realizó inoculaciones cada dos semanas hasta la décima semana; en ambos casos se encontró que la resistencia aumenta conforme se aumenta la edad de la planta.

Las fechas de evaluación han sido muy variadas y han oscilado entre cinco y siete días (Kimble y Grogan, 1960; Polach y Webster, 1972) habiendo encontrado que la época óptima para realizar lecturas de incidencia es entre 8 - 20 días después de la inoculación (Kimble y Grogan, 1960).

2.7.1 Metodología de evaluación

Existe una serie de escalas para evaluar el daño causado por la enfermedad, estas escalas pueden ser desde muy sencilla, la cual únicamente considera planta sana, marchita y muerta hasta algunas más complejas.

Peter *et al.*, 1984, consideran que la variedad, línea o selección que presenta índice de daño menor de 25% de plantas con síntomas se considera resistente; las que presentan un porcentaje de daño entre 26 y 50% son consideradas moderadamente resistentes y las que tienen más de 50% de daño se consideran susceptibles. Jiménez *et al.*, 1987, considera que cuando la evaluación se efectúa en campo, debe involucrar el porcentaje de plantas muertas más un valor mínimo de producción que permita obtener ganancias.

Reifschneider *et al.*, 1986, sugieren un procedimiento uniforme y efectivo para evaluar resistencia de chile, el cual consiste en: 1- usar un aislamiento de moderada virulencia, 2- aplicar tres ml de suspensión de zoosporas en la base de la planta, 3- utilizar plantas de 35 días o más de edad y 4- usar una concentración de zoosporas mayor de 10^4 /ml en el invernadero ó 10^3 /ml en campo.

2.8 Concentración de inóculo

Los procedimientos para evaluar resistencia vertical son simples y no requieren controles rigurosos del inóculo. En cambio las condiciones de incubación para evaluar resistencia horizontal deben ser controlados en forma estricta.

Para evaluar patógenos que producen enfermedades foliares o marchitez, el inóculo de esporas es deseable ya que se puede cuantificar la cantidad aplicada. Para estudios comparativos, la cantidad de inóculo debe ser uniforme y se debe aplicar la misma cantidad a cada planta (Dhingra y Sinclair, 1985).

2.8.1 Evaluación en invernadero

Las evaluaciones de resistencia en invernadero han utilizado diferentes métodos de inoculación: inoculación sobre la superficie del suelo e inoculación en la base de la planta; en ambos casos se han utilizado concentraciones de zoosporas que han oscilado entre 2×10^3 hasta 6×10^3 zoosporas/ml agregando dos mililitros por planta. Alas, 1988, recomendó usar las concentraciones de 4×10^3 ó 6×10^3 zoosporas/ml aplicando 2 ml/planta es decir $8 \times 10^3 - 1.2 \times 10^4$ zoosporas/planta inoculada. Kimble y Grogan, 1960, utilizaron en sus evaluaciones una concentración de 5×10^3 , mientras que Reifschneider *et al.*, 1986, encontró que la concentración para evaluar en invernadero debe ser 10^4 zoosporas/ml con aplicación de tres ml/planta y sugiere que la planta que resista esta concentración presenta niveles altos de resistencia. Peter *et al.*, 1984, realizaron sus evaluaciones aplicando un ml de solución con una concentración de 10^4 zoosporas/ml aplicadas en la superficie del suelo

2.8.2 Evaluación de campo

El factor más crítico en las evaluaciones de campo, es que el suelo puede tener microorganismos antagónicos que dificultan el establecimiento del patógeno por lo cual las concentraciones utilizadas han sido más altas que las utilizadas en invernadero (Dhingra y Sinclair, 1985). Otro factor que influye en la resistencia es la lignificación que presenta la corteza de la planta debido a su edad; por esta razón Ovalle, 1987, utilizó en sus evaluaciones de campo concentraciones que oscilaron entre $10^3 - 1.6 \times 10^4$ zoosporas/ml

y encontró que existe una relación directa entre la concentración de inóculo y la tasa de muerte de las introducciones evaluadas. Reifschneider *et al.*, 1986, utilizó concentraciones de zoosporas que oscilaron entre 10^2 y 10^6 zoosporas/ml y reportó que para evaluar resistencia en invernadero deben utilizarse concentraciones de 10^4 zoosporas/ml y para evaluar resistencia de campo se deben usar concentraciones de 10^5 ya que con estas concentraciones únicamente sobreviven las variedades con un nivel de alta resistencia. Debe tenerse mucho cuidado con los niveles de concentración, ya que niveles altos pueden hacer que plantas que presentan resistencia manifiesten síntomas igual que las variedades susceptibles.

2.9 Periodo de incubación del patógeno

Bajo las condiciones de Nuevo México la primera lesión visible en el fruto de chile (*Capsicum annuum*) aparece 24 horas después de la inoculación y en el tallo leñoso se puede observar una semana después de la inoculación (Leonian, 1922).

Tompkins y Tucker, 1937, al realizar inoculaciones del patógeno sobre frutos verdes de melón (*Cucumis melo*) encontraron que el periodo de incubación fue de cuatro días mientras que las inoculaciones sobre frutos maduros fue de seis días.

2.10 Supervivencia de *P. capsici*

En muy pocos artículos se reporta la forma y tiempo de supervivencia del patógeno. Avelar, 1989, señala que el hongo puede sobrevivir hasta 10 meses en suelos que no presentan las condiciones adecuadas. Malaguti y Pontis, 1950, reportaron que este podría sobrevivir hasta por un periodo de dos años.

2.11 Diseminación de la enfermedad

La mayoría de investigadores coinciden en que el medio de diseminación de la enfermedad es a través del agua; puede ser de riego o agua de lluvia que escurre sobre la superficie del suelo (Alfaro y Vega, 1971; Zambrano, 1976; Schlub, 1983). En el primer reporte de la enfermedad realizado por Leonian, 1922, menciona que la enfermedad tiene la posibilidad de diseminarse por semilla. Al respecto Tompkins y Tucker, 1937, no encontraron ninguna evidencia de que la enfermedad se transmitiera por la semilla ya que en ninguno de los casos, de una serie de pruebas de germinación, el hongo se aisló de semillas que provenían de plantas enfermas.

2.12 Otros métodos de control

2.12.1 Control biológico

En busca de alternativas de control más efectivo Delen y Tezcan, 1986, evaluaron en laboratorio el efecto de 12 antagonistas y cuatro fungicidas sobre el control de *P. capsici*, los antagonistas más efectivos incluyen: *Trichoderma viride*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium patulum*, los cuales presentaron una efectividad de 84.3, 81.8 y 81.4% respectivamente. Cuando los antagonistas fueron combinados con fungicidas se obtuvo mejor control, siendo el tratamiento de *Aspergillus flavus* más thiram el de mejor control contra *P. capsici* debido a que thiram fue el fungicida que menos daño causó a los antagonistas.

2.12.2 Control cultural

Entre las técnicas de control cultural que se han utilizado se pueden mencionar enmiendas, solarización (Avelar, 1989), incrementos en la altura de camellones de siembra, eliminación de plantas enfermas, evitar la siembra en suelos con mal drenaje, uso de variedades resistentes (Mora, 1988 y MAG, 1983). Todas estas prácticas culturales han sido

utilizadas para disminuir la tasa de inóculo inicial, por lo cual se recomienda que estas prácticas deben iniciarse con anticipación al cultivo y acompañarlas con rotación de cultivos en aquellos terrenos donde la incidencia ha sido alta el año anterior (Avelar, 1989).

La inhibición del crecimiento del hongo *P. capsici* ocurre a temperaturas mayores a 35°C, sin embargo los incrementos mayores a esta temperatura registrados en el experimento realizado por Avelar, 1989, no fueron suficientemente eficaces para detener el desarrollo de la enfermedad debido a que el hongo se encuentra a profundidades mayores de 10 cm y a esta profundidad las temperaturas fueron menores y cuando el hongo penetra en la base del tallo donde se registraron temperaturas inhibitorias éstas no fueron constantes por espacios prolongados.

Becerra, 1975, observó que al incrementar la altura de los lomillos entre 30 y 40 cm, la enfermedad se reduce debido a que el patógeno se encuentra en desventaja para alcanzar la zona cortical del tallo, ya sea por efecto del salpique de la lluvia o el agua de escorrentía.

2.12.3 Control químico

Estudio *in vitro* mostraron que thirám, captán y mancozeb fueron los fungicidas que presentaron condiciones promisorias para el control de *P. capsici* y entre ellos thirám fue el más efectivo ya que controla la enfermedad y es el que menos daño causa a los hongos antagonistas del patógeno que se encuentran en el suelo (Delen y Tezcan, 1986).

Avelar, 1983, encontró que metalaxil redujo la enfermedad y protegió la cosecha produciendo retorno de ganancias, no obstante resulta peligroso depender de este agroquímico debido a que el patógeno puede desarrollar resistencia.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación

Este trabajo se realizó en las instalaciones del CATIE en dos etapas, la primera correspondió a la preparación del material y la segunda a la etapa experimental que se subdividió en tres fases: laboratorio, invernadero y campo.

El CATIE se encuentra ubicado en el cantón de Turrialba, provincia de Cartago, Costa Rica, a 9°52' latitud norte y 83° 38' latitud oeste, con una elevación de 603 msnm y una precipitación pluvial anual de 2600 mm; temperatura promedio anual de 26 °C, humedad relativa de 87%, radiación solar promedio mensual de 11822 cal/cm² y una evaporación de Tanque A promedio mensual de 106 mm.

3.2 Etapa de preparación del material experimental

3.2.1 Material experimental de Chile

Los cultivares criollos de Chile (*Capsicum annuum*) utilizados en este estudio fueron colectados en Centro América y Panamá. Los cultivares panameños se obtuvieron en el banco de germoplasma del Programa I del CATIE. El resto de cultivares fueron obtenidos en las áreas productoras de cada uno de los países de Centro América (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cultivares criollos de Chile evaluadas para la búsqueda de resistencia a *P. capsici*

Cultivar	País de origen
0 -"Tres cantos"	El Salvador
1 -"Trompa de buey"	El Salvador
2 - Colección CATIE 17248	Panamá
3 -"Nájera 2"	Costa Rica
4 -"CATIE-Cacao"	Costa Rica
5 -"Criollo Guatemalteco"	Guatemala
6 -"Tropical irazú"	Costa Rica
7 - Colección CATIE 17245	Panamá
8 -"Líneas TAB-85"	Honduras
9 -"Líneas HMG-85"	Honduras
10 -"Líneas MAEAS"	Honduras

3.2.2 Selección de plantas diferenciales

Para la diferenciación de razas fisiológicas se incluyeron como plantas diferenciales a tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv "Dina", chile (*Capsicum annuum*) cv. "Criollo Guatemalteco", berenjena (*Solanum melongena*) cv. "Black beauty", melón (*Cucumis melo*) cv. "Jumbo", sandía (*Citrullus lanatus*) cv. "Charleston gray", pepino (*Cucumis sativum*) cv. "Poinset", ayote (*Cucurbita maxima*) cv. "Criollo de Turrialba".

La selección de estos diferenciales se realizó de acuerdo a los estudios realizados por Polach y Webster, 1972; Ovalle, 1987 y los reportes de Tompkins y Tucker, 1937; Malaguti y Pontis, 1950; Kreutzer, *et al.*, 1940, quienes encontraron que una o más de estas especies fueron hospederos a *P. capsici* en alguna de sus evaluaciones.

3.2.3 Material experimental de *P. capsici*

El inóculo de *P. capsici* usado en este estudio fue obtenido del banco de inóculo del Programa I del CATIE. Estos aislamientos fueron colectados por Ovalle, 1987, en diferentes zonas ecológicas y en diferentes pisos altitudinales de Costa Rica y mantenido en aceite estéril para su conservación. De

este banco fueron seleccionados los inóculos más virulentos identificados en evaluaciones anteriores (Cuadro 2).

CUADRO 2. Inóculo de *P. capsici* utilizado en la evaluación de cultivares criollos de Chile.

Colección CATIE Nº	Lugar y año de colección	Raza
266	Turrialba, CATIE, 1987	8
590	Turrialba, CATIE, 1987	1
49	San Carlos, 1987	2
307	Cartago, Tobosi, 1987	6
San Martín	Turrialba, San Martín, 1989	NCL

NCL = no clasificada

3.2.3.1 Aislamiento del patógeno

Del patógeno guardado en aceite estéril se cortaron pequeños trozos (aproximadamente 0,12 cm²) del cultivo puro de *P. capsici* y se colocaron sobre un plato de petri con medio de cultivo Agar-Agua (18 gramos de Difco Agar por litro de agua).

El inóculo de campo se obtuvo en fincas de productores en San Martín de Turrialba a través de colectas de material vegetativo con síntomas de la enfermedad. Estas muestras fueron llevadas al laboratorio en donde a cada planta se le cortó el sistema radicular y foliar, procurando dejar el área en la cual los síntomas de la enfermedad eran más visibles. La parte de la planta afectada fue colocada en un beaker de vidrio, el cual se ubicó bajo un grifo donde el material fue lavado con agua en circulación durante dos horas.

Una vez lavado el material vegetativo, fue colocado sobre papel secante para permitir que el material eliminara el exceso de agua adherida, luego las plantas fueron llevadas a

la cámara de flujo laminar y se sumergieron durante 10 segundos en alcohol de 70%; posteriormente con la ayuda de un bisturí esterilizado a la llama se procedió a eliminar la corteza y a extraer pequeños trozos de xilema, con un tamaño aproximado de 2-3 mm, procurando que este material fuera obtenido en el límite de la lesión, para obtener tanto material sano como material con síntomas iniciales de la enfermedad.

Una vez obtenidos los trozos de material vegetativo fueron sometidos a un proceso de lavado durante un minuto, en un crisol que contenía agua estéril, este proceso fue repetido cuatro veces, luego el material vegetativo nuevamente fue colocado sobre papel secante para escurrir el agua adherida, posteriormente el material vegetativo fue colocado en una caja de petri conteniendo medio de cultivo agar-agua. Cuatro a cinco días después se hizo la diferenciación de *Phytophthora* de otros hongos.

Una vez que se determinó la presencia de *P. capsici* se transfirieron trozos de 0.25 cm² de medio de cultivo agar-agua a cajas de petri que contenían medio de cultivo V-8 (200 ml de jugo de vegetales; 3.5 g de carbonato de calcio, 18 g de agar y 780 ml de agua) French y Hebert, 1980. Esta transferencia, en la mayoría de los casos fue infructosa debido a que el patógeno en agar-agua era acompañado por bacterias, las cuales al ser transferidas a V-8 se desarrollaban más rápidamente e invadían el medio de cultivo, evitando de esta manera el crecimiento de *P. capsici*.

Para solucionar este problema, los trozos de agar-agua con crecimiento inicial fueron transferidos al medio de cultivo PSVPP-B (cuya composición consiste en 17 g de medio de cultivo Corn meal agar, 5 ppm de Pimaricín, 50 ppm de Vancomicín, 100 ppm de Penicilín G, 100 ppm de PCNB, 2.5 ppm de Benomil, acidificado a 3.8 - 4.0 con ácido clorhídrico 1.0 normal) modificación del medio de Papavizas *et al.*, 1981. Este medio

permitió limpiar el hongo de bacterias durante los primeros 12 días de crecimiento. Una vez aislado el patógeno limpio de bacterias en medio P5VPP-B (modificado) se procedió a tomar trozos de 0.25 cm² de medio de cultivo y transferidos a V-8 donde se dejaron crecer por espacio de 10 días hasta que el hongo cubrió totalmente el medio de cultivo en el plato de petri. En este momento los medios de cultivo fueron perforados cortando entre 20 y 30 discos de 0.5 cm de diámetro en diferentes lugares; luego se procedió a llenar los espacios, aplicando 20 ml de agua destilada estéril, procurando llenar los agujeros y mojar el micelio con el fin de promover la formación de esporangios. El medio de cultivo humedecido fue dejado bajo las condiciones del laboratorio durante ocho días.

Pasado este tiempo y observada la producción de esporangios se procedió a eliminar el agua de los platos de petri e inmediatamente después se aplicó 20 ml de agua destilada por plato de petri enfriada a una temperatura aproximada de 10°C; seguidamente los medios de cultivo fueron colocados en el refrigerador a una temperatura de 4°C durante 20 minutos, transcurrido este periodo los platos de petri fueron sacados del refrigerador y colocados en un lugar oscuro a temperatura ambiente por un periodo igual al anterior; (Lawrence, 1978) finalmente los platos de petri fueron observados al microscopio para comprobar la producción de zoosporas.

3.2.3.2 Cultivos monospóricos

Para la preparación de los cultivos monospóricos se siguió la metodología sugerida por French y Hebert, 1980, la cual se modificó en algunos pasos para mayor facilidad. La metodología consistió en los siguientes pasos:

- 1- Se prepararon cajas petri que contenían agar-agua al 3% (30 g de agar/litro de agua) con un día de anticipación;

2- Se hicieron suspensiones de zoosporas de manera aséptica;
3- La suspensión se dejó reposar en un vidrio de siracusa por un período de 12-24 horas para permitir que las zoosporas desarrollaran un tubo germinativo o una rama micelial mayor que facilitara su ubicación; 4- Se hizo una suspensión de zoosporas asépticamente con una concentración aproximada de 5×10^3 zoosporas/ml, teniendo el cuidado de agitar la suspensión antes de tomar la alicuota, debido a que las zoosporas germinadas se pegan al fondo del vidrio de siracusa; 5- Con un ansa-aro se tomó una gota de la suspensión y se estrió sobre el medio de cultivo.

Inmediatamente después de estriar la gota de suspensión sobre el medio de cultivo se procedió a ubicar las zoosporas; para éste propósito se utilizó el objetivo 10X del microscopio. Una vez ubicada la zoospora o colonia micelial se procedió a observar sus alrededores para asegurar que no hubiera otra zoospora en su cercanía, luego con un bisturí se cortó el bloque de agar que la contenía; y fue transferida a un plato de petri que contenía el medio de cultivo PSVPP-8. En este medio se mantuvo durante dos días y luego fue transferido a un medio de cultivo V-8 para permitir un rápido desarrollo.

Una vez conocida y practicada la metodología se procedió a seleccionar del Banco de Inóculo del Programa de Manejo Integrado de Plagas los aislamientos 266, 590, 307 y 49; los cuales fueron aislados por Ovalle, 1987, además se seleccionó el aislamiento identificado como San Martín colectado en 1989 en campos de agricultores en el cantón Turrialba. A partir de estos aislamientos se procedió a estimular la producción de zoosporas de cada uno de los aislamientos; una vez obtenidas las zoosporas se siguió la metodología descrita por French y Hebert, 1980, para formar los cultivos monospóricos.

De cada uno de los cinco aislamientos fueron generados entre 10-12 cultivos monospóricos; de estos únicamente seis

fueron seleccionados con el propósito de obtener un total de 30 cultivos monospóricos, los cuales fueron sometidos a la evaluación de razas fisiológicas en el laboratorio y en el invernadero.

Una vez obtenidos los cultivos puros de *P. capsici* y los cultivos monospóricos se procedió a estimular la producción de zoosporas. De esta suspensión se tomó una muestra de aproximadamente un mililitro a la cual se le aplicó una gota de azul de algodón para matar las zoosporas y eliminar su movimiento; con un gotero se tomó una alícuota de la suspensión para llenar los dos campos de recuento del hematocímetro. Una vez llenos los campos se procedió a contar los cuatro cuadros de las esquinas más el cuadro del centro del campo del hematocímetro, la suma de las zoosporas de los cinco cuadros fue multiplicada por una constante que en este caso correspondió a 2000, el resultado correspondió al número de zoosporas por mililitro de solución.

3.3 Etapa Experimental

3.3.1 Laboratorio

3.3.1.1 Determinación de razas fisiológicas en hoja desprendida

La determinación de razas fisiológicas en el laboratorio se realizó en hojas desprendidas de las especies seleccionadas como diferenciales. La hoja utilizada para este fin fue la penúltima de cada planta, tomando como condición para su selección que no presentara daños; estas hojas fueron colectadas al final de la tarde para permitir que acumularan la mayor cantidad de carbohidratos y proteínas (Dhingra y Sinclair, 1985).

Las hojas fueron llevadas al laboratorio donde se colocaron en un plato de petri, el cual contenía papel secante humedecido con 5 ml de agua destilada estéril para mantener la

humedad necesaria. Para evitar el contacto directo de la hoja con el papel secante humedecido se colocaron dos porta objetos en forma de cruz y sobre éstos se colocaron las hojas de los diferenciales, una vez colocadas fueron inoculadas poniendo dos gotas de la suspensión de zoosporas en el haz de la hoja, una en el ápice y otra cerca del pedúnculo.

La suspensión utilizada para la inoculación en la hoja desprendida fue la misma que se utilizó para la inoculación en la base de la planta en la determinación de razas fisiológicas en el invernadero. Dicha suspensión tenía una concentración de 1×10^4 zoosporas/ml. Después de realizar la inoculación, la caja de petri fue cubierta para formar una cámara húmeda.

3.3.1.1.1 Diseño experimental

La evaluación se realizó sin diseño. La unidad experimental estuvo formada por una hoja en cada caja de petri y fue repetido dos veces.

La evaluación se hizo con base en la patogenicidad, la cual se midió por el número de especies que presentaron la enfermedad. La evaluación se hizo cada dos días, desde el momento de la inoculación hasta los 10 días.

El análisis de la información se hizo agrupando las especies diferenciales a las cuales cada inóculo fue patogénico y que presentaron una incidencia promedio mayor de 40% al décimo día .

3.3.1.2 Caracterización *in vitro* de 12 razas fisiológicas de *P. capsici*

La caracterización de las 12 razas fisiológicas se realizó en el laboratorio evaluando el crecimiento del micelio y la producción de zoosporas.

3.3.1.2.1 Crecimiento diametral de *P. capsici*

Inicialmente, las 12 razas fisiológicas se hicieron crecer sobre medio de cultivo V-8 para obtener un crecimiento uniforme, cuando se notó el crecimiento normal del patógeno se transfirieron discos de 0,25 cm² a cada plato de petri que contenían los medios V-8 y P5VPP-B que sirvieron como sustrato en la evaluación. Las evaluaciones se iniciaron a partir de las 24 horas y continuadas cada 24 horas durante los 10 días siguientes. Las mediciones se hicieron todos los días a la misma hora (3:00 p.m.) y se midió el diámetro de crecimiento del hongo en cada uno de los tratamientos sobre una línea previamente fijada sobre el plato de petri.

3.3.1.2.2 Producción de zoosporas

Para la producción de zoosporas se siguió la metodología anteriormente descrita, una vez realizado el proceso y observado en el microscopio la producción de zoosporas se procedió a tomar dos muestras de un ml de cada una de las soluciones para realizar el recuento de zoosporas. Este recuento fue hecho con un hematocímetro.

Evaluación y análisis de la información

El diseño utilizado en la evaluación fue completamente al azar con arreglo de parcelas divididas con cuatro repeticiones. Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y la prueba de Duncan.

3.3.1.3 Evaluación de resistencia en hoja de 11 cultivares de chile a 10 razas fisiológicas

La inoculación se realizó en hojas desprendidas de cada uno de los cultivares. La selección de la hoja se hizo siguiendo las recomendaciones de Dhingra y Sinclair, 1985. Una vez colectadas las hojas fueron llevadas al laboratorio donde fueron sumergidas en una solución de benomil (5

grs/litro de agua durante 30 seg), después se colocaron en cajas plásticas de 20 cm de ancho por 30 cm de largo. Para mantener la humedad se colocó papel secante el cual se humedeció aplicando 15 ml de agua de chorro hervida, posteriormente fueron colocadas las hojas sobre el papel secante humedecido y se procedió a realizar la inoculación, poniendo dos gotas de solución de zoosporas sobre el haz de la hoja, una gota fue colocada cerca del ápice y otra cerca del pedúnculo. La concentración de la solución aplicada fue 1×10^4 zoosporas/ml, una vez inoculadas las hojas, la caja fue cubierta para evitar la evaporación del agua y así se formara una cámara húmeda.

3.3.1.3.1 Diseño experimental

La evaluación se realizó con un diseño de parcelas divididas donde la parcela grande estuvo formada por cada una de las razas y la parcela pequeña o unidad experimental estuvo formada por una hoja de cada uno de los 11 cultivares inoculados, habiéndose utilizado seis cajas plásticas por repetición y fue repetido 10 veces.

Dos días después de la inoculación fue evaluada la incidencia de la enfermedad, posteriormente cada dos días se midió la severidad evaluando el incremento de la enfermedad en porcentaje, habiéndose continuado hasta el décimo día.

Antes de iniciar los análisis, los datos fueron transformados utilizando para ello la ecuación $Y = \arcsen \sqrt{x/100}$. Las variables fueron analizadas por medio de un análisis de varianza y prueba de Duncan.

3.3.2 Fase invernadero

3.3.2.1 Determinación de razas fisiológicas en plantas en el invernadero

La determinación de razas fisiológicas en el invernadero se realizó inoculando un total de 16 plantas de cada uno de los diferenciales, estas plantas fueron sembradas en bolsas de polietileno negro con un tamaño de 6 x 8 pulgadas y llenas con suelo recogido en el área de siembra de las colecciones de cacao del CATIE y esterilizado con bromuro de metilo. En cada bolsa se sembraron ocho semillas, las cuales una vez germinadas fueron raleadas a cuatro plantas por bolsa.

Para lograr que todas las especies tuvieran la misma altura en el momento indicado, se hicieron evaluaciones anteriores a la inoculación con el propósito de determinar la fecha de siembra de cada especie; una vez determinada la fecha se hicieron siembras escalonadas de cada una de las especies, iniciándose con la siembra de chile (*Capsicum annuum*) el cual tardó 45 días para alcanzar la altura recomendada (15-20 cm) y se finalizó con la siembra de ayote (*Cucurbita máxima*), la cual tardó únicamente 18 días. Con las plantas uniformes en altura se procedió a inocular con una jeringa que depositaba un ml/planta de una solución de zoosporas con una concentración de 1×10^4 zoosporas/ml en la base de la planta. La enfermedad comenzó a mostrar su sintomatología a partir del tercer día después de la inoculación.

La evaluación de la incidencia se hizo a través de recuentos de las plantas que presentaban síntomas de la enfermedad, estos recuentos fueron hechos cada dos días y finalizó a los diez días. Las variables que se midieron fueron el número de plantas sanas, marchitas, muertas y plantas totales.

3.3.2.1.1 Análisis de la información

Debido a que el propósito de este experimento no era una comparación entre inóculos, sino únicamente determinar si la raza es capaz de producir una incidencia promedio mayor de 40% al décimo día, únicamente se determinó la cantidad de plantas que deberían inocularse para tener una confiabilidad mayor del 95 por ciento. La determinación del número de plantas se realizó por medio de la fórmula: $P = 1 - (1 - p)^n > 0.95$

Donde:

P = Probabilidad de que una o más plantas sean infectadas

p = probabilidad que tiene una planta de ser infectada
(probabilidad binomial)

n = número de plantas para obtener la confiabilidad necesitada (0.95)

Llegándose a concluir que 16 plantas eran suficientes para obtener esta confiabilidad, cuando $p \geq 0.17$

3.3.2.2 Determinación de la incidencia y patogenicidad de 10 razas fisiológicas a 11 cultivares de chile dulce

La evaluación de incidencia y patogenicidad de las 10 razas, se realizó en plantas de los 11 cultivares de chile, (Cuadro 1) el cultivar "Tres cantos" fue sustituido por el cultivar "Criollo Nicaraguense".

Las plantas fueron manejadas bajo las mismas condiciones del experimento anterior y en cada bolsa se sembraron ocho semillas, una vez alcanzaron una altura de 3 cm fueron raleadas para dejar cinco plantas por bolsa, estas fueron inoculadas 45 días después de la siembra cuando tenían una altura entre 20 - 25 cm.

La inoculación se hizo por la tarde aplicando un ml/planta de una suspensión de zoosporas cuya concentración fue de 1×10^4 zoosporas/ml, la suspensión fue depositada con una jeringa a la base del tallo de la planta. Para mantener un ambiente propicio para el desarrollo de la enfermedad, las plantas inoculadas fueron regadas por la mañana con intervalo de dos días.

El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas donde la parcela grande estuvo formada por los 11 cultivares que fueron inoculadas con cada una de las 10 razas fisiológicas.

La unidad experimental correspondió a una bolsa de polietileno negro con cinco plantas de chile de cada uno de los cultivares. El número de repeticiones fue de cuatro. Las variables evaluadas fueron el número de plantas sanas, plantas marchitas y plantas muertas. La información fue analizada por medio de un análisis de varianza y prueba de Duncan

3.3.2.3 Evaluación de resistencia de 11 cultivares de chile a la mezcla de cuatro inóculos

La evaluación se realizó en plantas de 60 días de edad que presentaban una altura entre 25-30 cm; estas plantas fueron transplantadas a vasos de cartón cuya capacidad es de 200 grs de suelo. El suelo utilizado como sustrato fue preparado en las mismas condiciones de las evaluaciones anteriores.

En cada vaso se transplantó una planta la cual fue inoculada a los 60 días con una mezcla de zoosporas de cuatro aislamientos identificados como 590, San Martín, 307 y 49.

La preparación del inóculo se hizo mezclando zoosporas de los cuatro aislamientos. Para que esta mezcla estuviera constituida por igual número de zoosporas de cada aislamiento, se procedió a estimular la producción de zoosporas, una vez observadas se realizó el recuento de cada una de las

suspensiones, con un hematocímetro. Una vez determinada la concentración de cada suspensión se procedió a calcular la dilución necesaria para cada concentración con el fin de obtener una mezcla final de razas de 3×10^4 zoosporas/ml. De esta mezcla se tomó un ml para inocular cada una de las plantas con una jeringa, aplicándole la suspensión en la base o cuello de la planta.

Para evaluar la respuesta de la inoculación se tomó como variable la incidencia de la enfermedad expresada en porcentaje, las lecturas fueron realizadas cada tres días.

El análisis de la información se realizó sobre datos transformados con la ecuación $Y = \arcsin \sqrt{x/100}$ de la última lectura. Además se realizó análisis de regresión lineal para determinar el comportamiento en el tiempo del nivel de resistencia de cada cultivar, antes de iniciar el análisis de regresión los datos fueron transformados con la ecuación monomolecular cuya ecuación de transformación es $\text{Monit} = \log (1 / (1-X))$.

El diseño utilizado fue bloques completos el azar con siete repeticiones y 11 tratamientos, siendo los tratamientos los mismos cultivares evaluadas en campo. La unidad experimental estuvo formada por cuatro plantas de cada cultivar.

3.3.3 Campo

3.3.3.1 Evaluación del efecto del riego y la concentración de zoosporas en la resistencia de 11 cultivares de chile dulce

El experimento se realizó durante los meses de diciembre de 1989 a mayo de 1990 y consistió en la evaluación de 11 cultivares criollos de chile dulce, dos niveles de riego y tres concentraciones de zoosporas, con el propósito de

determinar el efecto que todos estos factores tienen sobre la expresión de la resistencia.

El factor cultivar correspondió a cada uno de los cultivos evaluados (Cuadro 1). El factor riego fue evaluado en dos niveles: capacidad de campo y humedad mayor que capacidad de campo. El primer nivel fue calculado haciendo uso de los datos climáticos de la estación tipo A del CATIE. Con estos datos fue calculada la evapotranspiración potencial haciendo uso de la fórmula Penman, una vez calculada la evapotranspiración se procedió a determinar la frecuencia de riego la cual quedó determinada en siete días para el periodo entre marzo y mayo que correspondió al periodo entre el momento de inoculación y toma de datos. Para lograr el segundo nivel de humedad, la frecuencia de riego del nivel uno fue reducida a tres días. Ambos niveles de riego fueron iniciados dos semanas antes del momento de inoculación y fue suministrado a través de riego por gravedad. En el periodo anterior a la inoculación, la frecuencia de riego fue de cuatro días y suministrada por aspersión.

El factor concentración de zoosporas fue evaluado en tres niveles: 4×10^4 , 8×10^4 y 3.2×10^5 zoosporas por punto de inoculación. Estas concentraciones fueron seleccionadas tomando como referencia las experiencias de Reifschneider *et al.*, 1986, en Brazil y Ovalle, 1987, en Costa Rica.

Para la producción de zoosporas se utilizó los aislamientos 266 y 590, los cuales fueron manejados según el procedimiento descrito en la metodología, una vez obtenida la producción de zoosporas se procedió a calibrar la concentración a través de recuentos con el hematocímetro y posteriormente se realizó la mezcla de la solución de las diferentes razas, de tal manera que la solución final tuviera igual concentración de zoosporas de los dos aislamientos.

Plántulas de cada uno de los cultivares se produjeron en el invernadero donde fueron mantenidas durante 35 días, posteriormente fueron llevadas al campo con el propósito de aclimatarlas. 10 días después de estar en el campo, fueron transplantadas siete de los 11 cultivares debido a que alcanzaron la altura de transplante, los cuatro cultivares restantes fueron transplantados durante los 22 días posteriores al transplante inicial.

Cuando las plantas tuvieron 105 días de edad fueron inoculadas con una solución de zoosporas cuya concentración fue de 4×10^3 , 8×10^3 y 3.2×10^4 zoosporas/ml de acuerdo al tratamiento. La inoculación se realizó por la tarde depositando 10 ml de solución de zoosporas cinco centímetros arriba de la base de la planta, haciéndola escurrir sobre la superficie del tallo. El mismo día de la inoculación, todo el experimento fue regado por la mañana para mantener una humedad uniforme.

3.3.3.1.1 Evaluación de la Enfermedad

La altura de las plantas se midió dos días antes de la inoculación, la siguiente evaluación correspondió a la incidencia de la enfermedad, la cual se inició ocho días después de la inoculación y se continuó cada ocho días hasta la sexta semana. Las lecturas fueron realizadas a medio día para diferenciar las plantas sanas de las plantas con síntomas de la enfermedad.

La incidencia de la enfermedad se determinó a través del número de plantas marchitas y plantas muertas para lo cual se consideró como planta marchita aquella que mostraba hojas flácidas y daños visibles de la enfermedad en el tallo y planta muerta aquella que presentó marchitez irreversible y coloración oscura en el tallo.

3.3.3.1.2 Análisis de la Información

Antes de iniciar el análisis, los datos fueron transformados con diferentes ecuaciones para determinar el modelo que explicara mejor el comportamiento de los datos, posteriormente se usó un análisis de varianza en el tiempo y prueba de Duncan para la interacción riego por concentración por cultivares para las seis lecturas. Para determinar el comportamiento de los cultivares en el tiempo también se realizó un estudio epidemiológico de la enfermedad, por lo cual los datos fueron transformados por la ecuación monomolecular $\text{monit} = \log [1/(1-x)]$. Los datos transformados fueron analizados por medio de regresión lineal, con la cual se determinó la pendiente de la recta para cada uno de los 66 tratamientos. Una vez calculados los coeficientes se utilizó el análisis de varianza y prueba de Duncan para determinar diferencias entre los coeficientes.

El diseño utilizado para evaluar cada una de las seis lecturas fue parcelas sub-sub-divididas donde la parcela grande fue el nivel de riego, la parcela mediana la concentración de inóculo y la parcela pequeña cada uno de los cultivares, esta parcela estuvo formada por dos surcos de tres metros de largo que contenían 14 plantas. La parcela útil estuvo formada por 10 plantas centrales de los dos surcos.

3.3.3.2 Evaluación de concentraciones mayores de 4×10^5 zoosporas/ml bajo condiciones de campo

El manejo de este experimento fue igual al del experimento anterior, con la diferencia de que únicamente se evaluó el factor concentración (mayor de 4×10^5 zoosporas/ml).

La frecuencia de riego utilizada en este experimento fue de siete días y se aplicó por gravedad.

La variable evaluada fue la incidencia de la enfermedad y se midió cada ocho días a partir del momento de inoculación; el

diseño utilizado fue un bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas en el tiempo y repetido tres veces.

Los tratamientos correspondieron a los 11 cultivares (Cuadro 1) y el análisis de la información se realizó a través de un análisis de varianza y prueba de Duncan.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Fase de laboratorio

4.1.1 Determinación de razas fisiológicas en hoja desprendida

Se clasificaron 16 razas fisiológicas al evaluar 30 cultivos monospóricos en siete especies diferenciales. Los 30 cultivos monospóricos fueron generados de cinco aislamientos de campo, cuatro aislados por Ovalle, 1987 y clasificados como Raza 1, 2, 6, 8. El aislamiento restante fue obtenido en San Martín, Turrialba, en campos de productores de chile dulce.

De cada uno de los aislamientos de campo se generaron seis aislamientos monospóricos para totalizar 30, así, del aislamiento identificado como 266 se generaron los cultivos monospóricos del 1 - 6 y 16; los monospóricos 7 - 12 fueron generados del aislamiento realizado en San Martín, los monospóricos 13, 14, 15, 17, 18 y 28 fueron generados del aislamiento identificado como 307; los cultivos monospóricos del 19 - 24 se generaron a partir del aislamiento identificado como 590 y finalmente los cultivos monospóricos 25 - 30, excepto 28 fueron generados a partir del aislamiento identificado como 49.

Cuadro 3. Razas fisiológicas de *Phytophthora capsici* determinadas por su patogenicidad 10 días después de inoculadas en hoja descrenada de siete especies diferenciales.

Número de colección	Cultivo monospórico	Razas Fisiológicas							
		Melón	Pepino	Ayote	Tomate	Berenjena	Chile	Sandía	
266	1	+	-	+	+	+	+	+	2
266	2	+	-	+	+	+	+	+	2
266	3	+	+	+	+	+	+	+	1
266	4	+	-	+	+	+	+	+	2
266	5	+	-	+	+	+	+	+	2
266	6	+	-	+	+	+	+	+	2
NCL	7	+	-	+	+	+	+	+	2
NCL	8	+	+	+	-	+	+	+	3
NCL	9	+	+	+	+	+	+	+	1
NCL	10	+	-	+	+	+	+	+	2
NCL	11	+	+	+	+	+	+	+	1
NCL	12	-	-	+	-	-	-	+	13
307	13	+	-	+	+	+	+	-	5
307	14	+	-	+	+	+	+	+	2
307	15	+	-	+	+	+	+	+	2
266	16	-	+	+	+	+	-	+	7
307	17	+	-	+	-	+	+	+	4
307	18	+	-	+	+	+	+	+	2
590	19	-	-	+	+	+	-	+	10
590	20	-	-	+	+	-	-	+	11
590	21	+	-	+	+	+	+	+	2
590	22	-	-	+	+	+	+	+	6
590	23	-	-	+	-	+	+	+	9
590	24	-	-	+	+	+	-	+	10
49	25	-	-	-	-	+	-	-	14
49	26	-	-	+	+	+	-	-	12
49	27	-	-	-	-	-	-	-	16
307	28	+	-	+	+	-	+	+	8
49	29	-	-	-	+	-	-	-	15
49	30	-	-	-	-	-	-	-	16

+ = Patogénico - = No patogénico NCL = no clasificada

Teóricamente se espera que los aislamientos monospóricos generados de un aislamiento de campo deberán reaccionar de igual manera en las diferentes especies diferenciales; sin embargo en el Cuadro 3 se observa, que al generar cultivos monospóricos de un aislamiento de campo, éstos están formados por más de una raza fisiológica.

El Cuadro 3, muestra que los cultivos monospóricos del uno al seis que fueron generados del mismo aislamiento, al reclasificarlos se agruparon en las razas uno y dos; los cultivos monospóricos del 7 al 12 mostraron mayor variabilidad ya que fueron clasificados como razas 1, 2, 3, 13; los aislamientos generados del inóculo 307 se clasificaron en las razas 2, 4, 5, 7; de igual manera al analizar los cultivos monospóricos generados del inóculo 590 se encontró que estaba formada por las razas 2, 6, 9, 10 y 11 y finalmente, el inóculo 49 se encontró que estaba formado por la mezcla de las razas 8, 12, 14, 15 y 16.

Nótese que de cuatro razas clasificadas con anterioridad por Ovalle, 1987, más otro aislamiento de campo, cuando se realizaron cultivos monospóricos se logró reclasificar 16 razas fisiológicas. Lo anterior comprueba que un aislamiento de campo puede estar formado por más de una raza fisiológica y el porque, cuando Ovalle, 1987, caracterizó sus razas fisiológicas, encontró que existía diferencias en crecimiento dentro de las razas.

De los 30 cultivos monospóricos se encontró que tres correspondieron a la raza uno y fueron patogénicos a todas las especies diferenciales; 11 correspondieron a la raza dos y fueron patogénicos a seis de las especies diferenciales, excepto pepino. El resto de razas fisiológicas (3 al 14) fueron clasificadas de acuerdo al número y combinación de especies diferenciales al cual fueron patogénicas y finalmente la raza 16 que no fue patogénica a ninguno de los diferenciales.

Obsérvese que de las razas clasificadas anteriormente por Ovalle, 1987, como las más patogénicas (1 y 2); se derivaron las razas menos patogénicas en este estudio de aislamientos monospóricos.

Los cultivos monospóricos están formados por un solo genotipo debido a que son generados de una estructura de reproducción asexual (zoospora), es decir, están formados por una sola raza fisiológica (Agrios, 1985), ésto fue comprobado por Romero y Erwin, 1969, cuando al estudiar la variación patogénica de cultivos monospóricos generados de zoosporas de un cultivo monospórico, no encontraron diferencias en patogenicidad. Sin embargo ellos observaron que los aislamientos monospóricos obtenidos de cultivos generados del cruzamiento de individuos de patogenicidad diferente presentaron diferencias en cuanto a velocidad de crecimiento, color de micelio y esporulación.

Estos resultados muestran la existencia de gran variabilidad genética en *P. capsici*, lo cual se demuestra por la presencia de razas patogénicas a todos los diferenciales y otras no patogénicas. Esto ratifica la hipótesis de que en una plantación e inclusive en una misma planta afectada existe una mezcla de razas fisiológicas con diferentes niveles de virulencia. Esta situación dificulta el mejoramiento, debido a que cultivares considerados resistentes en su lugar de origen, al llevarlos a otra región pueden ser susceptibles, debido a la existencia de razas diferentes de mayor virulencia.

Romero, 1962, al analizar el comportamiento de material de chile foraneo encontró diferentes grados de resistencia que los reportados en el lugar de origen del material, lo cual se debió a cierta especialización fisiológica del patógeno, lo cual dio la pauta para suponer que se trataba de diferentes razas fisiológicas.

Los aislamientos obtenidos presentan diferencias en patogenicidad y virulencia, principalmente si proceden de diversas zonas geográficas (Reifschneider *et al.*, 1986). Romero y Erwin, 1969; Ovalle, 1987, encontraron que cuando los aislamientos son replicados, los nuevos cultivos muestran diferencias al aislamiento del cual fueron generados, estas diferencias son en color, forma y rapidez de crecimiento.

Al aceptar la hipótesis de que en una misma plantación existe más de una raza fisiológica se complican los trabajos de mejoramiento en búsqueda de resistencia ya que Smith *et al.*, 1967, encontraron que una variedad puede ser resistente a una raza y susceptible a otra. Esto fue comprobado cuando evaluó la descendencia de varios cruces entre *P. capsici* y encontraron que las líneas 285-1-1 y 493-4-1 presentaron resistencia que era conferida por un par de genes dominantes, sin embargo las líneas 491-2 y 493-2 presentaron resistencia que era conferida por dos pares de genes dominantes, los cuales actúan en forma independiente y sin efectos aditivos (Heredia y Ains, 1978; Barksdale *et al.*, 1984).

La mezcla de razas fisiológicas obtenidas de un aislamiento en una plantación e inclusive en una misma planta puede ser el resultado de la recombinación de genes de dos o más razas fisiológicas presentes en el área. Evidencia de esta situación fue demostrada por Galindo y Zentmyer, 1967, cuando al cruzar dos razas y evaluar 126 colonias monospóricas encontró que 20 de ellas resultaron parecidas a uno de los padres, 40 parecidas al otro padre y 62 fueron recombinantes con muy variadas diferencias fenotípicas. Romero y Erwin, 1969, al realizar cultivos monospóricos de un cruce de dos razas fisiológicas de *Phytophthora infestans*, obtuvo una gran variabilidad de razas fisiológicas, lo cual indicó que los genes de los padres recombinan en su progenie.

4.1.2 Caracterización de 12 razas fisiológicas de *P. capsici*

La caracterización de 12 de las 16 razas se realizó haciéndoles crecer sobre dos medios de cultivo V-8 y P₅VPP-B, en ellos se midió el crecimiento diametral y la producción de zoosporas en cada medio.

4.1.2.1 Evaluación de crecimiento diametral de 12 razas fisiológicas de *P. capsici*

El análisis de varianza para crecimiento diametral reportó diferencias altamente significativas entre medios de cultivo, entre razas y en la interacción de ambos.

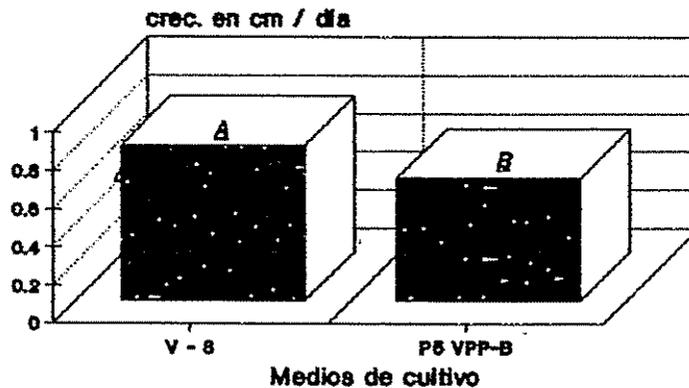


FIG 1: Crecimiento promedio diario de *P. capsici* en dos medios de cultivo

Los resultados (Fig 1) muestran que la velocidad de crecimiento de la mayoría de las razas fue mayor cuando se cultivaron sobre V-8 que cuando se cultivaron sobre P₅VPP-B, excepto la raza cinco la cual tuvo un crecimiento diametral igual estadísticamente al de las razas que crecieron sobre V-8. El mayor crecimiento del hongo en V-8 se le atribuyó a que su clase y cantidad de nutrientes es mayor, que la P₅VPP-B. Situación similar encontró Ovalle, 1987, cuando al analizar el

crecimiento de *P. capsici* en V-8 y PDA encontró que la velocidad de crecimiento en V-8 fue mayor que en PDA y que este crecimiento se debió al mayor valor nutritivo del medio.

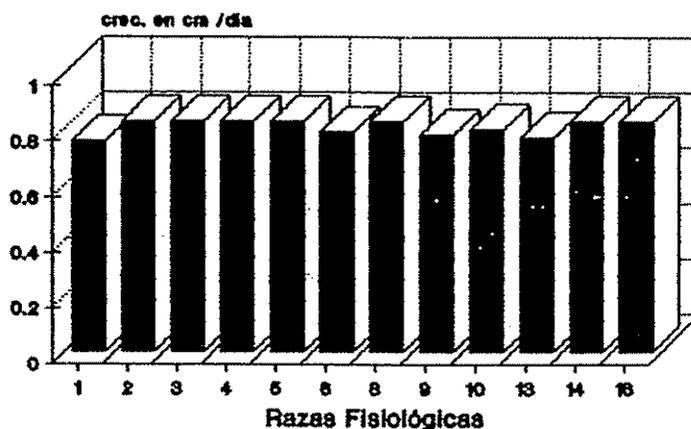


FIG 2: Crecimiento diametral de doce razas fisiológicas en V-8

Cuando se evaluó el crecimiento en cada uno de los medios de cultivo se encontró que la tasa de crecimiento promedio (Fig.2) para el medio de cultivo V-8 osciló entre 8.3 mm/día y 7.6 mm/día, siendo este crecimiento igual estadísticamente para todas las razas .

Aún cuando en V-8 no existieron diferencias estadísticas en la tasa de crecimiento se observó que la velocidad en el desarrollo de algunas razas fue más rápida debido a que algunas razas cubrieron más rápidamente el plato de petri. Para discernir esta situación se realizó un análisis de varianza en el tiempo y análisis de regresión lineal para cada tratamiento habiéndose obtenido resultados similares a los que se obtuvieron cuando se evaluó la lectura final.

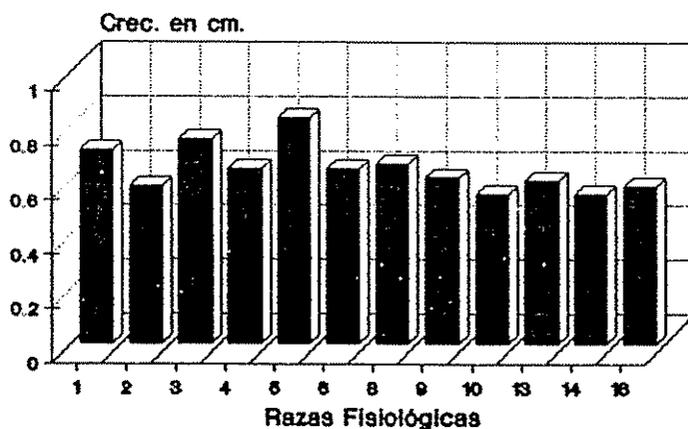


FIG 3: Crecimiento diametral de doce razas fisiológicas en P5 VPP-B

La tasa de crecimiento promedio en el medio de cultivo P₅VPP-B (Fig. 3) osciló entre 8.3 mm/día y 5.5 mm/día, siendo la raza cinco la que presentó la mayor tasa de crecimiento, estadísticamente diferente a las razas 2, 9, 10, 13, 14, 16, pero igual al resto de razas.

4.1.2.2 Producción de zoosporas de 12 razas fisiológicas de *P. capsici*

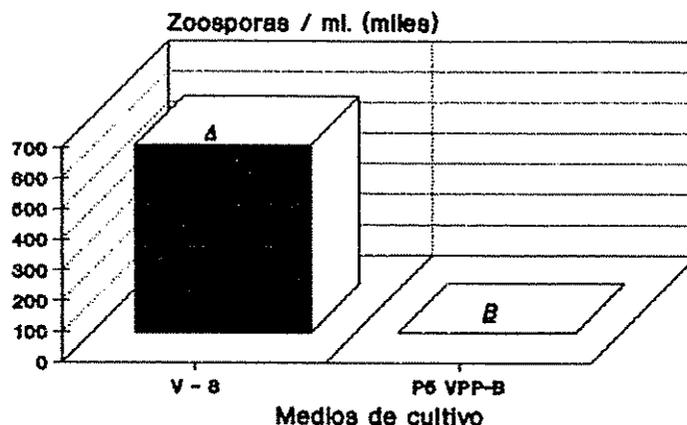


FIG 4: Producción promedio de zoosporas en dos medios de cultivo.

Cuando se analizó la producción de zoosporas se encontró diferencias altamente significativas entre razas, medio de cultivo y su interacción (CV = 13.4). El análisis de Duncan para medio de cultivo, demostró que V-8 (Fig. 4) fue el medio que indujo la mayor producción de zoosporas, esta característica se le atribuye a su mayor valor nutritivo, el cual fue demostrado por Ovalle, 1987, quien al evaluar las bondades de este medio concluye que el medio de cultivo fue un factor significativo en la producción de esporangios de ciertas razas.

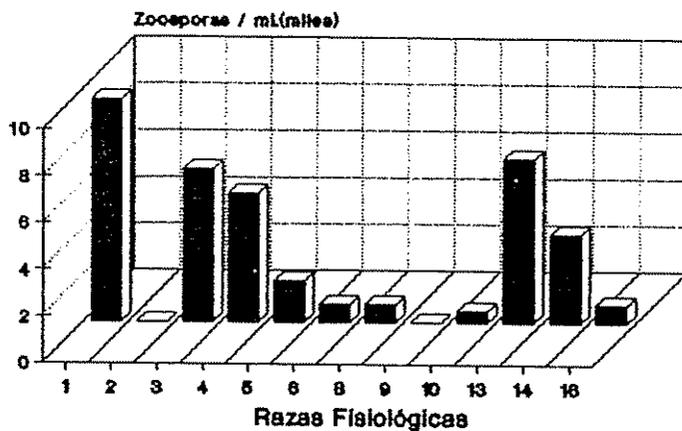


FIG 5: Producción promedio de zoosporas por ml. en P5 VPP-B

Cuando se analizó la interacción entre medio de cultivo y raza, se encontró que en el medio de cultivo P₅VPP-B la raza uno produjo la mayor cantidad de zoosporas (9.5×10^3 zoosporas/ml) y las razas dos y nueve no llegaron a producir (Fig. 5).

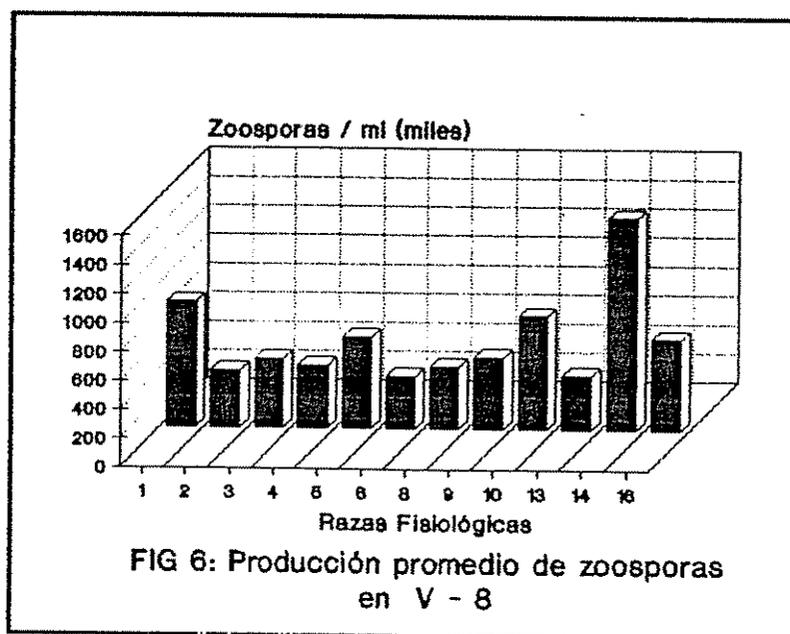


FIG 6: Producción promedio de zoosporas en V - 8

Sin embargo cuando las mismas razas se hicieron crecer sobre V-8 (Fig. 6) el comportamiento fue diferente, habiéndose encontrado que la producción de zoosporas osciló entre 1.5×10^4 y 3.6×10^8 , siendo la raza 14 la que obtuvo la mayor producción (1.5×10^8 zoosporas/ml), razón por la cual la prueba de Duncan la ubicó como una raza estadísticamente diferente a las razas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13 e igual a las razas 1 y 10.

4.1.3 Evaluación de resistencia en hoja desprendida de 11 cultivares chile dulce a 10 razas fisiológicas

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre cultivares, entre razas y para la interacción raza por cultivar.

Cuadro 4. Incidencia de 10 razas fisiológicas en la evaluación de resistencia en hoja desprendida.

raza	Incidenia* (%)		Cultivar	Incidenia* (%)	
3	98.3	A	3	95.0	A
4	97.8	AB	0	94.4	AB
8	97.5	AB	7	94.4	AB
2	97.5	AB	5	93.6	ABC
6	97.0	B	9	93.0	BCD
9	95.0	C	4	93.0	BCD
1	88.9	D	6	92.9	BCD
13	88.9	D	10	92.8	BCD
14	34.3	E	8	92.5	CD
16	21.4	E	1	91.4	D
			2	90.9	D

* medias con igual letra son estadísticamente iguales CV= 29.7

Los resultados (Cuadro 4) muestran diferencias significativas al 5% entre cultivares, sin embargo, los porcentajes de incidencia fueron tan altos que todos fueron considerados susceptibles (según la clasificación de Peter et

al., 1984), estos resultados son justificables debido a que el patógeno permaneció en contacto con el tejido de la hoja, la concentración de inóculo fue relativamente alta, el período de exposición fue largo y la humedad adecuada para predisponer el tejido a la enfermedad. Kim et al., 1989, demostraron que todas estas condiciones favorecen el desarrollo de la enfermedad. Nótese que el cultivar CATIE-Cacao (Cuadro 1), que bajo condiciones de invernadero y campo resultó tolerante, bajo las condiciones de laboratorio se comportó igual que cuando fue inoculado con concentraciones elevadas (más de 4×10^5 zoosporas/ml) en el campo.

Los resultados de incidencia muestran que las razas 14 y 16 fueron las que produjeron el menor porcentaje de incidencia. Estos resultados son diferentes a los obtenidos en las pruebas de resistencia de invernadero donde estas razas no llegaron a producir enfermedad. La raza 13 bajo las condiciones de invernadero presentó porcentajes de incidencia bajos; cuando se inoculó en hoja, el porcentaje de incidencia aumentó (88.9%). Esta situación se explica, por el hecho de que las hojas estuvieron bajo condiciones que la predisponen a la enfermedad por lo cual las razas que bajo condiciones de invernadero no producen enfermedad, bajo las condiciones de laboratorio son capaces de producir pequeñas lesiones, las cuales pudieron ser cuantificadas. Nótese que las razas que presentaron porcentajes de incidencia altos a nivel de invernadero, también lo fueron a nivel de hoja desprendida.

Es importante hacer notar que existió interacción entre raza y cultivar, habiéndose encontrado comportamientos diferentes de los cultivares con respecto a cada raza, este comportamiento fue más notorio en aquellas razas en las cuales el porcentaje de incidencia fue bajo.

4.2 Fase de Invernadero

4.2.1 Determinación de razas fisiológicas inoculando en la base de la planta

Los resultados (Cuadro 5) muestran que ninguna de las razas fue patogénica en las siete especies diferenciales y que la raza más patogénica produjo enfermedad en cinco de ellas. Esta situación se debe a que las especies de la familia Cucurbitaceae presentaron mayor resistencia que el resto de las especies diferenciales no detectándose síntomas de la enfermedad en estas especies.

De acuerdo a la reacción de patogenicidad (Cuadro 5) en la base del tallo de la planta se logró identificar 13 razas fisiológicas. La raza uno fue clasificada por su patogenicidad en tomate, berenjena, chile, sandía y ayote, la raza dos lo fue a tomate, berenjena, chile y sandía, la raza tres fue patogénica a tomate, berenjena, chile y ayote. El resto de las razas fueron clasificadas por la combinación de especies diferenciales a las cuales los aislamientos fueron patogénicos. Es importante hacer notar que las razas 10, 11 y 12 únicamente atacaron a una de las especies diferenciales y la raza 13 no fue patogénica a ninguna de las especies diferenciales. Nótese que entre los cultivos monospóricos generados del aislamiento 266 se encontraron seis combinaciones de reacción en los diferenciales (seis razas diferentes), de los monospóricos obtenidos del aislamiento de San Martín, Turrialba se generaron cinco (cinco razas diferentes), los monospóricos de los aislamientos 590 y 307 mostraron tres reacciones diferentes y finalmente los monospóricos generados del aislamiento 49 no fueron patogénicos a ninguna de las especies diferenciales.

Estos resultados confirman la hipótesis, que en una misma plantación e inclusive en una misma planta puede encontrarse más de una raza fisiológica.

La raza ocho fue la más común (35%) con patogenicidad en las Solanáceas tomate y chile, las razas 9, 10, 12 y 13 no atacaron chile aún cuando los aislamientos originales proceden de esta planta.

En el caso de los aislamientos monospóricos originados del aislamiento dos de Ovalle (1987), ninguno de ellos fue patogénico en chile; sin embargo el aislamiento original sí lo fue. Este aislamiento se conservó en aceite por tres años.

Cuadro 5 . Razas fisiológicas de *P. capsici* determinadas por su patogenicidad 10 días después de inoculadas en el cuello de la planta de siete especies diferenciales.

Número de colección	Cultivo monospórico	Razas Fisiológicas							
		Melón	Pepino	Ayote	Tomate	Berenjena	Chile	Sandía	
266	1	-	-	-	+	-	-	+	9
266	2	-	-	+	+	+	+	-	3
266	3	-	-	-	+	-	+	-	8
266	4	-	-	+	+	+	+	+	1
266	5	-	-	+	+	-	+	+	4
266	6	-	-	-	+	-	+	+	5
NCL	7	-	-	+	+	+	+	-	3
NCL	8	-	-	-	+	-	+	+	5
NCL	9	-	-	-	+	+	+	+	2
NCL	10	-	-	-	+	-	+	-	8
NCL	11	-	-	-	+	+	+	+	2
NCL	12	-	-	-	-	-	-	+	12
307	13	-	-	-	+	-	+	-	8
307	14	-	-	+	+	-	+	-	6
307	15	-	-	-	+	-	-	-	10
266	16	-	-	-	+	-	+	-	8
307	17	-	-	-	+	-	+	-	8
307	18	-	-	-	+	-	+	-	8
590	19	-	-	-	-	-	+	-	11
590	20	-	-	-	+	-	+	+	5
590	21	-	-	-	+	-	+	-	8
590	22	-	-	-	+	-	+	-	8
590	23	-	-	-	+	-	+	-	8
590	24	-	-	-	+	-	+	-	8
49	25	-	-	-	-	-	-	-	13
49	26	-	-	-	-	-	-	-	13
49	27	-	-	-	-	-	-	-	13
307	28	-	-	-	+	+	+	-	7
49	29	-	-	-	-	-	-	-	13
49	30	-	-	-	-	-	-	-	13

+= Patogénico

- = No patogénico

NCL= no clasificada

4.2.2 Determinación de incidencia y patogenicidad de 10 razas fisiológicas

Diez de las 16 razas fisiológicas fueron sometidas a evaluación para determinar su incidencia y patogenicidad en 11 cultivares de chile (*Capsicum annuum*).

Cuadro 6. Porcentaje de incidencia de 10 razas fisiológicas inoculadas en 11 cultivares de chile bajo condiciones de invernadero 26 días después de la inoculación

Raza	% Incidencia	Duncan
2	99.30	A
3	99.20	AB
8	98.89	ABC
6	98.50	BC
4	98.00	C
1	93.90	D
9	83.50	E
13	12.19	F
14	0.01	F
16	0.00	F

medias con igual letra son significativamente iguales

Los resultados (Cuadro 6) muestran diferencias altamente significativas entre las razas fisiológicas, siendo la raza dos la que presentó un mayor índice de incidencia promedio (99.3%), seguido por las razas 3, 8, 6, 4, 1 y 9 que presentaron índices de incidencia que oscilaron entre 83.5 y 99.2% y finalmente las razas 13, 14 y 16, las cuales presentaron los menores índices de incidencia, que oscilaron entre 0 - 12% siendo estas razas no patogénicas en algunos o en todos los cultivares evaluados.

Aún cuando todas las razas fueron obtenidas a través de aislamientos realizados de plantas de chile al realizar cultivos monospóricos se obtuvo razas que no fueron patogénicas cuando se inocularon en la base de la planta.

Esto es posible si se supone que en las evaluaciones anteriores (Ovalle, 1987), el inóculo que aplicó fue una mezcla de razas, las cuales al cultivarlas como monospóricas dieron algunas razas no patogénicas.

Como el inóculo obtenido del campo es una mezcla de razas, estas pueden cruzarse entre sí logrando obtener una recombinación genética en su progenie lo cual aumenta la diversidad y la presencia de nuevas razas no patogénicas en Chile. Polach y Webster, 1972, cuando al estudiar la herencia de la patogenicidad de *P. capsici* encontraron que al cruzar dos aislamientos patogénicos en la variedad "Yolo Wonder", obtuvo una progenie de 391 de los cuales 63 aislamientos resultaron ser no patogénicos, esto fue explicado asumiendo que la patogenicidad hacia "Yolo Wonder" está gobernada por uno u otro de los dos genes en el locus y que los aislamientos serán patogénicos cuando uno u otro de los dos genes recesivos estén presentes y serán no patogénicos cuando su condición genética sea homocigótica dominante.

Otra alternativa para explicar la no patogenicidad de los aislamientos monospóricas, es que algunos de los aislamientos no patogénicos estuvieron guardados en aceite vegetal por un período de dos años, razón por la cual perdieron su patogenicidad, sin embargo la raza 13 fue obtenida de plantas de Chile del cultivar "Nájera", directamente del campo y su nivel de patogenicidad fue igual estadísticamente al nivel de patogenicidad de los inóculos que estuvieron guardados.

Otra alternativa considerada, fue que el inóculo aislado de plantas de Chile fuese una especie diferente a *P. capsici* razón por la cual fue no patogénica; esta alternativa fue descartada cuando se hizo la caracterización de las razas fisiológicas donde se midió crecimiento y producción de zoosporas y además se observaron características como forma de micelio y esporangios y en todas las características coincidió con *P. capsici*.

Cuadro 7 Porcentaje de incidencia provocado por 10 razas fisiológicas de *P. capsici* en 11 cultivares de chile dulce evaluadas en el tiempo.

Cultivar	razas fisiológicas de origen monospórico									
	1	2	3	4	6	8	9	13	14	16
"Najera - 2"	86.26	97.70	96.59	93.84	99.77	96.56	17.39	5.43	0.0	0.0
"Troopa de buey"	84.82	95.24	97.66	70.68	70.18	98.76	29.74	9.61	0.0	0.0
"Criollo Nicaraguense"	55.31	94.40	97.11	68.71	95.65	91.56	44.47	8.30	3.44	0.0
"Tropical irazú"	44.93	97.56	96.80	78.28	83.07	95.34	32.20	2.15	0.0	10.23
"Colcción CATIE 17248"	71.76	89.87	90.92	84.44	80.21	76.82	24.06	9.08	0.0	0.0
"CATIE-Cacao"	4.40	61.12	59.74	23.97	6.46	23.85	2.14	0.0	0.0	0.0
"Criollo Guatemalteco"	57.30	97.60	92.38	74.26	63.21	91.30	39.18	2.15	0.0	0.0
"Colcción CATIE 17245"	75.43	97.23	97.15	52.69	93.41	96.93	25.99	7.62	0.0	0.0
"Lineas HAEAS"	40.20	97.26	88.68	77.28	77.23	94.46	53.59	0.0	0.0	0.0
"Lineas HMG- 85"	47.97	97.06	96.04	79.90	86.47	94.55	67.69	6.99	0.0	0.0
"Lineas TAB-85"	47.03	97.98	97.44	90.39	79.37	97.60	53.57	1.07	0.0	0.0

Cuando se analizó la interacción raza por cultivar (Cuadro 7) se determinó que

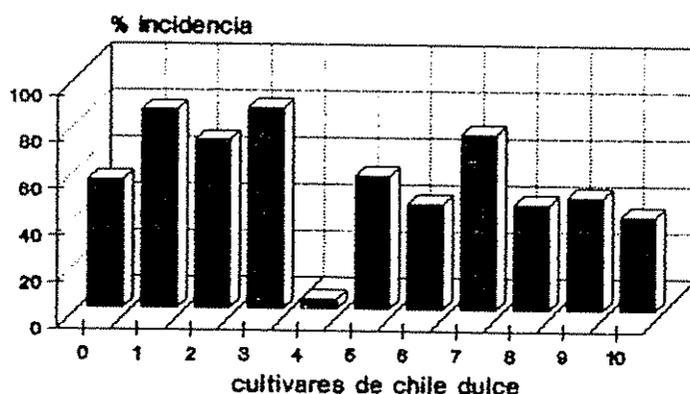


FIG 7: Porcentaje de incidencia de la raza uno en 11 cultivares de chile dulce

la raza uno (Fig. 7) presentó patogenicidad en los 11 cultivares de chile, siendo el cultivar "CATIE-Cacao" el que presentó el menor porcentaje de incidencia (4%) los cultivares "Tropical Irazú", "Maeas", "HMG-85", "TAB-85" presentaron porcentajes de incidencia entre 40 y 48% por lo cual fueron clasificadas como tolerantes; el resto presentaron porcentajes de incidencia mayores de 55% y fueron clasificadas como susceptibles a esta raza.

La raza tres fue patogénica a todos los cultivares de chile, presentando porcentajes de incidencia mayores a 59% razón por la cual todos fueron considerados susceptibles a esta raza.

Las razas dos y cuatro fueron patogénicas a los 11 cultivares, siendo el cultivar "CATIE-Cacao" el que presentó el menor índice de incidencia (61.1% y 23.7% respectivamente para las dos razas). El resto presentaron porcentajes de incidencia mayores de 89% para la raza dos y 52% para la raza

cuatro. Según la escala de Peter *et al.*, 1984, para determinar resistencia a *P. capsici* el cultivar "CATIE-Cacao" fue clasificado como susceptible a la raza dos y resistente a la raza cuatro.

La raza seis (Cuadro 7) fue patogénica a los 11 cultivares y los porcentajes de incidencia oscilaron entre 6.46 y 98.67%, siendo el cultivar "CATIE-Cacao" el que presentó el menor nivel de incidencia. Aún cuando existe diferencia altamente significativa entre el cultivar "Criollo Guatemalteco" y "Criollo Nicaraguense" los porcentajes de incidencia son tan altos (63.21 y 95.65 respectivamente) que ambos cultivares fueron clasificados como susceptibles.

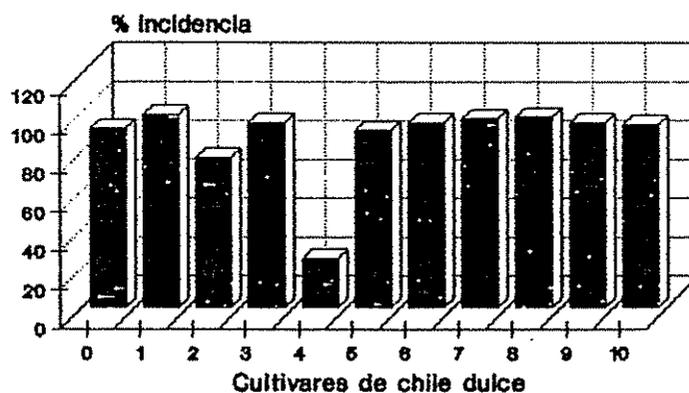


FIG 8: Porcentaje de incidencia de la raza ocho en 11 cultivares de chile dulce

La raza ocho (Fig.8) fue patogénica a todos los cultivares, siendo "CATIE-Cacao" el que presentó la menor incidencia (24%); razón por lo cual fue clasificada como resistente a esa raza. El resto fueron clasificadas como susceptibles debido a que la incidencia osciló entre 77 y 99%.

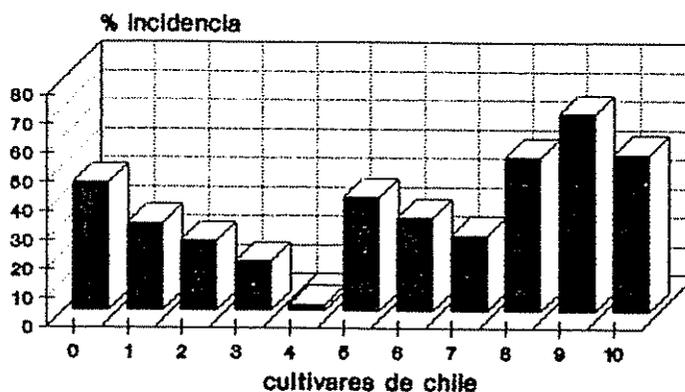


FIG 9: Porcentaje de incidencia de la raza nueve en 11 cultivares de chile dulce

La raza nueve (Fig. 9) fue patogénica a los 11 cultivares y la incidencia osciló entre 2 y 68%, por lo cual el cultivar "CATIE-cacao", "Najera-2", "17248", "17245" fueron resistentes, los cultivares "Trompa de buey", "Tropical irazú", "Criollo Nicaraguense" fueron tolerantes y únicamente "HMG-85", TAB-85 y "MAEAS" fueron considerados susceptibles a esta raza.

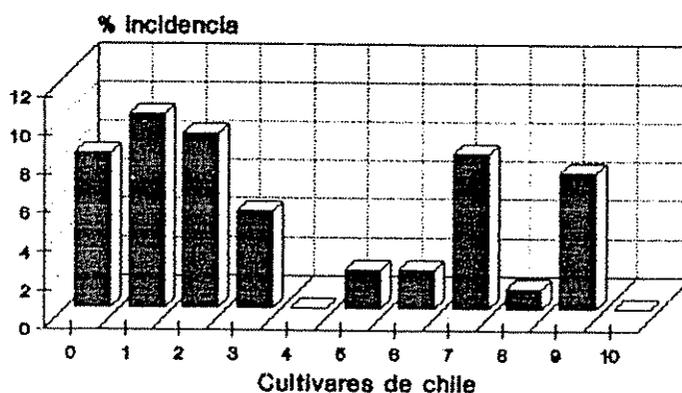


FIG 10 : Porcentaje de incidencia de la raza trece en 11 cultivares de chile dulce

La raza 13 (Fig. 10) fue poco patogénica ya que únicamente produjo enfermedad en nueve de los 11 cultivares y los porcentajes de incidencia oscilaron entre 0-10%, por lo cual todos los cultivares fueron considerados resistentes a esta raza.

Las razas 14 y 16 (Cuadro 7) fueron patogénicas a los cultivares "Criollo Nicaraguense" y "Tropical Irazú", con una incidencia del 3 y 10%, respectivamente; razón por la cual todos los cultivares fueron considerados resistentes a estas razas.

El análisis de incidencia demostró que cada raza responde de manera particular con relación a los cultivares, habiéndose encontrado que existen razas que son patogénicas a todos los cultivares tal es el caso de las razas 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9. El resto de razas fueron patogénicas por lo menos a uno de los cultivares evaluados. Kennedy *et al.*, 1986; Reifschneider *et al.*, 1986, encontraron diferencias cuantitativas en virulencia y agresividad en diferentes aislamientos.

Las razas dos y tres fueron tan virulentas que todos los cultivares criollos se consideraron susceptibles. La raza cuatro presentó porcentajes de incidencia altos para algunos cultivares y porcentajes intermedios o bajos, para el resto de cultivares razón por la cual los cultivares de Chile Criollo se clasificaron entre susceptibles, tolerantes y resistentes. Finalmente las razas 13, 14, 16 presentaron incidencia baja y todos los cultivares fueron considerados resistentes a estas razas. Esta situación se explica al considerar que las razas no patogénicas no poseen genes que condicionan virulencia para romper los genes que condicionan resistencia en los cultivares. Por el contrario se encontraron razas que poseen genes de virulencia capaces de romper la resistencia de todos los cultivares probados. También se encontraron razas como la cinco que son capaces de romper la resistencia de algunos de los cultivares.

Es importante destacar que la raza más patogénica no necesariamente es la raza que produce el mayor porcentaje de incidencia en los cultivares de Chile, esto lo confirma la raza uno, la cual fue clasificada como la más patogénica en la clasificación de razas fisiológicas y sus resultados de incidencia en la evaluación de razas en 11 cultivares de Chile no fueron los mayores.

4.2.3 Evaluación de resistencia de 11 cultivares de Chile a la mezcla de cuatro inóculos

Los resultados de la Fig. 11 muestran que el cultivar "CATIE-Cacao" fue el único con incidencia menor de 50%, razón por la cual fue clasificada como tolerante a la enfermedad. El resto de cultivares mostraron porcentajes mayores a 50% por lo cual fueron clasificadas como susceptibles.

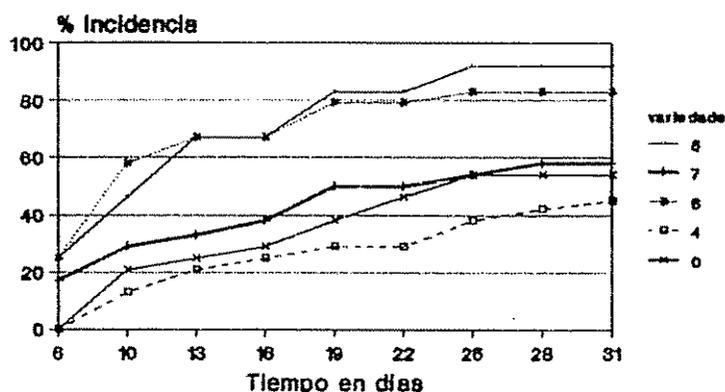


FIG 11: Comportamiento de cinco cultivares de Chile dulce a la mezcla de razas fisiológicas

Los síntomas iniciales de la enfermedad aparecieron seis días después de la inoculación y se manifestaron primero, en los cultivares que se habían clasificado anteriormente como susceptibles y conforme pasó el tiempo comenzaron a aparecer los síntomas de la enfermedad en los cultivares que

presentaron mayores niveles de resistencia, esta situación fue diferente a la observada cuando se inoculó con una sola raza, debido a que las más virulentas mostraron los síntomas a los tres días y pasado nueve días la mayoría de plantas estaban muertas, por el contrario, cuando se usó la mezcla de los inóculos (590, 49, 307 y San Martín) la enfermedad inició sus síntomas a los seis días y aún a los 21 días se observó plantas con síntomas iniciales de la enfermedad, nótese que la comparación se hace entre la incidencia provocada por una sola raza de origen monospórico, que se aplicó con una concentración de 1×10^4 zoosporas/ml y una mezcla de inóculos, de por lo menos 16 razas de origen monospórico con una concentración tres veces mayor (3×10^4 zoosporas/ml) aplicada sobre plantas que tenían 60 días de edad, sin embargo la sintomatología se observó más rápido cuando se aplicó una sola raza, esta situación podría explicarse por el hecho de que la mezcla de razas estuvo constituida por una concentración de 7.5×10^3 zoosporas/ml de cada uno de los cuatro inóculos originales, para hacer un total de 3×10^4 zoosporas/ml. En este total se incluyó el inóculo 49 del cual se derivaron las razas que mostraron avirulencia.

Si se supone que las razas fisiológicas avirulentas compiten con las razas virulentas en la colonización del nicho, podría explicar el por qué la mezcla de razas tardó más tiempo en manifestar la sintomatología de la enfermedad.

4.3 Fase de campo

4.3.1 Evaluación del efecto del riego y la concentración de zoosporas de *P capsici* en la resistencia de 11 cultivares de chile dulce

El análisis de la información se inició con la evaluación del comportamiento de los datos, este se realizó a través del análisis de las estadísticas descriptivas para datos sin transformar y para datos transformados con las ecuaciones arco

seno $\sqrt{x/100}$, logística y monomolecular habiéndose llegado a seleccionar la ecuación arco seno $\sqrt{x/100}$ para realizar el análisis de varianza y la ecuación monomolecular cuya ecuación de transformación es $\text{monit} = \ln (1 / (1-x))$ cuando se utilizó la regresión lineal para el análisis en el tiempo.

Esta misma ecuación (monit) había sido utilizada y recomendada por Torres y Siman, 1990 y Hernández y Montoya, 1987, para transformar datos y hacer estudios epidemiológicos de enfermedades cuyo comportamiento es monocíclico; comportamiento que también presentaban los datos del presente estudio.

4.3.1.1 Inoculación

El momento de la inoculación de las plantas en el campo coincidió con la floración y formación de frutos de 10 de los 11 cultivares (Fig 12). "CATIE-Cacao" por su parte se encontraba en estado de desarrollo vegetativo.

El análisis demostró que los 10 cultivares que estaban en floración al momento de la inoculación fueron susceptibles. El cultivar "CATIE-Cacao", único que se encontraba en estado de crecimiento vegetativo, presentó porcentajes de incidencia muy bajos en las primeras semanas.

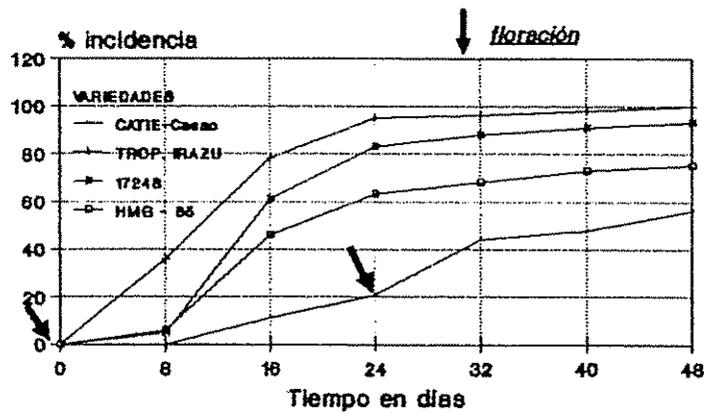


FIG 12 : Incremento en los porcentajes de incidencia de cuatro cultivares de chile a partir del momento de floración.

De la tercera semana en adelante cuando este cultivar llegó a floración y fructificación el porcentaje de plantas muertas aumentó en forma progresiva. Sin embargo los niveles de incidencia fueron menores que en el resto de cultivares, por lo que se puede considerar que posee un nivel de resistencia mayor (Fig. 12).

Esta información confirma los resultados de Alfaro y Vega, 1971, quienes encontraron que la floración y fructificación es la época de mayor susceptibilidad a la enfermedad.

Cuadro 8. Análisis de varianza combinado para las seis lecturas de incidencia de *P. capsici*.

Fuentes de variación	GL.	Suma de cuadrados	F calculada	Pr > F
Rep	2	24.79	1.51	0.398 ⁿ *
Riego	1	87.29	10.66	0.824 ⁿ *
Rep*Riego (Error A)	2	16.38	-----	-----
Concent	2	367.80	22.65	0.005**
Riego*Concent	2	43.39	2.67	0.1292 ⁿ *
Rep*Riego*Concent (B)	8	64.96	-----	-----
Trat	10	520.77	19.49	0.0001**
Riego*Trat	10	56.19.	2.10	0.0292*
Concent*Trat	20	161.24	3.02	0.0001**
Riego*Concent*Trat	20	126.70	2.37	0.0022**
Rep*Riego*Conc*Trat(C)	120	320.65	---	-----
Tiempo	5	1293.47	334.88	0.0000**
Riego*Tiempo	5	54.22	14.04	0.0001**
Concent*Tiempo	10	80.44	10.41	0.0001**
Trat*Tiempo	50	144.88	3.75	0.0001**

CME = 0.7725

CV = 38.42

* significativo al 5% ** altamente significativo

El análisis de varianza combinado (Cuadro 8) tomado como parcelas divididas en el tiempo mostró diferencia altamente significativa para concentración de inóculo, tratamientos (cultivares), tiempo y para las interacciones riego por tratamiento, concentración por tratamiento, riego por concentración por tratamiento y las interacciones con el tiempo.

De los tres factores en estudio únicamente el factor riego no presentó diferencias significativas, al igual que la interacción riego por concentración. El factor tiempo presentó diferencia altamente significativa al igual que sus interacciones ésto es así debido a que la incidencia fue evaluada en forma acumulativa.

4.3.1.2 Efecto de la interacción cultivar por concentración sobre la resistencia o susceptibilidad hacia *P. capsici*

Los resultados de la prueba de Duncan para la interacción entre cultivares y concentración muestran que el cultivar "CATIE-Cacao" es el que posee los menores porcentajes de plantas muertas en las tres concentraciones

La comparación entre medias de cultivares dentro de cada una de las concentraciones indica que existe diferencia significativa, siendo en los tres casos el cultivar "CATIE-Cacao" el que presentó menor porcentaje de plantas muertas

Cuadro 9. Comportamiento de 11 cultivares de chile criollo bajo tres concentraciones de inóculo de *P. capsici*.

Cultivar	% de incidencia / concentración		
	4 x 10 ⁴	8 x 10 ⁴	3.2 x 10 ⁵
0.-"Tres cantos"	56 BC	88 AB	95 AB
1.-"Trompa de buey"	71 BC	72 CD	94 ABC
2.-"Colección CATIE 17248"	61 BC	72 CD	88 CD
3.-"Najera 2"	62 BC	73 CD	95 ABC
4.-"CATIE-Cacao"	37 C	22 F	45 F
5.-"Criollo Guatemalteco"	74 BC	81 BC	95 AB
6.-"Tropical irazú"	90 A	95 A	98 A
7.-"Colección CATIE 17245"	68 BC	94 A	96 AB
8.-"Lineas TAB-85"	75 B	83 BC	76 DE
9.-"Lineas"HMG-85"	45 BC	58 DE	71 EF
10.-"Lineas MAEAS"	63 BC	71 CD	94 BC

GL. =120

CME = 2.725

CV = 38.42

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

El análisis de la concentración 3.2x10⁵, (Cuadro 9) muestra que el cultivar "CATIE-Cacao" fue el que presentó menor porcentaje de plantas muertas (45%) en comparación con los otros cultivares, siguiéndole en orden ascendente de incidencia los cultivares "TAB-85", "17248" y "HMG-85", los cuales presentaron porcentajes intermedios de plantas muertas

y los cultivares "criollo Guatemalteco", "Tres cantos", "Trompa de buey", "Najera-2" y "Tropical irazú" que presentaron el porcentaje mayor de plantas muertas.

Los resultados de las concentraciones 4×10^4 y 8×10^4 zoosporas/ml presentan un comportamiento similar al descrito en la concentración 3.2×10^5 . Sin embargo, los datos obtenidos en esta última concentración fueron más consistentes en cuanto al porcentaje de plantas enfermas.

Utilizando la escala de evaluación de resistencia propuesta por Peter *et al.*, 1984, para clasificar los cultivares de chile, de acuerdo al porcentaje de plantas que presentan la enfermedad, se encontró que el cultivar "CATIE-Cacao" puede clasificarse como tolerante y el resto como susceptibles. Estos resultados difieren de los obtenidos por Jiménez *et al.*, 1987, quienes encontraron que los cultivares "17245", "17248" y "Najera-2" presentaron resistencia intermedia y que cuando fueron acompañadas con prácticas de manejo y control químico preventivo se logró obtener rendimientos económicamente rentables. Estas diferencias se deben a que Jiménez *et al.*, 1989, en una primera evaluación hicieron inoculación artificial, pero pasados 20 días frenó el desarrollo de la enfermedad con la aplicación de fungicidas; lo cual le permitió llevar plantas a cosecha. En una segunda evaluación utilizaron como inóculo, la infestación de campo la cual hizo que algunas plantas escaparan de la enfermedad por la ausencia o bajo nivel de inóculo en el lugar de siembra.

En este experimento las plantas recibieron concentraciones de inóculo que permitieron el desarrollo de la enfermedad y además se proporcionó condiciones adecuadas de humedad para su desarrollo, razón por la cual, aún el cultivar "CATIE-Cacao" se clasificó como susceptible al llegar a manifestar la enfermedad.

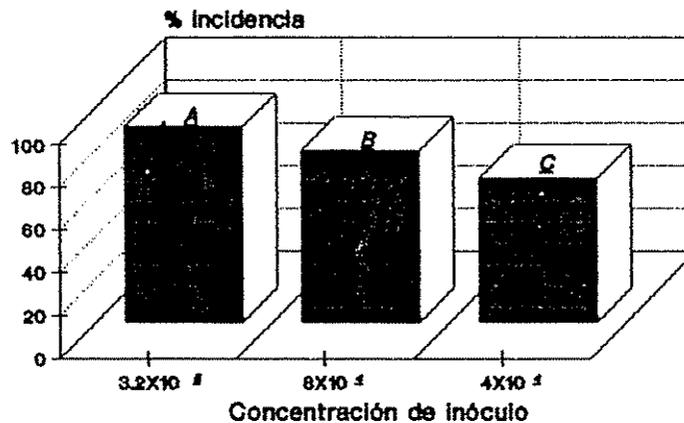


FIG 13 : Efecto de la concentración de inóculo en la incidencia de *P. capsici*

Al analizar los datos de campo arrojados por las tres concentraciones de inóculo (Fig 13) se logró definir que la concentración 3.2×10^5 presentó resultados más consistentes que las otras dos concentraciones, razón por la cual se considera que es una concentración adecuada para determinar resistencia a nivel de campo. Esta información confirma los resultados obtenidos por Reifschneider *et al.*, 1986, en Brasil quienes recomendaron utilizar una concentración de 3×10^5 para evaluar resistencia a nivel de campo.

Sin embargo, es importante considerar que concentraciones mayores de 3.2×10^5 podrían ser inadecuadas, ya que los cultivares con niveles de resistencia intermedia, si son expuestos a concentraciones muy altas o factores predisponentes a la enfermedad, pueden presentar una reacción igual a la de cultivares susceptibles (Blaker y MacDonald, 1981; Kim *et al.*, 1989).

Cuando se comparan los diferentes niveles de concentración de zoosporas (Fig. 13) se observan diferencias significativas, siendo la concentración 3.2×10^5 zoosporas/ml la que produjo el mayor porcentaje de plantas muertas.

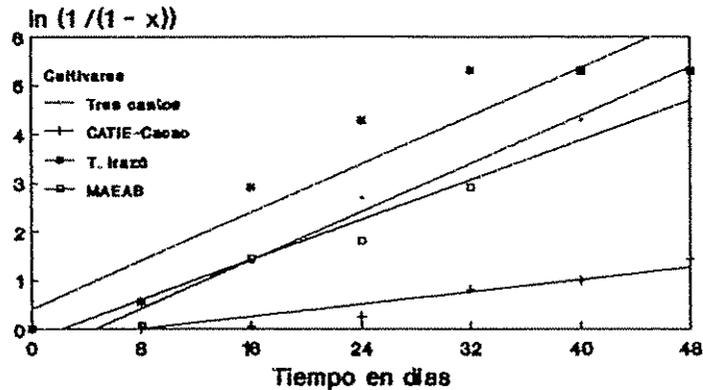


FIG 14 : Comportamiento de cuatro cultivares criollos de chile dulce bajo el efecto de la concentración 3.2×10^5

Otra manera utilizada para evaluar el nivel de resistencia de los cultivares fue a través de la comparación de la pendiente de las recta de regresión de cada uno de los cultivares (Anexo 1 y 2). El cultivar "CATIE-Cacao" fue el que presentó la menor pendiente, estadísticamente diferente del resto de cultivares, razón por la cual se consideró que su nivel de resistencia era mayor que el resto de cultivares (Fig 14).

Las ecuaciones de regresión de cada una de las rectas representadas en la Figura 14 son las siguientes:

$$\text{Tres cantos} \quad Y = - 0.4148 + 0.10833 X$$

$$\text{CATIE-Cacao} \quad Y = - 0.3809 + 0.0435 X$$

$$\text{Tropical Irazú} \quad Y = 0.7573 + 0.11375 X$$

$$\text{Lineas MAEAS} \quad Y = - 1.0732 + 0.13853 X$$

4.3.1.3 Efecto del riego sobre la resistencia o susceptibilidad de los cultivares de chile a *P. capsici*

Bajo las condiciones de este experimento los niveles de riego no presentaron diferencias significativas. Esta situación se debió a que las concentraciones de zoosporas inoculadas sobre el punto de infección hicieron que las plantas murieran antes de que el riego pudiera ayudar a la predisposición de la planta o ayudara a la diseminación de las zoosporas, funciones en las cuales el agua de riego tiene la mayor participación.

Según Schlub, 1983, el riego es el factor que más contribuye a la diseminación de las zoosporas, situación que bajo este experimento no fue necesario debido a que el inóculo fue puesto en contacto con la planta; sin embargo, esta situación pudo comprobarse cuando al final del periodo experimental las plantas de los bordes que no fueron inoculadas comenzaron a presentar la enfermedad.

Aún cuando la interacción riego por concentración no presentó diferencias significativas, se procedió a realizar el análisis de diferencia de medias para determinar su tendencia.

Cuadro 10. Prueba de Duncan para la interacción riego por concentración a dos niveles de probabilidad

tratamientos	media para % incidencia*	probabilidad	
		5%	13%
R ₂ C ₃	92	A	A
R ₁ C ₃	91	A	A
R ₂ C ₂	88	A	A
R ₂ C ₁	73	A	B
R ₁ C ₂	66	A	B
R ₁ C ₁	60	A	B

R₁ = riego a capacidad de campo. CV = 38.42

R₂ = riego sobre capacidad de campo

C₁, C₂, C₃ = concentración 4×10^4 , 8×10^4 , 3.2×10^5 .

* medias con igual letra son significativamente iguales

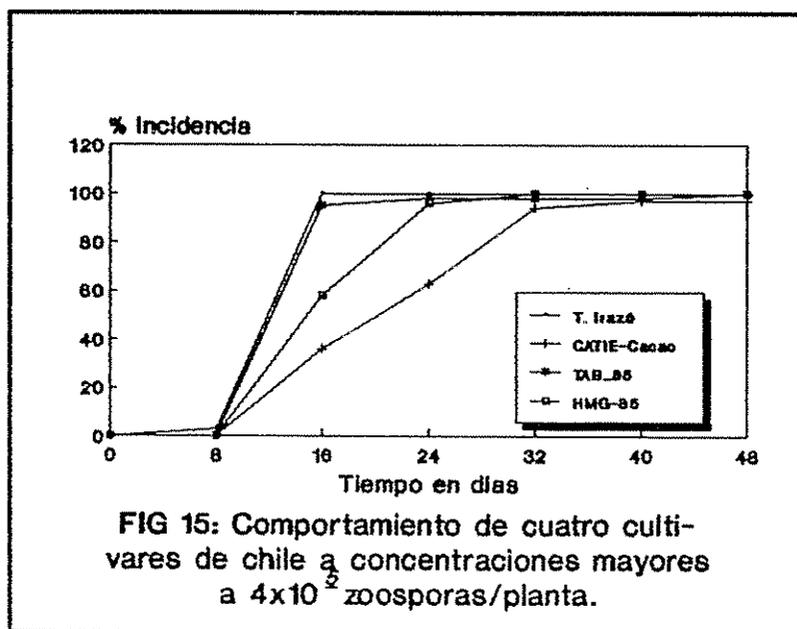
La información del Cuadro 10 muestra que el mayor porcentaje de plantas muertas está dado por el nivel más alto de concentración de inóculo y abundante humedad, seguido por el nivel alto de concentración de inóculo y riego a capacidad de campo, estas dos interacciones aunque muestran los valores más altos no presentan diferencia al 5% de probabilidad con el resto de los tratamientos.

Sin embargo, cuando el análisis de diferencia de medias se hace al 13% de probabilidad, la tendencia muestra que, cuando la concentración de inóculo es alta, el riego no tiene ninguna influencia, mientras que, cuando las concentraciones de inóculo son de intermedia a baja, el riego se constituye en un factor decisivo en el desarrollo de la enfermedad. La mayoría de literatura reporta que el riego es el factor más importante en la predisposición de la planta a la enfermedad y transporte de las zoosporas (Tompkins y Trucker, 1937; Tompkins, 1941; Malaguti *et al.*, 1950; Alfaro y Vega, 1971; Zambrano, 1976; Blaker y Macdonald, 1981; Schlub, 1983; Ferreyra *et al.*, 1984;

Mora, 1988; Avelar, 1989) sin embargo, cuando las plantas son inoculadas con altas concentraciones, éstas mueren antes de que el riego pueda predisponer la planta a la enfermedad o transportar las zoosporas, mientras que cuando las concentraciones son intermedias o bajas, este factor contribuye en el transporte de zoosporas e inclusive predispone la planta, de tal manera que aún las resistentes puedan manifestar la enfermedad.

4.3.1.4 Efecto de la alta concentración de inóculo en el comportamiento de la resistencia o susceptibilidad de los cultivares de chile.

Para explicar el comportamiento que presentaron los 11 cultivares de chile cuando fueron inoculados con una alta concentración de zoosporas (4×10^5 zoosporas o más por punto de inoculación) se graficaron los datos de los cultivares que bajo las tres concentraciones anteriores (4×10^4 , 8×10^4 y 3.2×10^5) habían mostrado diferentes niveles de resistencia.



Cuando el cultivar "Tropical irazú" fue inoculado con esta concentración (4×10^5 zoosporas/pl) todas las plantas murieron

rápida (segunda semana). No obstante los cultivares "TAB-85" y "HMG-85" aún cuando fueron consideradas susceptibles, el número de plantas muertas aumentó conforme transcurría el tiempo, llegando a alcanzar altos porcentajes de plantas muertas entre la 4-6 semana después de la inoculación. El cultivar "CATIE-Cacao" mantuvo plantas vivas durante más tiempo y el incremento de plantas muertas fue progresivo, no alcanzando el 100% de plantas muertas en el período experimental, sin embargo, esta diferencia en el comportamiento de los cultivares no fue significativa y todos los cultivares fueron consideradas susceptibles, cuando fueron inoculadas con esta concentración.

La alta concentración de inóculo hizo que las plantas susceptibles mostraran síntomas de la enfermedad mucho más rápido que plantas tolerantes (Fig 15). Esta observación fue notoria con el cultivar "Tropical Irazú", el cual después de 16 días de la inoculación presentó el 100% de plantas muertas, sin embargo, existió otro grupo de cultivares que según la clasificación de Peter *et al.*, 1984, fueron consideradas susceptibles, en las cuales el porcentaje de plantas muertas fue aumentando en forma progresiva, mostrando menor número de plantas muertas por fecha de muestreo, entre estos cultivares se caracterizó el cultivar "CATIE-Cacao". Este comportamiento en los cultivares da la idea de que existen diferentes niveles de resistencia contra *P. capsici*, sin embargo, en los cultivares evaluados no existieron niveles de resistencia tan altos que soportaran la concentración de 4×10^5 zoosporas/ml. Esta información confirma los resultados obtenidos por Kim *et al.*, 1989; Barksdale *et al.*, 1984; Smith *et al.*, 1967, quienes encontraron que las altas concentraciones de inóculo hicieron que las plantas resistentes presentaran síntomas severos de la enfermedad similares a los de cultivares susceptibles, pero que esa sintomatología tardó más tiempo en manifestarse debido a que el período de incubación fue más largo.

Aún cuando el cultivar "CATIE-Cacao" presentó alto porcentaje de plantas muertas debe considerarse tolerante ya que su nivel de resistencia no es tan alto como para soportar concentraciones de inóculo extremadamente elevadas, razón por la cual podría concluirse que la resistencia de este cultivar es mayor que la de los otros cultivares, debido a que presentó diferentes grados de la enfermedad según fue el nivel de concentración de zoosporas, a la raza con la cual fue inoculado y los factores que la predisponen para que presente la enfermedad.

4.3.1.5 Efecto de la altura de planta sobre la resistencia o susceptibilidad a *P. capsici*

Los resultados del análisis muestran que la altura de la planta, evaluada dos días antes de la inoculación presentó diferencias altamente significativas entre los cultivares.

Cuadro 11. Altura de planta de 11 cultivares de chile dos días antes de la inoculación.

Cultivar	X Altura	Duncan*
"Najera 2"	35.41	A
"Colección CATIE 17248"	35.21	A
"Lineas MAEAS"	35.18	A
"Colección CATIE 17245"	34.41	AB
"Tropical irazú"	34.39	AB
"Trompa de buey"	33.18	BC
"Tres cantos"	32.37	C
"Criollo Guatemala"	31.76	C
"Lineas TAB-85"	27.88	D
"CATIE-Cacao"	23.40	E
"Lineas HMG-85"	22.68	E

DC 0.05 G1= 120 CME= 4.176 CV = 6.5

* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Los cultivares "TAB-85", "CATIE-Cacao" y "HMG-85", (Cuadro 11) fueron los que presentaron menor altura a la fecha de la evaluación. Para determinar el efecto que la altura de planta tiene sobre la resistencia o susceptibilidad de la planta hacia *P. capsici* se correlacionó con la incidencia de cada una de las seis lecturas, habiéndose encontrado una correlación baja, la cual osciló entre 0.24-0.50 en las seis lecturas, lo cual permitió concluir que existe muy poca relación entre la incidencia de la enfermedad y la altura de planta.

Tomando en consideración los trabajos realizados por Reifschneider *et al.*, 1986 y Alas, 1988, quienes demostraron que no existe resistencia juvenil y los trabajos realizados por Kim *et al.*, 1989, quienes demostraron que la resistencia de las planta aumentaba con la edad, debido a la mayor lignificación que presentan los tejidos del tallo de la planta, se consideró que la altura de la planta podría constituir un indicador para determinar el nivel de resistencia de la planta, sin embargo esto no fue posible ya que tanto las plantas de mayor altura como las de menor altura fueron atacadas con igual intensidad y solamente el cultivar "CATIE-Cacao", que fue clasificado anteriormente como tolerante soportó el daño de la enfermedad, aún cuando su tamaño era menor que la mayoría de los cultivares.

Esto significa que aún cuando las plantas aumentan su resistencia con la edad, las plantas resistentes o tolerantes pueden manifestar su resistencia a menor altura, si se compara con un cultivar susceptible de mayor altura, lo cual permitiría evaluar a nivel de plantas en invernadero y determinar su nivel de resistencia bajo esas condiciones no siendo necesario las evaluaciones de campo.

4.3.2 DISCUSION GENERAL

4.3.2.1 Determinación de razas fisiológicas

La clasificación de razas fisiológicas en hoja desprendida en laboratorio presentó resultados diferentes a los obtenidos cuando se inoculó a nivel de planta completa en el invernadero. En el último caso las especies de la familia Cucurbitaceae no presentaron la enfermedad durante el período de evaluación o la presentaron en forma leve. Por el contrario cuando la evaluación se realizó a nivel de hoja desprendida en laboratorio, las Cucurbitaceas presentaron la enfermedad al mismo tiempo que el resto de especies (2 días) y en algunos

casos, como melón y ayote presentaron síntomas antes que chile y tomate.

Esta diferencia en la reacción entre planta completa inoculada en la base de la planta y hoja desprendida hizo que inóculos clasificados como una raza, en la inoculación de hoja desprendida se clasificara como otra raza cuando fueron inoculados en la base de la planta completa. Estos resultados se deben a que en el laboratorio, todas las especies mostraron mayor sensibilidad que en invernadero. Además al evaluar la reacción de la enfermedad en laboratorio es posible detectar niveles mínimos de la enfermedad que en invernadero no podrían ser determinados.

Cuadro 12. Comparación de efecto producido por los cultivos monospóricos en el cultivar Criollo Guatemalteco bajo condiciones de laboratorio e invernadero.

laboratorio				Invernadero		
cultivo monospórico	raza fisiológica	patogenicidad hoja desprendida	resist en hoja % incidencia†	raza fisiológica	patogenicidad base de la planta	resistencia base planta % incidencia†
1	2	+	98	5	+	38
8	3	+	98	5	+	92
17	4	+	98	8	+	74
22	6	+	97	8	+	63
28	8	+	97	8	+	91
23	9	+	95	8	+	39
9	1	+	89	2	+	57
12	13	-	89	12	-	2
25	14	-	34	13	-	0.0
30	16	-	21	13	-	0.0

• Medias con la misma letra son significativamente iguales.

Cuando se evaluó la resistencia del cultivar "Criollo Guatemalteco" (Cuadro 12) a las razas fisiológicas, se encontró que a nivel de hoja desprendida en el laboratorio todas las razas fueron patogénicas a este cultivar mientras que cuando fueron inoculadas en la base de la planta las razas 12 y 13 presentaron porcentajes de 2 y 0% respectivamente.

Con base en los resultados obtenidos se considera que para efectos de clasificación de razas fisiológicas es conveniente continuar con la calibración del método de inoculación en hoja desprendida, en cuanto a nivel de humedad, menor concentración de zooporas y sistema de aplicación de inóculo, debido a que este nivel las hojas de los diferenciales presentan mayor sensibilidad.

Independientemente del método de clasificación de razas fisiológicas que se utilizó, se encontró que las reacciones de las razas fisiológicas en los diferenciales fueron diversas y se observó que de un mismo inóculo obtenido del campo se logró identificar más de una raza fisiológica. El hecho de encontrar varias razas fisiológicas en una misma plantación les permite cruzarse y formar nuevas razas fisiológicas como resultado de la recombinación de su material genético.

Esta es una de las situaciones que dificulta la obtención de cultivares resistentes ya que cultivares que en el lugar de origen son reportados como resistentes al llevarlas a otro lugar pueden presentar reacciones diferentes debido a la presencia de nuevas razas. De igual manera dificulta la conservación de la identidad de cepas que no tengan origen monospórico.

4.3.2.2 Resistencia de cultivares de Chile Criollo a *P. capsici*

Al analizar en forma conjunta los resultados de resistencia, se encontró que existe una estrecha relación entre los resultados de invernadero y campo. Estas evaluaciones demostraron que el cultivar "CATIE-Cacao" fue el único que presentó niveles intermedios de resistencia (Tolerancia), el resto de cultivares fueron susceptibles.

Cuadro 13. Evaluación de resistencia de 11 cultivares de chile en laboratorio y campo.

cultivar	resistencia en hoja		resistencia en campo (más de 4×10^5 zoosporas/planta)	
	% incidencia*		% incidencia*	
"Colección CATIE 17245"	85	A	99	A
"Najera - 2"	85	A	99	A
"Criollo Guatemala"	83	AB	99	A
"CATIE-Cacao"	82	AB	93	A
"Lineas HMG-85"	82	AB	99	A
"Tres cantos"	80	AB	99	A
"Lineas TAB-85"	80	AB	99	A
"Colección CATIE 17248"	77	BC	99	A
"Lineas MAEAS"	76	BC	99	A
"Tropical irazú"	76	BC	99	A
"Trompa de buey"	71	C	99	A

* Medias con la misma letra son significativamente iguales

En la evaluación de resistencia a nivel de hoja desprendida en el laboratorio, (Cuadro 13) se encontró que todos los cultivares de chile criollo fueron igualmente susceptibles y su reacción fue similar a la encontrada cuando se inoculó altas concentraciones en el campo (más de 4×10^5 zoosporas/ml). En la literatura se ha reportado que las altas concentraciones, el contacto directo del inóculo con el tejido y la alta humedad, son factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad (Kim *et al.*, 1989) y estas condiciones fueron las que se dieron en el laboratorio.

El cultivar "CATIE-Cacao" que bajo condiciones de invernadero y campo (concentraciones intermedias) había resultado tolerante cuando se expuso a 4×10^5 zoosporas/ml llegó a presentar la enfermedad igual que los cultivares clasificados como susceptibles.

Aún cuando la información fue originada en dos experimentos manejados de manera diferente se encontró que cuando se evaluó la resistencia de los cultivares a la aplicación de una mezcla de raza fisiológicas en invernadero presentaron un comportamiento diferente que cuando se evaluó a la aplicación de una sola raza fisiológica. Con la mezcla de razas los síntomas de la enfermedad aparecieron seis días después de la aplicación mientras que cuando se inóculo con una sola raza, los síntomas fueron notorios a partir del 3er día y a los 10 días todas las plantas se encontraban muertas.

Los resultados de la aplicación de la mezcla de razas en invernadero fueron similares a los obtenidos en campo ya que únicamente el cultivar "CATIE-Cacao" presentó tolerancia y el resto fueron clasificados como susceptibles.

Cuando se analizó la incidencia provocada por cada una de las razas fisiológicas se encontró que existieron razas que presentaron porcentajes de incidencia mayores que otras, habiéndose encontrado razas patogénicas y no patogénicas en ambas evaluaciones (laboratorio e invernadero).

Cuando se evaluó las razas fisiológicas se encontró que existen diferencias entre razas en cuanto a incidencia y virulencia; habiéndose encontrado razas que fueron patogénicas a todos los diferenciales, mientras que otras solamente fueron patogénicas a algunos cultivares o no fueron patogénicas, igualmente cuando se evaluó el porcentaje de incidencia los resultados fueron similares, sin embargo, las razas que fueron más virulentas no siempre fueron las que presentaron mayores porcentajes de incidencia.

Por todas las razones expuestas se considera que el método de invernadero es igualmente efectivo para evaluar resistencia que las evaluaciones de campo, es más económico y reduce el tiempo para la obtención de resultados; sin embargo, es importante seguir evaluando la reacción de resistencia en hoja

desprendida en laboratorio ya que representa una alternativa mucho más económica que las dos anteriores, pero se hace necesario determinar las condiciones óptimas de nivel de concentración, humedad y tiempo de exposición de la hoja al inóculo ya que como demostró Barksdale *et al.*, 1984, las evaluaciones en laboratorio resultan más fáciles y económicas.

4.3.2.3 Diferenciación de razas fisiológicas y resistencia en cultivares

Cuando se comparó la patogenicidad de las razas fisiológicas en hoja desprendida en el laboratorio y la incidencia de las razas en la base de la planta en el invernadero, se encontró razas que en el laboratorio no fueron patogénicas a ninguno de los diferenciales y cuando se inocularon en el invernadero presentaron igual reacción, la raza 16 constituye el ejemplo en el cual la raza no fue patogénica en ambas evaluaciones; sin embargo se encontró otro grupo de razas que en el laboratorio no fueron patogénicas a chile pero sí a otros diferenciales, cuando estas razas fueron inoculadas en la base de la planta de chile en el invernadero llegaron a presentar la enfermedad en bajos porcentajes, por ejemplo la raza 14, a nivel de hoja desprendida únicamente fue patogénica a berenjena, cuando se inoculó en planta completa de chile la incidencia fue baja.

En general se observó que las razas que a nivel de hoja desprendida no son patogénicas a chile, cuando se inoculan en planta completa presentan una patogenicidad relativamente baja o no son patogénicas, este nivel depende del número de especies diferenciales al cual atacaron ya que razas que no fueron patogénicas a chile pero atacaron tres o más diferenciales, presentaron porcentajes de incidencia más altos en plantas completas que aquellas con menos de tres diferenciales atacados.

5. CONCLUSIONES

1.- La clasificación de razas fisiológicas fue diferente cuando se hizo a nivel de hoja desprendida que cuando se hizo en la base de la planta completa; las especies de la familia Cucurbitaceae presentaron mayores niveles de resistencia, cuando se inocularon en la base de la planta que cuando se hizo en hoja desprendida.

2.- Las razas fisiológicas que a nivel de hoja desprendida en el laboratorio no fueron patogénicas a chile pero sí a otros diferenciales, fueron poco patogénicas cuando se inocularon en la base de la planta en el invernadero. Las razas no patogénicas a ninguno de los diferenciales en laboratorio tampoco lo fueron en el invernadero.

3.- Existió diferencia en la virulencia de las razas clasificadas, habiéndose encontrado razas que no presentan genes que les confieran virulencia para ninguna de las especies diferenciales.

4.- En las razas fisiológicas identificadas, existió diferencias significativas entre los niveles de incidencia, virulencia y producción de zoosporas.

5.- Cuando se realizaron cultivos monospóricos de un aislamiento de campo y se clasificaron en razas fisiológicas se comprobó que en una misma plantación e inclusive de una misma planta se puede encontrar más de una raza fisiológica.

6.- El cultivar "CATIE-Cacao" fue el único cultivar criollo dentro del germoplasma evaluado que presentó resistencia intermedia, el resto de cultivares fueron clasificados como susceptibles.

7.- No se encontraron cultivares criollos con alta resistencia, ya que los factores como humedad, alta concentración de inóculo y tiempo de exposición hicieron que cultivares con niveles de resistencia intermedia, presentaran la enfermedad igual que los susceptibles.

8.- Todos los cultivares fueron más susceptibles a *P. capsici* en la fase de floración y fructificación que en la fase de crecimiento vegetativo.

9.- Todos los cultivares criollos evaluados en este experimento, que presentan fruto de tipo comercial fueron susceptibles a *P. capsici*.

10.- El riego no influyó en la incidencia de la enfermedad; cuando la concentración de zoosporas fue alta, sin embargo, sí lo hizo cuando las concentraciones fueron bajas.

11.- La raza 14 clasificada como no patogénica produjo mayor cantidad de zoosporas que el resto de las razas fisiológicas.

12.- La producción de zoosporas de las 12 razas caracterizadas fue mayor cuando se cultivaron en V-8 que cuando se cultivaron en P₃ VPP-B.

13.- No existieron diferencias estadísticas en la velocidad de crecimiento de las 12 razas fisiológicas cuando se cultivaron en el medio de cultivo V-8.

6. RECOMENDACIONES

- 1.- Hacer estudios para determinar el componente genético del cultivar "CATIE-Cacao" y saber si su resistencia es transferible y puede utilizar en programas de mejoramiento.
- 2.- Hacer las evaluaciones de resistencia a nivel de invernadero con una concentración de 1×10^4 zoosporas/ml/planta debido a que proporciona resultados similares a 3.2×10^5 zoosporas/ml en el campo.
- 3.- Utilizar el método de inoculación en la base de la planta, haciéndola escurrir sobre el tallo, debido a que proporciona resultados similares en invernadero y en campo.
- 4.- En nuevas investigaciones utilizar las razas no patogénicas para determinar si existe antagonismo con las razas patogénicas.
- 5.- Evaluar concentraciones de inóculo menores de 1×10^4 zoosporas/ml y niveles de humedad para ajustar la prueba en hoja desprendida en el laboratorio, al nivel que pueda ser confiable para la selección de material por resistencia.
- 6.- No evaluar niveles de riego cuando se usen altas concentraciones de zoosporas, debido a que las plantas mueren antes de que éstos tengan alguna influencia.
- 7.- No utilizar concentraciones mayores de 3.2×10^5 zoosporas/ml en evaluaciones de resistencia en campo, debido a que las plantas que presentan resistencia intermedia pueden presentar un nivel de enfermedad igual al de las plantas susceptibles.
- 8.- Evaluar niveles de concentración de zoosporas, humedad y tiempo de evaluación para determinar resistencia en hoja desprendida en laboratorio.

9.- Continuar realizando estudios genéticos para caracterizar la resistencia a *P. capsici* en germoplasma cuyos frutos no presenten características comerciales, para evitar que los agricultores los hayan seleccionado para otras características

7. BIBLIOGRAFIA CITADA

- AGRIOS, G. N. 1986. Fitopatología. 2ª ed. editorial limusa, México. p. 105 - 125.
- ALAS G, J.A. 1988. Validación de la metodología para determinar resistencia a *Phytophthora capsici* a nivel de invernadero en Chile (*Capsicum spp*). Trabajo especial. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 16 p (mimeografiado)
- ALFARO, A.; VEGA, I. 1971. La tristeza o seca del pimiento producida por *Phytophthora capsici* Leonian. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, (Serie Protección Vegetal)(España) 1:9-42.
- AVELAR M, J.J. 1989. Intentos de control de la marchitez del Chile ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici*. L. en la región de Valsequillo, Puebla, Mexico. Tesis. Mag.Sc. Chapingo, México, Colegio de Post Graduados. 66 p.
- AZURDIA P., C.A.; GONZALEZ S, M. 1986. Informe final del Proyecto de recolección de algunos cultivos nativos de Guatemala. Guatemala, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola. p. 19-56.
- BARKSDALE, T. H.; PAPAIVIZAS, G. C.; JOHNSTON, S. A. 1984. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease (EE.UU) 68(6):506-509.
- BAZAN DE SEGURA, C. 1962. Búsqueda de fuentes de resistencia de ají al hongo *Phytophthora citrophthora*. Turrialba (C.R.) 12(1):17-23.
- BECERRA G, J. E. 1975 Control cultural y químico de la pudrición basal del tallo de Chile dulce (*Capsicum annum*) causado por *Phytophthora capsici*. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica 33 p.
- BLAKER, N. S.; MacDONALD, J. D. 1981. Predisposing effects of soil moisture extremes on the susceptibility of Rodendron to *Phytophthora* root and crown rot. Phytopathology (EE.UU.) 71(8):831-834.
- BORECK, Z.; MILLIKAN, D. F. 1969. A rapid method for determining the pathogenicity and factors associated with pathogenicity of *Phytophthora cactorum*. Phytopathology (EE.UU.) 59:247.

- CAFE-F., A. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. 1986. Search for *Capsicum* juvenil resistance to blight caused by *Phytophthora capsici*. *Capsicum Newsletter* nº 5(55).
- CONVERSE, R.H.; SCOTT, D.H. 1962. Physiologic specialization in *Phytophthora fragariae*. *Phytopathology*. (EE.UU) 52:802-807.
- COSTA RICA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. 1983. Manual de recomendaciones de cultivos agrícolas de Costa Rica. MAG. Boletín Técnico nº 62. p. 102-109.
- DELEN, N.; TEZCAN, H. 1986. Effectiveness of antagonist and fungicide combinations for controlling *Phytophthora capsici* on pepper. *Capsicum Newsletter* nº 5:(57).
- DINGRA, D. O.; SINCLAIR, J. B. 1985. Basic plant pathology methods. Florida, C.R.C. p. 119-169.
- FERNANDEZ, M.C. 1983. *Phytophthora capsici* causante de la marchitez del pimentón (*Capsicum annuum*) en Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 43(2):91-93.
- FERREIRA, R.; TOSSO, J.; FERNANDEZ, C. 1984. Efecto del manejo del agua de riego sobre *Phytophthora capsici* Leonian causante de la marchitez del pimiento. *Agricultura Técnica (Chile)* 44(4):319-324.
- FRENCH, E.R.; HEBERT, T.T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica, IICA. p.165-166.
- GALINDO A., J.; ZENTMYER, G. A. 1967. Genetics and cytology of *Phytophthora*. *Nature(G.B)* 214:1356.
- GILL, H. S.; ZENTMYER, G. A. 1978. Identification of *Phytophthora* species by disc electrophoresis. *Phytopathology* (EE.UU) 68(2):163-167.
- GONZALEZ, L.C. 1976. Introducción a la fitopatología. San José, Costa Rica, IICA. p 93-124.
- HEREDIA, A.; GALINDO, J. 1971. Herencia de la resistencia del chile *Capsicum annuum* L. al ataque de una cepa de *Phytophthora capsici* Leonian. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science. Tropical Region* (EE.UU.) 15:121-125.
- HERNANDEZ, T.; MONTOYA, R. 1987. Epidemiología cuantitativa y su aplicación al análisis de algunas enfermedades de cultivos tropicales. Lima, Perú, IICA/UNAS. 50 p.

- JIMENEZ, J. M.; BUSTAMANTE, E.; BERMUDEZ, W.; GAMBOA, A.; OVALLE, W. 1987. Respuesta de cuatro cultivares de chile dulce a marchitez fungosa en Costa Rica. In XXVII reunión de APS. Sección del Caribe. Guatemala, Guatemala. 3 p.
- _____; BUSTAMANTE, E.; 1988. Selección de líneas de chile dulce resistentes a marchitez fungosa. Turrialba, C.R, CATIE. 14 p. (Mimeografiado)
- _____; BUSTAMANTE, E.; BERMUDEZ, W.; GAMBOA, A. 1989. Resistencia en líneas de chile dulce a *Phytophthora capsici* en Costa Rica. In II Congreso Regional de Manejo Integrado de Plagas. Guatemala, Guatemala. Sp.
- KELLAM, M. K.; ZENTMYER, G.A. 1986. Morphological, physiological, ecological and pathological comparisons of *Phytophthora* species isolated from *Theobroma cacao*. *Phytopathology* (EE.UU.) 76(2):159-164.
- KENNEDY, D.H.; DUNCAN, J.M.; DUGARD, P.I.; TOPHAN, P.H. 1986. Virulence and aggressiveness of single zoospore isolates of *Phytophthora fragariae*. *Plant Pathology* (G.B) 35:344-354.
- KIM, Y. J.; HWANG, B. K.; PARK, K. W. 1989. Expression of age related resistance in pepper plant infested with *Phytophthora capsici*. *Plant Disease* (EE.UU) 73(9):745-747.
- KIMBLE, K. A.; GROGAN, R. G. 1960. Resistance to *Phytophthora* root rot in pepper. *Phytopathology* (EE.UU.) 50:642.
- KREUTZER, W. A.; BODINE, E. W.; DURRELL, L. W. 1940. Cucurbit diseases and rot of tomato fruit caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* (EE.UU) 30: 972-976.
- LAWRENCE, J. S. 1978. Evaluation of methods for assessing resistance of Cacao *Theobroma cacao* L. cultivars and hybrids to *Phytophthora palmivora* (Butler) Centro do Pesquisas do Cacau, (Brasil). *Boletim Técnico* nº 62 p. 8 - 9
- LEONIAN, L.A. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora* sp. *Phytopathology* (EE.UU) 12(9):401-408.
- MALAGUTI, G.; PONTIS V., R E. 1950. *Phytophthora capsici* en Venezuela. Caracas, Venezuela, Dirección de Agricultura, Depto de Divulgación Agropecuaria. 13 p.

- MARONEK, D. M.; HENDRIX, J. W. 1978. Resistance to race 0 of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in tissue cultures of a tobacco breeding line with black shank resistance derived from *Nicotiana longiflora*. *Phytopathology* (EE.UU.) 68(2):233-234.
- MORA B, B. 1977. Evaluación de la resistencia de cultivares de chile (*Capsicum annum*) a la pudrición basal causada por *Phytophthora capsici* L. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 30 p.
- MORA, L.F. 1988. Guía de producción para chile picante. San José, Costa Rica, Laboratorios Griffith. 22 p.
- OVALLE S, W.R. 1987. Estudio de la variabilidad de *Phytophthora capsici* agente causal de la marchitez del chile (*Capsicum annum*) y su combate por resistencia. Tesis Mag.Sc. Turrialba, Costa Rica, UCR/CATIE. 99 p.
- PAPAVIZAS, G., C.; BOWERS, J. H. JOHNSTON, S.A. 1981. Selective isolation of *P. capsici* from soils. *Phytopathology* (EE.UU) 71:129-133.
- PARLEVLIT, J. E. 1983. Can horizontal resistance be recognized in the presence of vertical resistance in plants exposed to a mixture of pathogen races. *Phytopathology* (EE.UU) 73(3):379.
- PEREZ, M., L.; SALINAS, G.; RODRIGUEZ, M. R. 1986. Herencia de la resistencia a *Phytophthora capsici* leo. en cuatro materiales de chile *Capsicum annum*. Chapingo, México, Colegio de Posgraduados. 127 p.
- PETER, K. V.; GOTH, R. W.; WEBB, R.E. 1984. Indian hot pepper as new sources of resistance to bacterial wilt, *Phytophthora* root rot and root knot nematodes. *Hortscience* (EE.UU) 19(2):277-278.
- POLACH, F. J.; WEBSTER, R. K. 1972. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* (EE.UU.) 62:20-26.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B.; CAFE-FILHO, A.C.; REGO, A.H. 1986. Factors affecting expression of resistance in pepper (*Capsicum annum*) to blight caused by *Phytophthora capsici* in screening trials. *Plant Pathology* (G.B) 35:451-456.
- RIBEIRO, O. K. 1983. Physiology of asexual sporulation and spore germination in *Phytophthora*. *In Phytophthora: its biology, taxonomy ecology and pathology*. Eds D.C Erwin; S. Bartnick-Garcia; P.H. Tsao. St Paul, Minnesota, American Phytopathological Society. p 55-70.

- ROMERO, C., S. 1962. Inoculación artificial del chile en el campo con *Phytophthora capsici*. Agricultura Técnica en México (Mex.) 2(2):79-80.
- ROMERO, C., S. 1988. Hongos fitopatógenos. Texcoco, México, Universidad Autónoma de Chapingo. p 68-69.
- ROMERO, S.; ERWIN, D. C. 1969. Variation in pathogenicity among single - oospore culture of *Phytophthora infestans*. Phytopathology (EE.UU) 59(9):1310-1316.
- SAINI, S. S.; SHARMA, P. P. 1978. Inheritance of resistance to fruit rot (*Phytophthora capsici* Leon.) and induction of resistance in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) Euphytica (Holanda) 27:721-723.
- SARASOLA, A. A.; ROCCA, M. A. 1975. Fitopatología. Curso Moderno: Micosis. Buenos Aires, Argentina, Editorial Hemisferio Sur. Tomo 2.
- SCHLUB, R. L. 1983. Epidemiology of *Phytophthora capsici* on bell pepper. Journal of Agricultural Science (G.B). 100:7-11.
- SMITH, P. G.; KIMBLE, K.A.; CROFAN, R.G.; MILLET, A.H. 1967. Inheritance of resistance in pepper to *Phytophthora* root rot. Phytopathology (EE.UU) 57:377-379.
- TOMPKINS, C. M. 1941. Root rot of pepper and pumpkin caused by *Phytophthora capsici*. Journal of Agricultural Research (EE.UU.) 63(7):417-425.
- _____; TUCKER, C. M. 1937. *Phytophthora* rot of honeydew melons. Journal of Agricultural Research (EE.UU.) 54(12):933-945.
- TORRES, E.; SIMAN, J. 1990. Análisis estadístico en estudios epidemiológicos. In Encuentro sobre Metodología de Investigación de Campo en Fitopatología. (2, 1990, Managua, Nic.). [Informe] Managua, Nicaragua, CATIE/MIP. 37 p.
- VALENCIA, L.; ESTRADA, N. 1986. Control de plagas de papa con plantas resistentes. In Curso sobre Control Integrado de Plagas de Papa. (1986, Bogotá, Col.). Memorias. Ed. L. Valencia. Bogotá, Colombia. CIP/ICA. p. 117-124.
- WIANT, J. S.; TUCKER, C. M. 1940. A rot of winter queen water melons caused by *Phytophthora capsici*. Journal of Agricultural Research (EE.UU.) 60(2):73-88.

ZAMBRANO A., J. E. 1976. Control de la pudrición basal del tallo de chile dulce (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici* L. con fungicidas sistémicos. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 41 p.

8. ANEXOS

Anexo 1 Análisis de varianza para coeficiente "b"
(pendiente de las rectas de regresión)

fuentes de variación	GL	suma de cuadrado	Pr > F
rep	2	0.0046	0.1449
riego	1	0.0736	0.0053 **
riego * rep	2	0.0007	-----
concent.	2	0.0661	0.0085 **
riego*concent	2	0.023	0.0930 ns
riego*concent*rep	8	0.0288	-----
trat	10	0.0898	0.0001 **
riego* trat	10	0.0213	0.0654 ns
concent*trat	20	0.0378	0.0607 ns
riego*concent*trat	20	0.515	0.0049 **

** = Altamente significativo al 5%

CV = 47.47

Anexo 2 Coeficientes de regresión por tratamientos en
experimento de campo

riego	concent	trat	coeficiente "b"	intercepto
1	1	0	0.02408	- 0.10
1	1	1	0.01594	- 0.1651
1	1	2	0.01519	0.2293
1	1	3	0.02974	0.0583
1	1	4	0.01236	- 0.1376
1	1	5	0.02213	- 0.0299
1	1	6	0.03081	0.3609
1	1	7	0.02715	- 0.2115
1	1	8	0.02026	0.0080
1	1	9	0.02158	- 0.1626
1	1	10	0.03459	- 0.1434
1	2	0	0.03905	- 0.1380
1	2	1	0.08426	- 0.9665
1	2	2	0.04671	- 0.3035
1	2	3	0.02048	- 0.0025
1	2	4	0.00736	- 0.0474
1	2	5	0.03893	- 0.0308
1	2	6	0.07514	- 0.0348
1	2	7	0.11354	- 0.5279
1	2	8	0.02262	- 0.2018
1	2	9	0.01430	- 0.0093
1	2	10	0.04259	- 0.2284
1	3	0	0.14070	- 0.5029
1	3	1	0.12904	- 0.1052
1	3	2	0.06688	- 0.3458
1	3	3	0.07222	- 0.0350
1	3	4	0.01604	- 0.0987
1	3	5	0.12636	- 0.0914
1	3	6	0.10529	- 0.4838
1	3	7	0.09897	0.0470
1	3	8	0.05458	- 0.4477
1	3	9	0.06870	- 0.3481
1	3	10	0.10437	- 0.2459
2	1	0	0.06572	- 0.7565
2	1	1	0.09834	- 1.1351
2	1	2	0.03041	0.0260
2	1	3	0.04167	- 0.4139
2	1	4	0.05069	- 0.8087
2	1	5	0.08223	- 0.6693
2	1	6	0.15235	- 1.3698
2	1	7	0.09063	- 0.9368
2	1	8	0.09631	- 1.0977
2	1	9	0.04461	- 0.4866
2	1	10	0.06590	- 0.7365

Continuación

riego	concent	trat	coeficiente "b"	intercepto
2	2	0	0.14434	- 0.6713
2	2	1	0.05702	- 0.3918
2	2	2	0.08747	- 0.9220
2	2	3	0.12956	- 1.5917
2	2	4	0.02503	- 0.3523
2	2	5	0.13617	- 1.5147
2	2	6	0.12104	0.4637
2	2	7	0.13120	- 0.6455
2	2	8	0.15885	- 1.4352
2	2	9	0.07870	- 0.8761
2	2	10	0.05983	- 0.1700
2	3	0	0.10838	- 0.4148
2	3	1	0.07821	- 0.0603
2	3	2	0.11067	- 0.3994
2	3	3	0.12121	0.4788
2	3	4	0.04347	- 0.3809
2	3	5	0.10642	- 0.5739
2	3	6	0.11375	0.7573
2	3	7	0.12600	0.2786
2	3	8	0.09098	- 0.7608
2	3	9	0.03322	- 0.0612
2	3	10	0.13853	- 1.0732