

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE Phytophthora capsici
AGENTE CAUSAL DE LA MARCHITEZ DEL CHILE (Capsicum annuum L.)
Y SU COMBATE POR RESISTENCIA

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del
Programa conjunto de Estudios de Posgrado en Ciencias
Agrícolas y Recursos Naturales de la Universidad de Costa
Rica y el Centro Agronómico Tropical de Investigación
y Enseñanza, para optar el grado de

MAGISTER SCIENTIAE

WERNER RODERICO OVALLE SAENZ

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
Departamento de Producción Vegetal
Turrialba, Costa Rica

1987

DEDICATORIA

A Amparo, mi esposa
A José Francisco, mi hijo

A mis padres
Olga Sáenz V. de Ovalle
Roderico Ovalle Carbonell

A mis hermanos
Otto, Olga, Rosaura
Flavio y Axel

AGRADECIMIENTOS

El autor hace constar su agradecimiento:

Al Dr. Elkin Bustamante, por su permanente disposición en la asesoría del trabajo de tesis, su comprensión y estímulo en los momentos difíciles y amistad brindada.

Al Dr. Alexander Graf zu Stolberg-W., por sus orientaciones en el trabajo de campo y su amistad.

Al Dr. José J. Galindo, por sus orientaciones en el trabajo de laboratorio y en la revisión del original.

Al Dr. Ramón Lastra por sus sugerencias en la revisión del original.

Al Dr. José Francisco Di Stefano por sus sugerencias en la revisión del original y su apoyo en el momento oportuno.

Al Dr. Pedro Ferreira, por sus orientaciones en el área experimental y por el análisis estadístico.

Al Señor Gustavo López, por su amistad y colaboración en el análisis estadístico.

Al M.S. José Martí Jimenez, por su amistad, constante colaboración y orientación en todas las etapas del trabajo de tesis.

Al M.S. Asha Ram, por sus orientaciones y ayuda en el trabajo de laboratorio.

A los señores Fernando López, Luis G. Salazar, Walter Bermudez, Arturo Gamboa y Tomás Rojas por su valiosa colaboración y enseñanzas en el trabajo de laboratorio y por su amistad.

A las señoritas Floribeth Salguero, Isabel Royo y Yorlene Pérez por sus atenciones y ayuda brindada.

A los Dres. Joseph Saunders y José Rutilio Quesada por su estímulo en los momentos difíciles.

A los Dres. James French y Phillip Shannon por la colaboración brindada.

A todo el personal del Proyecto Manejo Integrado de Plagas, que de una u otra forma me brindaron su ayuda.

A los señores, Arnoldo Barrantes, José Mata y personal de "La Montaña" por su amistad y permanente colaboración en los trabajos de campo.

Al personal del comedor y del Club Internacional especialmente a Elizabeth Torres por sus atenciones.

Al personal de la Biblioteca Conmemorativa Orton, especialmente a Lisseth Brennes, Rigoberto Aguilar y Jesús Jimenez.

Al personal del Programa de Posgrado y a la señora Lorena de Murillo por su siempre amable colaboración.

A la señora Urbana Aguilar por su ayuda en el trabajo mecanográfico.

Al M.S. Francisco Jimenez por su oportuna ayuda y por su colaboración en los trabajos de invernadero.

Al M.S. Alan Gonzales y Señora Merlyn de Gonzales por su especial amistad y atenciones especiales para mi familia.

A las familias Martínez Berganza, Reich López y Arias Luna por su amistad e incondicional ayuda moral y material.

Al M.S. José Arze Borda por la oportunidad y ayuda brindada.

Al Dr. Elkin Bustamante y Señora por su amistad y ayuda.

A las familias Fraile y Corea por su oportuna solidaridad.

A la familia Phillips Hernández por su amistad y por los momentos gratos compartidos.

A mis compañeros Isaac Lionel, Héctor Huamán, Carlos Navarro, Adolfo Cruz, Jean Bossa, Wilberth Campos, Antonio Vallejos y Jorge del Villar por su amistad.

A todas aquellas personas que se preocuparon por mi bienestar y el de mi familia y que brindaron generosamente su ayuda en el momento más oportuno.

Al Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza y al Proyecto Manejo Integrado de Plagas por permitir mi superación académica.

BIOGRAFIA

El autor nació en la ciudad de Quetzaltenango, Guatemala, el 10 de abril de 1958. Realizó sus estudios primarios en la Escuela "Francisco Muñoz" y de bachillerato en el Instituto Normal para Varones de Occidente.

En 1975, inició sus estudios en la Universidad de San Carlos de Guatemala y egresó de la misma en 1979 graduándose de Ingeniero Agrónomo en agosto de 1982.

A partir de 1980 trabaja en el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas con el cargo de Investigador Asistente de Prueba de Tecnología.

En abril de 1985, ingresó al Programa de Posgrado UCR-CATIE, en Turrialba, Costa Rica. Realizó su investigación de tesis con el Proyecto Manejo Integrado de Plagas, del Departamento de Producción Vegetal y se graduó de **Magister Scientiae** en Setiembre de 1987.

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Estudios de Posgrado del Programa Conjunto UCR-CATIE, como requisito parcial para optar al grado de

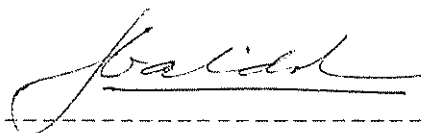
Magister Scientiae

Comité Asesor



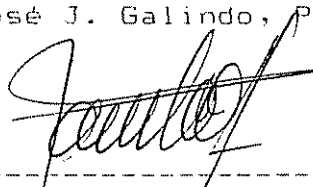
Elkin Bustamante, Ph.D.

Profesor Consejero



José J. Galindo, Ph.D.

Miembro del Comité



Ramón Lastra, Ph.D.

Miembro del Comité



José F. Di Stefano, Ph.D.

Director del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales UCR-CATIE.



Luis Estrada N., Ph.D.

Decano del Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica.



Werner Ovalle Sáenz
Candidato

INDICE

	PAGINA
RESUMEN.....	x
SUMMARY.....	xiii
LISTA DE CUADROS.....	xvi
LISTA DE FIGURAS.....	xviii
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1. La enfermedad.....	4
2.1.1. Origen y distribución geográfica.....	4
2.1.2. Importancia económica.....	4
2.1.3. Sintomatología.....	5
2.2. El organismo causal.....	7
2.2.1. Ambito de hospederos.....	7
2.2.2. Etiología.....	7
2.2.3. Variación dentro de la especie.....	10
2.3. Epidemiología.....	12
2.4. Medidas de combate.....	14
2.4.1. Combate por prácticas culturales.....	14
2.4.2. Combate por resistencia.....	16
2.4.3. Combate químico.....	17
2.4.4. Otras medidas de combate.....	19
2.5. Métodos para evaluar la resistencia genética... ..	20
2.5.1. Con incidencia natural.....	20
2.5.2. Inoculación artificial.....	20
2.5.3. Cuantificación de la resistencia genética.....	23
3. MATERIALES Y METODOS.....	25
3.1. Localización.....	25
3.2. Material experimental.....	25
3.3. Metodología.....	27
3.3.1. Aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i>	27
3.3.2. Determinación de razas de <i>Phytophthora</i> <i>capsici</i>	29
3.3.2.1. Procedimiento.....	29

3.3.2.2.	Tratamientos.....	30
3.3.2.3.	Descripción de la unidad experimental.....	30
3.3.3.	Caracterización <u>in vitro</u> de las razas de <u>Phytophthora capsici</u>	32
3.3.3.1.	Procedimiento.....	32
a)	Crecimiento de colonias.....	32
b)	Producción de esporángios...	32
3.3.3.2.	Tratamientos.....	33
3.3.3.3.	Diseño experimental.....	34
3.4.	Identificación de materiales resistentes a <u>Phytophthora capsici</u>	34
3.4.1.	Aislamientos de <u>Pseudomonas solanacearum</u>	34
3.4.2.	Pruebas en el campo.....	35
3.4.2.1.	Procedimiento.....	35
3.4.2.2.	Tratamientos.....	36
3.4.2.3.	Descripción de la unidad experimental.....	36
3.4.2.4.	Diseño experimental.....	37
3.4.2.5.	Manejo del experimento.....	37
3.4.2.6.	Variables evaluadas y análisis.	39
3.4.3.	Pruebas en el invernadero.....	39
3.4.3.1.	Procedimiento.....	39
3.4.3.2.	Tratamientos.....	39
3.4.3.3.	Descripción de la unidad experimental.....	40
4.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	41
4.1.	Determinación de razas de <u>Phytophthora capsici</u> .	41
4.1.1.	Aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u>	41
4.1.2.	Razas de <u>Phytophthora capsici</u>	42
4.2.	Caracterización <u>in vitro</u> de razas de <u>Phytophthora capsici</u>	50
4.2.1.	Crecimiento de colonias.....	50
4.2.2.	Producción de esporángios.....	57
4.3.	Identificación de materiales resistentes a	

<u>Phytophthora capsici</u>	69
4.3.1. Prueba de campo.....	69
4.3.2. Prueba de invernadero.....	78
5. CONCLUSIONES.....	84
6. RECOMENDACIONES.....	87
7. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	89
8. ANEXOS.....	96

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE Phytophthora capsici, AGENTE CAUSAL DE LA MARCHITEZ DEL CHILE (Capsicum annuum L.) Y SU COMBATE POR RESISTENCIA.

Palabras claves: Chile, marchitez, resistencia varietal, Phytophthora capsici.

RESUMEN

La marchitez o pudrición basal del tallo del chile (Capsicum annuum) causada por Phytophthora capsici constituye uno de los factores que limitan la producción de esa especie, pues en condiciones favorables para el patógeno puede provocar grandes pérdidas al productor.

Estudios sobre diferentes métodos de combate de la enfermedad, indican que la resistencia es la alternativa más promisoría.

Para evitar la selección de materiales resistentes a variantes poco comunes o de baja patogenicidad del hongo en evaluaciones de resistencia a P. capsici, es condición indispensable tomar en cuenta la variabilidad de este patógeno.

El presente trabajo se realizó en el CATIE, Turrialba, utilizando pruebas de laboratorio, invernadero y campo. En laboratorio e invernadero se hicieron estudios con inoculaciones en hojas y plantas de especies diferenciales, para identificar preliminarmente las razas de P. capsici presentes en diferentes áreas geográficas de Costa Rica.

Las características de crecimiento y esporulación in vitro de estas razas, fueron estudiadas en laboratorio a tres temperaturas y dos medios de cultivo.

La resistencia de 17 introducciones y cultivares de chile, dulces y picantes, fue evaluada en el campo; se inocularon las plantas en dos tratamientos con dos concentraciones de P. capsici, en otro tratamiento se inocularon solo con P. solanacearum y en el cuarto tratamiento con ambos patógenos.

Cinco materiales que mostraron diferentes niveles de resistencia a P. capsici en la prueba de campo, se evaluaron posteriormente en invernadero por su resistencia a 10 aislamientos diferentes del patógeno.

De 35 aislamientos inoculados en hojas desprendidas de plantas de especies diferenciales, se identificaron preliminarmente 11 razas fisiológicas de P. capsici de acuerdo con su patogenicidad. Se evidenció que la patogenicidad del hongo varía si se inocula en las hojas desprendidas o en la base del tallo. También fue notorio como el agrupamiento en razas no tuvo relación con la zona geográfica de procedencia de los aislamientos.

En características de crecimiento y esporulación, se observó que tanto entre razas como dentro de razas existen diferencias marcadas. Tales diferencias no están relacionadas con la zona geográfica de origen de los aislamientos y la capacidad de esporulación tampoco tiene relación con la velocidad de crecimiento de las colonias.

Además se encontró que la temperatura cercana a la óptima para esporulación es diferente a la cercana óptima para crecimiento vegetativo. Los aislamientos y los medios de cultivo evaluados mostraron interacciones.

Los estudios de resistencia en campo, evidenciaron que existe una relación directa entre el nivel de concentración de inóculo y la mortalidad de las plantas evaluadas. Tal efecto es mayor en plantas susceptibles que en resistentes.

En general, las introducciones y cultivares picantes fueron más resistentes a la enfermedad que las dulces. También se observó cierto grado de sinergismo entre P. capsici y P. solanacearum.

Las introducciones con los niveles más altos de resistencia fueron las picantes identificada como 7257, 9781 y 10871 en el Banco de Germoplasma de la Unidad de Recursos Fitogenéticos del CATIE.

STUDY OF THE VARIABILITY OF Phytophthora capsici, CAUSAL
AGENT OF WILT IN PEPPERS (Capsicum annuum L.) AND RESISTANCE
AS A MEAN OF CONTROL.

Key words: Peppers, wilt, varietal resistance, Phytophthora capsici.

SUMMARY

Pepper (Capsicum annuum) stem rot, caused by Phytophthora capsici, is one of the limiting factors of production for this species, since under favorable conditions the pathogen can cause big losses.

Plant resistance has been considered as the most promising alternative form of disease control. However, it is necessary to keep in mind the fungus variability to avoid resistance selection to isolates with low pathogenicity.

The present study was undertaken at CATIE, Turrialba, under laboratory, glasshouse and field conditions. The preliminary race identification was obtained from entire plants or detached leaves of differential species inoculated with P. capsici isolates under glasshouse and laboratory conditions.

The colony growth rate and sporulation in vitro were studied at three temperatures and in two growing media.

The screening for resistance was done on 17 cultivars and introductions of pepper; two treatments were inoculated with two different concentrations of P. capsici, one treatment was inoculated with only Pseudomonas solanacearum and the fourth treatment with both pathogens.

Five materials, with different levels of resistance observed in the field experiment, later were tested with 10 different isolates of P. capsici in the glasshouse.

From the thirty-five isolates of P. capsici tested on the differential species, eleven physiological races were identified on the basis of their pathogenicity. Pathogenicity of the fungus varied from the entire plants to the detached leaves reaction. The isolate grouped into races were independent of the geographic areas of collection.

The rate of fungus growth and sporulation were quite different among races and within races. The differences were not related to the collection site, neither was the growth rate related with sporulation ability. Besides, the optimum growth rate temperature was different from the optimum sporulation temperature. An interaction was found between isolates and growth media.

The field resistance studies showed a direct relation between inoculum concentration and plant mortality. This

effect was more evident in susceptible plants than in resistance.

In general, the chili pepper type was more resistance to P. capsici than the sweet pepper type. A slight synergism between P. capsici and P. solanacearum was also observed.

The higher resistance level was shown by the introductions identified as 7257, 9781 and 10871, all of them chili pepper type from the CATIE Plant Germoplasm Unit.

LISTA DE CUADROS

En el texto		Página
Cuadro N°		
1	Introducciones de chile evaluadas en el campo por su resistencia a <u>Phytophthora capsici</u> y <u>Pseudomonas solanacearum</u>	28
2	Análisis químico del suelo usado en pruebas de invernadero. CATIE, 1986.....	31
3	Análisis físico del suelo usado en pruebas de invernadero. CATIE, 1986.....	31
4	Aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> realizados, zona de origen y distribución en los diferentes experimentos.....	43
5	Patogenicidad de <u>Phytophthora capsici</u> en siete especies diferenciales después de ocho días de inocular en la base del tallo con diez aislamientos del patógeno.....	44
6	Comparación de la patogenicidad de siete aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> inoculados en la base del tallo de plantas y en hojas separadas de siete especies diferenciales.....	45
7	Razas fisiológicas de <u>Phytophthora capsici</u> determinadas por su patogenicidad a los cuatro días de inoculadas en hojas separadas de la planta de especies diferenciales.....	48
8	Crecimiento radial (mm/24 h) de 15 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> en dos medios de cultivo a 18°C.....	52
9	Crecimiento radial (mm/24 h) de 15 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> en dos medios de cultivo a 24°C.....	53
10	Crecimiento radial (mm/24 H) de 15 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> en dos medios de cultivo a 30°C.....	54
11	Producción de esporangios por hora, de 15 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> en dos medios de cultivo a 18°C.....	60

12	Producción de esporangios por hora, de 15 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> en dos medios de cultivo a 24°C.....	61
13	Producción de esporangios por hora, de 15 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> en dos medios de cultivo a 30°C.....	62
14	Mortalidad de 17 materiales de <u>Capsicum annuum</u> inoculados con <u>Phytophthora capsici</u> y <u>Pseudomonas solanacearum</u>	70
15	Mortalidad promedio en materiales de <u>Capsicum annuum</u> inoculados con <u>Phytophthora capsici</u> y <u>Pseudomonas solanacearum</u>	75
16	Patogenicidad de diez aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> sobre ocho materiales de Chile. Determinación ocho días después de inocular con una suspensión de 5×10^8 zoosporas/ml en la base del tallo. Prueba de Invernadero, CATIE...	80
17	Porcentajes de infección causados por diez aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> sobre ocho materiales de Chile. Determinación ocho días después de inocular con una suspensión de 5×10^8 zoosporas/ml en la base del tallo. Prueba de Invernadero, CATIE.....	80

En el anexo

1A	Análisis de varianza para tasa de crecimiento radial de colonias a 18°C.....	97
2A	Análisis de varianza para tasa de crecimiento radial de colonias a 24°C.....	97
3A	Análisis de varianza para tasa de crecimiento radial de colonias a 30°C.....	97
4A	Análisis de varianza para β_1 de tasa de producción de esporangios a 18°C.....	98
5A	Análisis de varianza para β_1 de tasa de producción de esporangios a 24°C.....	98
6A	Análisis de varianza para β_1 de tasa de producción de esporangios a 30°C.....	98
7A	Análisis de varianza para mortalidad de plantas inoculadas con cuatro tratamientos de <u>Phytophthora capsici</u> y <u>Pseudomonas solanacearum</u> en pruebas de campo.....	99

LISTA DE FIGURAS

Figura N°		Página
1	Promedios mensuales de temperatura y humedad relativa para el período de estudio en el campo. agosto-diciembre 1986, La Montaña, CATIE.....	26
2	Promedios diarios de temperatura y humedad relativa para el periodo de estudio en invernadero de evaluación de la patogenicidad de 10 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> en 7 especies diferenciales. CATIE, 1986.....	47
3	Crecimiento radial de 15 aislamientos (agrupados en 11 razas) de <u>Phytophthora capsici</u> , en dos medios de cultivo, V-8 y PDA. Promedios de tres temperaturas.....	56
4	Crecimiento radial de 15 aislamientos (agrupados en 11 razas) de <u>Phytophthora capsici</u> , en tres temperaturas, 18, 24 y 30°C.....	58
5	Producción de esporangios por hora de 15 aislamientos (agrupados en 11 razas) de <u>Phytophthora capsici</u> en dos medios de cultivo. Promedios de tres temperaturas.....	63
6	Producción de esporangios de 15 aislamientos (agrupados en 11 razas) de <u>Phytophthora capsici</u> en tres temperaturas. Promedios de dos medios de cultivo.....	65
7	Producción de esporangios de tres aislamientos (razas 1, 6 y 4) de <u>Phytophthora capsici</u> en tres temperaturas a tres intervalos de tiempo después de inducir esporulación en medio V-8.....	67
8	Producción de esporangios de tres aislamientos (razas 4, 6 y 1) de <u>Phytophthora capsici</u> en tres temperaturas a tres intervalos de tiempo después de inducir esporulación en medio PDA.....	68
9	Diferencias en tasa de mortalidad de 17 introducciones de chile (<u>Capsicum annuum</u>) inoculadas con <u>Phytophthora capsici</u> a 8×10^4 y 5×10^5 zoosporas/ml. La Montaña, CATIE, 1986.....	73

10	Mortalidad de seis introducciones de chile (<u>Capsicum annuum</u>) con tres tratamientos de inoculación con <u>Phytophthora capsici</u> y <u>Pseudomonas solanacearum</u> . La Montaña, CATIE, 1986.....	76
11	Superviviencia de cuatro introducciones de chile (<u>Capsicum annuum</u>) a través de ocho semanas después de la inoculación. Promedios de tres tratamientos que incluyen inoculación con <u>Phytophthora capsici</u> . La Montaña, CATIE, 1986.....	77
12	Promedios diarios de temperatura y humedad relativa para el período de estudio en invernadero, de evaluación de la resistencia de ocho materiales de chile inoculados con 10 aislamientos de <u>Phytophthora capsici</u> . CATIE, 1986.....	83

1. INTRODUCCION

Uno de los factores que limitan la producción de chile (Capsicum annuum L.) es la marchitez o pudrición basal del tallo, causada por Phytophthora capsici Leonian, pues si las condiciones ambientales favorecen su desarrollo puede provocar pérdidas severas (Becerra, 1975).

Dentro del Proyecto Regional de Manejo Integrado de Plagas, el diagnóstico inicial sobre problemas fitopatológicos en Guatemala concede prioridad al estudio de P. capsici en el cultivo del chile. (Monterroso y Pareja, 1985). Además, en la Unidad de Recursos Fitogenéticos del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, se considera de fundamental importancia la identificación de resistencia a P. capsici en los materiales incluidos dentro del banco de germoplasma.

El uso de cultivares resistentes se considera el método más adecuado para controlar enfermedades en cualquier cultivo porque disminuye el uso de productos químicos y sus consecuentes problemas de contaminación ambiental. Actualmente se considera que la forma más factible para solucionar el problema de la pudrición basal del chile, es por medio de la resistencia genética, ya que ningún otro método ha resultado efectivo (Heredia y Galindo, 1971). Una vez obtenido el material con resistencia y buena calidad, su uso no incrementa los costos para el productor. Cuando es difícil obtener un cultivar altamente resistente, pero existe

uno con mediana resistencia y buenas características, es recomendable la combinación de ese cultivar, con el control cultural y combate químico racional.

Es importante tener en cuenta que materiales identificados como resistentes pueden dejar de serlo en algunas circunstancias. Una de las razones es la ocurrencia de una variante del patógeno capaz de romper la resistencia del hospedero. Tales variantes pueden producirse por mutaciones o por recombinación genética en aquellos patógenos capaces de reproducirse sexualmente. (Fernández Valiela, 1978). El conocimiento de las características de las variantes (patogenicidad, agresividad, supervivencia, etc), es importante para planificar trabajos tendientes a obtener genotipos resistentes. Si la variación del patógeno es ignorada puede ocurrir que el material sea seleccionado para una variante poco común o poco virulenta del patógeno, con lo cual se restringirá su utilización.

Otro factor importante en las evaluaciones de resistencia es el nivel de inóculo del patógeno, ya que niveles altos pueden romper la resistencia de materiales con esa característica (Barksdale, Papavizas y Johnston, 1984). Por el contrario, niveles bajos pueden permitir escapes y por lo tanto la selección de materiales susceptibles.

Tomando en cuenta las consideraciones mencionadas anteriormente, se realizó el presente estudio con los siguientes objetivos:

-Determinar en forma preliminar las razas fisiológicas de P. capsici presentes en muestras procedentes de diferentes áreas de Costa Rica.

-Caracterizar in vitro las razas de P. capsici determinadas.

-Identificar materiales de Chile (C. annuum) resistentes a P. capsici.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. La enfermedad

2.1.1. Origen y distribución geográfica

Según Serejanni, mencionado por Wiant y Tucker (1940), P. capsici el agente causal de la marchitez del chile, es una variante de P. parasitica. En 1919 Leonian, en Nuevo México aisló de plantas de chile, un hongo perteneciente al género Phytophthora y al observar características diferentes a las de los miembros conocidos del género, propuso la nueva especie P. capsici (Leonian, 1922).

Weber (1932) indicó a P. capsici como agente causal del tizón del chile en Florida. Trotter (1924), Serejanni (1933) y Godoy (1940), citados por Tompkins y Tucker (1941), observaron la presencia de la enfermedad en Italia, Grecia y Argentina, respectivamente. Malaguti y Pontis (1950) mencionaron la enfermedad como endémica en Venezuela. Alfaro y Vegh (1971) indican al mismo organismo como el causante de la tristeza o seca del pimiento en España. Galindo (1958) determinó a P. capsici como agente causal de la marchitez del chile en México (Heredia y Galindo 1971). Fernández (1983), determinó a ese organismo como agente causante de la enfermedad en la República de Chile.

2.1.2. Importancia económica

Es una enfermedad limitante en Costa Rica (Manual de, 1983). Las pérdidas son difíciles de cuantificar en términos

monetarios por las variaciones en precio del producto e intensidad de daño, dependiendo esta última de las condiciones ambientales. Se han hecho estimaciones de incidencia de P. capsici las cuales varían entre 5 y 40 % (Malaguti y Pontis, 1950; Fernández, 1983; Ramirez y Romero citados por Ferreyra, Tosso y Fernández, 1984).

2.1.3. Sintomatología

La enfermedad puede presentarse a cualquier edad y en cualquier órgano de la planta (Malaguti y Pontis, 1950; Fernández, 1983). La época de aparición y sitio de infección dependen de las condiciones ambientales de la región y tiene la particularidad de mostrar síntomas distintos según se presente en verano bajo riego o en época lluviosa (Malaguti y Pontis, 1950).

La enfermedad es drástica en semilleros y se conoce como mal del talluelo. La infección primaria generalmente ocurre en el tallo al nivel del suelo, pero también puede aparecer en el brote terminal o en la mitad del tallo. La parte invadida pierde turgencia y la planta puede caer o quedar erguida (Fernández, 1983).

La infección en plantación definitiva, durante la época seca bajo riego, ocurre en las raíces o en la base del tallo, siendo el primer síntoma un marchitamiento de hojas sin cambio de color, terminando por quedar colgadas de los peciolo (Malaguti y Pontis, 1950; Alfaro y Vegh, 1971; Fernández, 1983). En la base del tallo se observa una mancha

marrón verduzca que se ennegrece más o menos dependiendo de la lignificación de la planta (Malaguti y Pontis, 1950). Las raíces y tallos afectados muestran una pudrición suave, acuosa, sin olor (Tompkins y Tucker, 1941). Los frutos anticipan su cambio a color rojo y se arrugan. Los tallos continúan erguidos con las hojas colgantes y los frutos secos y arrugados (Alfaro y Vegh, 1971; Fernández, 1983).

Durante el invierno la enfermedad puede atacar desde el semillero hasta la planta madura afectando en cualquier órgano. Los frutos pueden ser atacados a través del pedicelo produciéndose una podredumbre que se inicia alrededor del cáliz como una mancha color verde oscuro, la epidermis pierde su brillo y toma un aspecto acuoso terminando por arrugarse (Weber, 1932; Malaguti y Pontis, 1950). Las semillas se pueden infectar, toman una coloración parda y luego se arrugan (Leonian, 1922; Malaguti y Pontis, 1950; Alfaro y Vegh, 1971; Sarassola y Roca citados por Fernández, 1983). Las lesiones en las hojas son inicialmente pequeñas, circulares o irregulares y después se alargan y secan hasta adquirir una consistencia similar a la del papel (Weber, 1932).

Si el hongo se localiza en las ramas, el marchitamiento puede limitarse a la parte de la planta por encima de la lesión (Leonian, 1922; Malaguti y Pontis, 1950; Alfaro y Vegh, 1971; Fernández, 1983).

2.2. El organismo causal

2.2.1. Ambito de hospederos

La patogenicidad para varios hospederos es controlada por un gene separado o un sistema de genes para cada hospedero. La patogenicidad en Chile está controlada al menos por dos genes (Polach y Webster, 1972). El hongo es patogénico a diferentes especies de plantas cultivadas, la mayoría solanáceas y cucurbitáceas. Las siguientes han sido determinadas: pepino (Cucumis sativus L.), berenjena (Solanum melongena L.), tomate (Lycopersicon esculentum Mill.), ayote (Cucurbita maxima L.), melón (Cucumis melo L.) y sandía (Citrullus vulgaris Schrad.) (Tompkins y Tucker, 1937 y 1941; Kreutzer, 1937; Kreutzer, Bodine y Durell, 1940; Wiant y Tucker, 1940). Wiant y Tucker (1940) con inoculaciones artificiales sin heridas, encontraron patogenicidad del hongo sobre manzana (Pyrus malus L.) y zanahoria (Daucus carota L.). Cuando inocularon con heridas, el hongo afectó frutos de naranjo (Citrus sinensis L.), limonero (Citrus sp.) y tubérculos de papa (Solanum tuberosum). Lawrence (1980) menciona al cacao (Theobroma cacao L.) como hospedero de P. capsici.

2.2.2. Etiología

P. capsici fue descrito por primera vez en Nuevo México por Leonian (1922), quien probó su patogenicidad mediante inoculaciones en plantas de C. annuum. El hongo pertenece a la clase de los Ficomycetos y al orden Peronosporales

(Becerra, 1975). Posee esporangióforos ramificados (Leonian, 1922), esporangios generalmente ovoides (Leonian, 1922; Fernández, 1983), alimonados (Tompkins y Tucker, 1941; Alfaro y Vegh, 1971), que en cultivo varían a formas elipsoidal elongado, sub-esférico, o irregularmente elongado (Leonian, 1922). Los esporangios son pedicelados (Fernández, 1983), con papila apical muy prominente (Leonian, 1922; Satour y Butler, 1968; Alfaro y Vegh, 1971; Fernández, 1983), presentando a veces dos o tres papilas lo que cambia la forma de los esporangios (Leonian, 1922; Satour y Butler, 1968; Alfaro y Vegh, 1971). El tamaño promedio de los esporangios varía entre 16-36x37-85 μ (Satour y Butler, 1968; Fernández, 1983), lo cual, según Tompkins y Tucker (1937) depende de la temperatura. El anteridio es basal y anfígeno (Tompkins y Tucker, 1949; Fernández, 1983), no forma clamidosporas (Leonian, 1922; Tompkins y Tucker, 1937; Malaguti y Pontis, 1950).

La apariencia de las colonias varía de acuerdo con el medio de cultivo. En papa-dextrosa-agar son blancas, superficiales, poco densas, vellosas, de contorno circular o débilmente lobulado, pudiendo presentar zonas concéntricas (Alfaro y Vegh, 1971; Fernández, 1983). En papa-glucosa-agar el micelio es denso (Malaguti y Pontis, 1950). En agar-harina de avena el crecimiento es algodonoso (Tompkins y Tucker, 1937). Igual apariencia presenta en medio de jugo 1/2-8 (Fernández, 1983). Al microscopio las hifas son continuas, de pared delgada, incoloras, de contorno regular que se

angosta hacia la zona subterminal presentando a menudo estrangulamientos a nivel de las ramificaciones. Su diámetro varía entre 3,0 y 9,5 μ . El micelio intramatricial presenta ramificaciones vesiculares, esféricas u ovoides de 4,0 a 10,0 μ , las cuales pueden dar lugar a filamentos en cuyo ápice se forma un esporangio (Leonian, 1922). El tipo de micelio también es afectado por el medio de cultivo y varía entre liso y toruloso (Fernández, 1983).

La producción de esporangios está afectada por las condiciones ambientales de crecimiento. Bajo luz continua se producen en mayor cantidad que bajo regímenes de luz alterna con oscuridad o en oscuridad completa (Fawcett y Klotz, 1934; Hendrix, 1967; Lilly citado por Zentmyer y Erwin, 1970; Lawrence, 1980). Gooding y Lucas (1959), estudiando los factores que influyen la formación de esporangios en *P. parasitica*, encontraron que la mayor producción de esporangios ocurrió cuando los platos con el cultivo fueron humedecidos con una solución 0,01 M de KNO_3 . La producción mínima ocurrió cuando el cultivo fue humedecido con agua destilada y bidestilada y una producción intermedia con agua de tubo y agua de tubo concentrada 10 veces. En el mismo experimento se evaluó el efecto de ocho diferentes temperaturas que variaron entre 8 y 36°C con intervalos de 4°C. Encontraron que a menos de 12°C y más de 32°C el hongo perdió la capacidad de esporulación. La temperatura óptima varió entre 20 y 24°C. Hendrix (1967) determinó que los esteroides son indispensables para la producción de

esporangios. El principal factor limitante para su producción es el oxígeno atmosférico (Leonian, 1925; Gooding y Lucas, 1959). En medios líquidos se producen más esporangios y estos producen más zoosporas que en medios sólidos. Smoot y colaboradores y Gallegly y Galindo, citados por Romero y Erwin (1969), fueron los primeros en informar acerca de tipos de compatibilidad A¹ y A² en el género Phytophthora. Estudios por Satour y Butler (1968) y Savage y colaboradores (1968), clasifican a P. capsici como una especie heterotálica con los tipos de compatibilidad mencionados. En esos estudios también se observaron aislamientos homotálicos que producen oosporas a los 3-5 meses pero en poca cantidad y en áreas cercanas al punto de inoculación.

2.2.3. Variación dentro de la especie

Por tener el género Phytophthora la capacidad de reproducción sexual, la posibilidad de recombinación permite la aparición de variantes genéticas. Este mecanismo sexual podría ser responsable del rearrreglo de genes para patogenicidad (Zentmyer y Erwin, 1970).

Satour y Butler (1968), trabajando con P. capsici y Romero y Erwin (1969), con P. infestans encontraron que cultivos monospóricos provenientes de cruces con cultivos apareados, difirieron de los padres en apariencia de colonias, tasa de crecimiento, morfología, tipo y color de micelio, tamaño y forma de esporangios y habilidad para

producir esporangios. Estudios de patogenicidad de P. capsici sobre plántulas de chile y tomate también mostraron variación entre cultivos monospóricos (Satour y Butler, 1968). En relación con esto Polach y Webster (1972), concluyeron que la habilidad de P. capsici para afectar determinado hospedero está condicionado por genes específicos en cada aislamiento.

Inicialmente, Leonian (1922) describió a P. capsici basado solamente en la patogenicidad del hongo sobre Capsicum sp. Sin embargo varios autores, citados por Polach y Webster (1972), indican su patogenicidad en tomate, berenjena, pepino, melón, calabaza y sandía.

Los mismos autores (Polach y Webster, 1972), usando esas especies indicadas como susceptibles, estudiaron su reacción a 23 aislamientos de P. capsici procedentes de varios países y determinaron 14 razas fisiológicas del hongo. En estas pruebas, las condiciones de evaluación son importantes ya que determinan la acción del patógeno. Keeling (1985), utilizando plantas diferenciales previamente definidas y razas identificadas de P. megasperma al evaluar el efecto de la temperatura en la patogenicidad, encontró que las plantas diferenciales resistentes fueron susceptibles a temperaturas altas (28°C) que son óptimas para el desarrollo del patógeno y los cultivares susceptibles no lo fueron completamente a 21°C. Inoculaciones a 24°C dieron las respuestas esperadas, por lo tanto se determinó que esa es la temperatura necesaria para separación de razas de P. megasperma.

2.3. Epidemiología

El desarrollo de la enfermedad causada por P. capsici depende de la cantidad de inóculo presente y de las condiciones ambientales (Mora, 1977). En época seca, tiempo soleado y con irrigación por surcos que provoquen nivel freático alto, las condiciones son favorables para la producción de esporangios y la consecuente invasión de las plantas (Tompkins y Tucker, 1941; Kimble y Grogan, 1960; Fernández, 1983; Ferreyra, Tosso y Fernández, 1984). Tompkins y Tucker (1937) observaron que en campos con riegos frecuentes y mal drenados, las áreas libres de encharcamiento no fueron afectadas.

Según Tompkins y Tucker (1937) y Alfaro y Vegh (1971), el hongo puede sobrevivir como saprófito, volviéndose parasítico sólo en presencia de hospederos susceptibles. También sobrevive en tejidos infectados en descomposición lenta o en forma de estructuras de resistencia en el suelo (Zentmyer y Erwin, 1970). Legge, citado Zentmeyer y Erwin (1970), demostró la supervivencia de varias especies de Phytophthora en el suelo, en forma de oosporas y esporangios.

La germinación bimodal de los esporangios como zoosporas o como hifas capacita a los miembros del género para adaptarse a cambios en el ambiente. La germinación de esporangios en forma indirecta por zoosporas ocurre sólo en presencia de agua libre. La germinación directa es estimulada por altas temperaturas. La edad del esporangio

también influencia el modo de germinación. Esporangios jóvenes comúnmente producen más fácilmente zoosporas que los viejos (Zentmyer y Erwin, 1970).

El factor más importante para el desarrollo de la enfermedad en cultivo bajo riego, es la humedad en la zona cercana a la base del tallo. La producción de esporangios en tejidos infectados ocurre cuando el suelo tiene contenidos de humedad que varían entre capacidad de campo y saturación (Ferreyra, Tosso y Fernández, 1984). La enfermedad se presenta en mayor grado en zonas regadas con agua de ríos, no ocurriendo en cambio en las regadas con agua de pozo (Alfaro y Vegh, 1971). El riego puede diseminar las zoosporas y se considera uno de los principales vehículos de transporte (Becerra, 1975). Según Malaguti y Pontis (1950), en zonas con temperaturas altas (24-27°C) con gran cantidad de lluvia y humedad relativa superior a 70 % la manifestación de la enfermedad tiende a ser aérea. En áreas dedicadas al cultivo del chile en Costa Rica, a pesar de existir esas condiciones, la enfermedad afecta la base del tallo (observaciones del autor).

Tanto el agua de lluvia, como el salpique y el viento son responsables de la diseminación del patógeno del suelo a la parte aérea (Becerra, 1975; Mora, 1977). Godoy, citado por Mora (1977), indica que la transmisión también puede ocurrir por insectos.

Becerra (1975), en una evaluación de control cultural y químico de la enfermedad, encontró correlaciones directas

entre mortalidad de plantas y lluvia acumulada, brillo solar, humedad relativa acumulada y temperaturas máximas.

2.4. Medidas de combate

2.4.1. Combate por prácticas culturales

Entre las medidas de control cultural están las siguientes:

-Destrucción de fuentes potenciales de inóculo como restos de cosecha (Hooker, 1980).

-Trasplante en el centro de surcus de 1,0 a 1,2 m de ancho y abovedados en cultivo bajo riego. Se ha demostrado que tal práctica disminuye en más del 71 % las pérdidas por la enfermedad (Malaguti y Pontis, 1950).

-Aumento de la altura de lomillo. Becerra (1975), evaluando diferentes alturas de lomillo (20, 30 y 40 cm), encontró que al aumentar la altura, el porcentaje de incidencia disminuyó inicialmente, estabilizándose posteriormente la respuesta para 30 y 40 cm.

-Rotación de cultivos. Malaguti y Pontis (1950) recomiendan tal práctica e indican que se ha demostrado que el hongo es capaz de sobrevivir cerca de dos años en ausencia del hospedero.

-Manejo adecuado del agua de riego. Evitar condiciones de humedad favorables al desarrollo del hongo, es de fundamental importancia para reducir la incidencia de la enfermedad. (Ferreyra, Tosso y Fernández, 1984). Cook y Papendick,

citados por estos autores, señalan que el manejo del agua en el suelo puede suministrar por sí solo o en combinación con otras medidas, un control sobre la enfermedad.

Entre las medidas mencionadas por varios autores, citados por Becerra (1975), para lograr un manejo apropiado del agua están: i) Evitar que el agua humedezca hasta el nivel del suelo en el sitio donde está la planta; ii) Variar la altura de lomillos y la distancia entre surcos. La combinación óptima dependerá de la textura del suelo; iii) Nivelar bien el terreno para evitar encharcamiento o confeccionar un buen sistema de drenaje; iv) Reducir la longitud de los surcos de riego hasta 12-14 metros máximo para que el agua se distribuya uniformemente y se acumule poca al final del surco.

Ferreyra, Tosso y Fernández (1984), al evaluar tratamientos de método de riego, altura de agua y frecuencia de riego, encontraron que los tratamientos de riego en los cuales las plantas tuvieron los tallos en algún momento en contacto con el agua, presentaron mayor porcentaje de muerte. En altura de agua observaron que la aplicación de una cantidad de agua mayor a la requerida por el cultivo aumentó el número de plantas muertas por el hongo. La menor frecuencia de riego provocó más muerte y se explica porque en ese tratamiento la cantidad de agua por riego fue mayor y se mojó hasta la superficie del suelo.

2.2. Combate por resistencia

La siembra de cultivares resistentes es uno de los métodos más eficaces y económicos para controlar enfermedades (Hora, 1977). Según Heredia y Galindo (1971), es la forma más factible para solucionar el problema porque ningún otro método ha resultado efectivo. La búsqueda de resistencia es más efectiva en poblaciones con alta variabilidad genética. En el Chile, la resistencia a P. capsici está gobernada por pocos genes. Smith y colaboradores (1967), indican que la resistencia se hereda en forma dominante y que parece estar gobernada por dos genes distintos, dominantes, que actúan en forma independiente y sin efecto aditivo. Heredia y Galindo (1971), determinaron que la resistencia es heredada en forma dominante y controlada por un gene. Por su parte Barksdale, Papavizas y Johnston (1984) indican que existe sólo un gene dominante pero también genes modificadores o de dominancia irregular bajo condiciones ambientales variables. Saini y Sharma (1978), indican que la resistencia está gobernada por un gene dominante. A pesar de que los cuatro grupos trabajaron con materiales clasificados como C. annuum, los resultados fueron variables y eso puede deberse a la gran variabilidad del género como consecuencia de limitaciones en características de clasificación y ausencia de barreras marcadas para la hibridación entre ciertas especies (Manual de, 1983).

La resistencia parece asociarse con sustancias inhibitoras. Ward y Stoessl (1972) aislaron capsidiol y encontraron que inhibe la germinación de esporas.

Mora (1977) evaluó 69 cultivares de diferentes procedencias, de las cuales tres (Malayo, Tabasco y Línea México 29) fueron resistentes. El mismo autor indica que cuando el grado de resistencia no es alto pero las características agronómicas restantes son buenas, la combinación de control químico y cultural es recomendable.

Saini y Sharma (1978) cruzaron un tipo pequeño y picante de chile resistente a *P. capsici* (cv Waxy Globe), con cinco cultivares comerciales de chiles susceptibles (los seis materiales clasificados como *C. annuum*). Después de tres retrocruzas con el cv California Wonder las líneas obtenidas combinaron el gene de resistencia del cv Waxy Globe con el tamaño grande de fruto y bajo contenido de capsicina del cv California Wonder.

2.4.3. Combate químico

El combate químico puede hacerse en la semilla, el semillero y en el campo definitivo (Becerra, 1975). En zonas donde la enfermedad es endémica es necesario desinfestar el terreno usado para semillero (Malaguti y Pontis, 1950). En plántulas enfermas en el semillero se han tenido buenos resultados con aspersiones de caldo bordelés al 0,5 %. Trotter, citado por Malaguti y Pontis (1950), recomienda

Desinfestar las plantas al momento del trasplante con una solución de sulfato de cobre al 0,5 %.

Barksdale, Papavizas y Johnston (1984) señalan que en Estados Unidos no existen fungicidas registrados para controlar la fase foliar en esta enfermedad. Papavizas y Bowers (1981), al evaluar Captafol y Metalaxyl[®], encontraron que el primero actúa mejor como inhibidor de la liberación de zoosporas de los esporangios, deteniendo la motilidad de zoosporas e inhibiendo la germinación de esporangios y zoosporas, mientras que Metalaxyl es más efectivo inhibiendo la producción de esporangios y oosporas; por lo tanto, Captafol es más efectivo en superficies foliares (cuyo daño se inicia por germinación de zoosporas y esporangios) y Metalaxyl contra la pudrición de la base que puede ser originada por oosporas sobrevivientes del ciclo anterior.

Experimentos realizados por Alfaro y Vegh (1971), indican que los mejores resultados se obtienen con Captafol y Maneb aplicados en la base del tallo. Captafol y Nabam fueron efectivos en aplicaciones con el agua de riego.

El Ministerio de Agricultura de Costa Rica recomienda aplicaciones de Captafol cada 15-22 días a la base de las plantas en dosis de 1,0-2,0 kg/200 l de agua (Manual de, 1983).

* La mención de cualquier producto no implica su recomendación.

2.4.4. Otras medidas de combate

El uso de control biológico para reducir poblaciones de Phytophthora se considera una buena opción, sin embargo los intentos para encontrar microorganismos antagonistas en el campo no han sido exitosos (Barksdale, Papavizas y Johnston, 1984).

Ko y Nishijima (1985) colectaron suelos "conducentes" y "supresivos" para P. capsici en Hawaii y los sometieron a varias pruebas para determinar la naturaleza de la supresión en los segundos. Encontraron que aparentemente la naturaleza supresiva es por acción fungitóxica sobre los esporangios del hongo y que enmiendas de nutrimentos no modifican la acción de los suelos sobre la germinación de los esporangios. Ajustes de pH en ambos suelos mostraron que la inhibición puede estar asociada a suelos ácidos. Por esterilización en autoclave demostraron que organismos vivos no son responsables de la supresión. Utilizando peróxido de hidrógeno y calentamiento a 500°C por 16 horas encontraron que el factor inhibitorio es inorgánico y muy estable. Colocando esporangios sobre una membrana de policarbonato (nuclepore), determinaron que el factor inhibitorio no es difusible.

2.5. Métodos para evaluar la resistencia genética

2.5.1. Con incidencia natural

Al hacer evaluaciones en campo, con incidencia natural, la determinación de resistencia se dificulta cuando la incidencia de la enfermedad es baja (Blencowe, citado por Lawrence, 1980).

2.5.2. Inoculación artificial

Las pruebas con inoculación artificial son útiles no sólo por la evaluación rápida de materiales, sino también como un complemento de las evaluaciones de incidencia natural en el campo (Lawrence, 1980).

En trabajos realizados para el mejoramiento de la resistencia del chile y en evaluaciones de esa resistencia en colecciones, se han utilizado diversos métodos de inoculación.

Romero (1963) indica resultados satisfactorios al inocular en el campo con una aspersion de 5.000 zoosporas/ml (zoo/ml) que se obtuvieron colocando esporangios en agua destilada a 14-16°C, los que provenían de un cultivo del hongo en medio de jugo de V-8. Heredia y Galindo (1971), también utilizando medio de cultivo de jugo de V-8, colocaron cilindros del medio en agua destilada para inducir formación de esporangios. Posteriormente los cilindros se sumergieron en agua para inducir liberación de zoosporas, obteniéndose una suspensión de 5.000 zoo/ml que fue aplicada en varios

puntos del área de siembra, inundándose inmediatamente para lograr una distribución uniforme. Utilizando la misma metodología, Bolkan (1985) inoculó plántulas de tomate con suspensiones de P. capsici de 1.000 y 3.000 zoo/ml. Romero y Erwin (1969) inocularon cultivares de papa con una suspensión de zoosporas de P. infestans absorbidas en trozos de algodón. Los trozos se pusieron sobre hojas desprendidas de la planta colocadas en cajas de Petri conteniendo papel filtro humedecido. Lawrence (1980), al evaluar agresividad de P. capsici, P. palmivora y P. citrophthora sobre mazorcas de cacao, inoculó sin heridas, depositando gotas de 0,03 ml de una suspensión de 200.000 zoo/ml. Satour y Butler (1968), al estudiar progenies de cruzamientos de cepas de P. capsici, inocularon plántulas de tomate y chile con una suspensión de zoosporas o fragmentos de micelio. Vartanian y Endo (1985), al determinar hospederos alternos y razas de P. infestans, inocularon plantas con aspersiones de una suspensión de 10.000 esporangios/ml (esp/ml). Además inocularon hojas desprendidas de la planta y segmentos de tallos con gotas de la misma suspensión, colocándolos en platos de Petri que sirvieron como cámara húmeda. Barksdale, Papavizas y Johnston (1984), al evaluar plantas de chile por su resistencia a la fase foliar de la enfermedad, inocularon plantas de 15-20 cm con una suspensión de 2.000 esp/ml. Weber (1932), al identificar aislamientos de Phytophthora, inoculó plantas en invernadero con una suspensión de esporangios. En el mismo trabajo, se inocularon plantas de

chile en invernadero con trozos de agar con micelio sobre heridas previas. Malaguti y Pontis (1950) inocularon plantitas de chile y frutos con trozos de agar con hongo, colocándolos sobre raíces y cubriéndolos con un algodón humedecido. Tompkins y Tucker (1937) inocularon P. capsici sobre frutos de melón, utilizando la misma técnica.

Brinsmead y Rettke (1985), al inocular garbanzo con P. megasperma para evaluar resistencia, utilizaron micelio en diferentes cantidades. Polach y Webster (1972) utilizaron una mezcla licuada del hongo con agua destilada la cual fue pipeteada en macetas que contenían plantas de chile en la etapa de 2 a 4 hojas. Kimble y Grogan (1960) inocularon vertiendo 25 ml de una suspensión micelial en un surco abierto entre las hileras de plántulas de chile en invernadero.

En inoculaciones artificiales, tanto el nivel de inóculo, como el periodo de exposición, tienen un marcado efecto sobre la expresión de resistencia (Brinsmead y Rettke, 1985). Bolkan (1985), al desarrollar una metodología para evaluar resistencia a pudrición radical en tomate causada por P. capsici, observó que la diferenciación no fue exitosa por tener resultados inconsistentes cuando se hicieron lecturas 3 días después de la inoculación, pero tuvo éxito cuando las lecturas se realizaron 7 días después del tratamiento. Diez días después de la inoculación, un alto porcentaje de genotipos resistentes mostraron síntomas de pudrición radical. Esto posiblemente se debió a una infección

secundaria ocasionada por nueva producción de esporangios y zoosporas. Según Barksdale, Papavizas y Johnston (1984), un nivel muy alto de inóculo de *P. capsici* o prolongados periodos de incubación pueden romper la resistencia en plantas. En inoculaciones artificiales la patogenicidad puede ser mayor que en el campo bajo condiciones naturales (Vartanian y Endo, 1985). Estos autores encontraron que no existen diferencias entre inoculaciones en plantas completas y en órganos separados de la planta (hojas y trozos de tallo).

En experimentos sobre la patogenicidad de organismos no sólo es deseable conocer su efecto particular, sino también su efecto en combinación con otros organismos (Stakman y Harrar 1957). Infecciones mezcladas pueden a veces ser más destructivas que las causadas por un organismo solo. Sin embargo, también puede ocurrir lo contrario en el caso de antibiosis (Stakman y Harrar, 1957). En relación con esto Horsfall y Dimond (1973) indicaron que un patógeno puede ayudar a otro en su infección sobre el hospedero proporcionando sustancias necesarias para éste. En otros casos uno puede tomar parte en la destrucción de tejidos ayudando así al ataque de otro patógeno.

2.5.3. Cuantificación de la resistencia genética

Smith y colaboradores (1967), Heredia y Galindo (1971), Saini y Sharma (1978) y Barksdale, Papavizas y Johnston (1984), al estudiar la herencia de la resistencia, la

midieron como la relación entre plantas inoculadas-plantas resistentes. Kimble y Grogan (1960), al determinar la resistencia de 613 materiales de chile compatibles con C. annuum, cuantificaron la resistencia en términos de incidencia a intervalos de 5 días. Mora (1977), al evaluar resistencia de cultivares de chile, midió la resistencia en términos de incidencia a los 2 meses después de la inoculación y al final del ciclo del cultivo.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización

La determinación preliminar y caracterización de razas de P. capsici se realizó en el laboratorio del Proyecto Manejo Integrado de Plagas (MIP), ubicado en el Departamento de Producción Vegetal del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE.

Las variedades y líneas de chile se evaluaron inicialmente en el campo, en la estación experimental "La Montaña" del CATIE y luego parte de ellas también se evaluaron por su resistencia a P. capsici en condiciones de invernadero.

El CATIE se encuentra ubicado en el cantón de Turrialba, Costa Rica, a 602 m.s.n.m. con 9° 53' latitud Norte y 83° 38' longitud Oeste. La precipitación media es de 2.632 mm (promedio de 38 años); la temperatura media máxima es 27,0°C y la media mínima 17,8°C (promedio de 19 años) y la humedad relativa media de 87,6 % (promedio de 19 años). Durante el periodo experimental en el campo los valores medios de temperatura y humedad fueron 23,3°C y 88,0 %, respectivamente (Figura 1).

3.2. Material experimental

Los materiales usados para los experimentos fueron los siguientes:

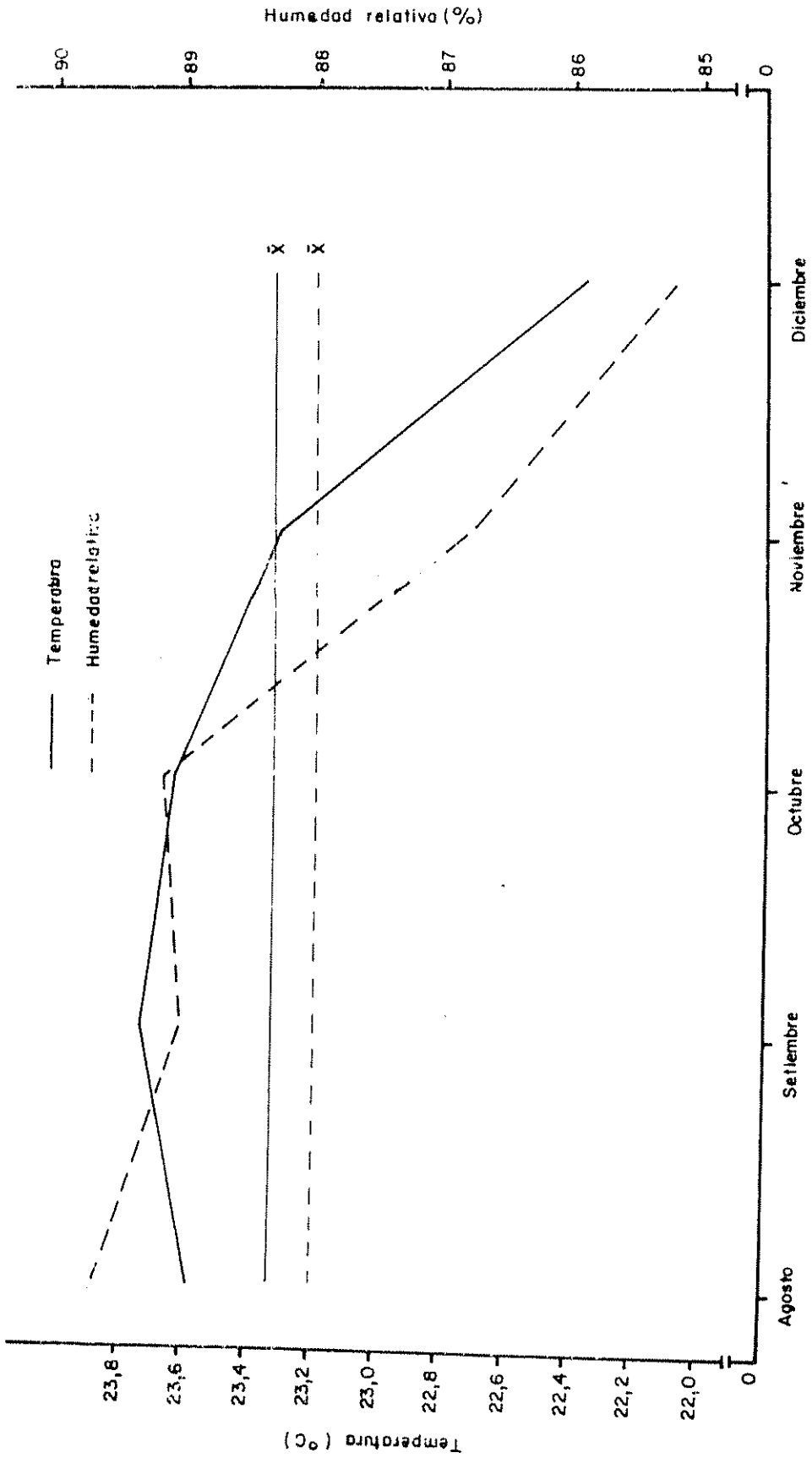


Fig. 1 Promedios mensuales de temperatura y humedad relativa para el periodo de estudio en el campo. Agosto - Diciembre 1986. La Montaña, CATIE

Cuadro 1. Introducciones de chile evaluadas en el campo por su resistencia a P. capsici y P. solanacearum.

Numero	Identificación ^a	Origen	Fecha de colección
1.....	7257.....	Panamá.....	1977 ^b
2.....	9137.....	México.....	1978
3.....	9168.....	México.....	1978
4.....	9177.....	México.....	1978
5.....	9781.....	-----	1979 ^b
6.....	10871.....	Honduras.....	1980 ^b
7.....	11795.....	Honduras.....	1980 ^b
8.....	15661.....	Guatemala.....	1983 ^b
9.....	16464.....	Brasil.....	1985
10.....	11708.....	-----	---- ^b
11.....	12903.....	-----	----
12.....	14388.....	-----	----
13.....	17245.....	Panamá.....	1986
14.....	17246.....	Panamá.....	1986
15.....	17247.....	Panamá.....	1986
16.....	17248.....	Panamá.....	1986
17.....	-----	Costa Rica.....	1986...Test.

^a Corresponde al número de introducción en el Banco de Germoplasma de la Unidad de Recursos Fitogenéticos, CATIE, Turrialba, Costa Rica.

^b Materiales picantes.

Siete especies de plantas diferenciales para la determinación de razas: chile (C. annuum) cv Mil Frutos, tomate (L. esculentum) cv Dina, berenjena (S. melongena) cv Black Beauty, ayote (C. maxima), sandía (C. vulgaris) cv Charleston Gray, melón (C. melo) cv Honey Dew y pepino (C. sativus) cv Poinsett.

- Diez y siete cultivares y líneas de chile procedentes de Panamá, México, Honduras, Guatemala, Brasil y Costa Rica (Cuadro 1)

3.3. Metodología

3.3.1. Aislamientos de P. capsici

Para lograr los aislamientos, tallos de plantas enfermas se lavaron en agua corriente por 3 horas. Luego se sumergieron en alcohol al 70% por 10 segundos y se pasaron a agua destilada estéril. Con un bisturí esterilizado a la llama, se hicieron cortes para eliminar la capa superficial de la corteza. En seguida se tomaron trozos de tejido situado en el límite entre el tejido sano y enfermo, los cuales fueron colocados sobre medio de agar-agua (AA) (15 g agar/1.000 ml agua) (French y Hebert 1985) para eliminar bacterias contaminantes. Posteriormente el hongo fue transferido a medio de cultivo de jugo de V-8 (200 ml jugo V-8, Campbell's Soup Company, 2,5 g CaCO₃, 15 g agar y 800 ml agua destilada, autoclavado a 121 °C por 15 minutos).

Los aislamientos se identificaron induciendo la formación de esporangios por el método descrito a continuación.

3.3.2. Determinación preliminar de razas de *P. capsici*

3.3.2.1. Procedimiento

La inoculación, tanto de plantas como hojas, se realizó con zoosporas, las cuales se obtuvieron de la forma siguiente: con un sacabocados de 1,0 cm de diámetro se cortaron discos del medio de cultivo colonizado por el hongo de 10 días de edad; los espacios dejados por los discos se llenaron con agua destilada humedeciendo a la vez el resto del medio de cultivo (10 ml/plato de Petri). En esas condiciones, después de 4 a 6 días, se observaron esporangios abundantes. Para inducir la liberación de las zoosporas, luego de eliminar el agua de los platos, se aplicaron 20 ml/plato de agua destilada enfriada a una temperatura aproximada de 10°C. Se colocaron los platos en un refrigerador a 4°C durante 20 minutos y a continuación se pasaron a oscuridad y temperatura ambiente por 20 minutos (Lawrence 1978). La suspensión utilizada en la inoculación se ajustó a 5.000 zoo/ml por conteo en hematocímetro y dilución. En el caso de inoculación de plantas se aplicaron 2 ml por planta y en hojas una gota por hoja en el haz. La lectura para determinación de razas se hizo a los 8 días después de la inoculación en plantas y a los 4 días en hojas.

3.3.2.2. Tratamientos

Cada uno de los aislamientos provenientes de la zona baja de Cartago (Guayabo de Turrialba y campos del CATIE) se inocularon en 5 plantas con alturas entre 15 y 20 cm, en cada una de las 7 especies diferenciales. Luego de la inoculación, el suelo de las macetas se regó al pie de las plantas con intervalos de 2 días.

Para evitar la diseminación de potenciales razas diferentes a las existentes en Turrialba, los demás aislamientos fueron inoculados, junto con los de la zona baja de Cartago, en hojas desprendidas de las plantas de las mismas especies diferenciales, colocadas en cajas de Petri en el laboratorio. Las hojas fueron separadas de las plantas al final de la tarde para permitir la acumulación de carbohidratos antes de realizar el corte.

3.3.2.3. Descripción de la unidad experimental

Los hospederos diferenciales se sembraron en macetas plásticas de 25x15 cm. El suelo usado se esterilizó en autoclave a 8,4 kg/cm² de presión y 121°C durante 45 minutos y se preparó con dos partes de suelo y una de aserrín completamente degradado. Los análisis químico y físico de tal suelo se presentan en los cuadros 2 y 3.

Cuadro 2. Análisis químico del suelo usado en pruebas de invernadero. CATIE, 1986.

pH	M.O. (%)	N (%)	P Mg/ml	K Meq/100 ml	Ca	Mg	Acid	Cu	Zn Mg/ml	Mn	CTI
5,3	9,58	0,34	4,9	0,51	6,6	1,9	0,35	13,0	3,0	5,0	31,8

Los análisis fueron hechos en el Laboratorio de suelos del CATIE.

Cuadro 3. Análisis físico del suelo usado en pruebas de invernadero. CATIE, 1986.

Arena %	Limo %	Arcilla %	Textura
32,0	30,0	38,0	Franco arcilloso

Los análisis fueron hechos en el Laboratorio de Suelos del CATIE.

Las hojas a inocular fueron colocadas en cajas de Petri con papel filtro humedecido, que actuaron como cámaras húmedas. Para evitar el contacto directo de las hojas con el papel humedecido, se utilizó como base, dos portaobjetos en cruz.

Tanto el experimento de invernadero como la evaluación en cajas de Petri se hicieron sin diseño y la variable

evaluada fue la patogenicidad de los aislamientos sobre los hospederos. Las especies diferenciales se consideraron hospedantes si al menos una planta fue susceptible al momento de la evaluación final.

3.3.3. Caracterización in vitro de las razas de *P. capsici*

3.3.3.1. Procedimiento

a) Crecimiento de colonias

Las razas fisiológicas determinadas se hicieron crecer en dos medios de cultivo y tres temperaturas dentro de platos de Petri colocados en incubadora. Para lograr un crecimiento característico de cada raza antes de iniciar las mediciones de crecimiento, se sembraron las razas en medio de cultivo AA; de allí se cortaron trozos de 0,6 cm de diámetro y se sembraron en los medios de cultivo y temperaturas a evaluar. Al notar un crecimiento definitivo, se transfirieron a platos nuevos cada uno de los tratamientos, utilizando trozos de 0,6 cm de diámetro de los medios de cultivo con el hongo. A las 48 horas de la siembra, se iniciaron las lecturas de crecimiento las cuales se realizaron diariamente a la misma hora y sobre diámetros medidos en la misma posición sobre las colonias.

b) Producción de esporangios

En cada tratamiento utilizado para medir el crecimiento de colonias, al tocar el micelio el borde del plato de Petri sobre cualquiera de los diámetros, se cortaron 3 discos de agar de 0,6 cm de diámetro y $0,28 \text{ cm}^2$ de área (sobre los

diámetros medidos) y el espacio dejado por los discos, se llenó con agua destilada, humedeciendo a la vez toda la superficie de la colonia (7 ml/plato). Este tratamiento indujo la formación de esporangios. Doce horas después de la inducción se fijó la cantidad de esporangios producidos hasta ese momento en uno de los espacios, aplicando para ello una gota de lactofenol-azul de algodón. Esta fijación se hizo cada 12 horas para los dos agujeros restantes y finalmente se procedió a hacer los conteos de esporangios por cada período. Dichos conteos se realizaron en microscopio compuesto con un aumento de 100X. Los tratamientos se evaluaron para crecimiento de colonias, en condiciones de oscuridad constante. Al momento de inducir esporulación los platos se colocaron en condiciones de luz normales (12 horas de luz y 12 de oscuridad).

3.3.3.2. Tratamientos

Se obtuvieron por la combinación de los siguientes factores:

- 2 medios de cultivo: papa-dextrosa-agar (Difco 0013-01-4) y medio de jugo de V-8
- 3 temperaturas: 18, 24 y 30°C
- 15 aislamientos del hongo que representaron 11 razas. Se incluyeron 3 aislamientos para las razas 1 y 2 ya que en dichas razas se ubicaron aislamientos provenientes de climas contrastantes y se deseaba conocer si diferían en su comportamiento.

3.3.3. Diseño Experimental

Se usó un diseño en arreglo factorial con distribución completamente al azar (2 repeticiones y 90 tratamientos). La unidad experimental consistió en un plato de Petri desechable de 100x15 mm (FISHER brand). Los medios de cultivo se usaron en volúmenes constantes (15 ml/plato) utilizando para ello una jeringa de resorte esterilizada en autoclave por 20 minutos.

Las variables evaluadas fueron tasa de crecimiento de colonias y producción de esporangios para cada aislamiento. Se hicieron análisis de varianza para tasa de crecimiento radial de colonias para cada temperatura y para regresiones de incremento en producción de esporangios y pruebas de medias de Duncan para esas variables.

3.4. Identificación de materiales resistentes a *P. capsici*

3.4.1. Aislamiento de *P. solanacearum*

Para realizar los aislamientos, trozos de aproximadamente 5,0 cm de longitud de la base del tallo de plantas enfermas fueron cortados longitudinalmente con bisturí esterilizado a la llama. Luego se extrajeron astillas de aproximadamente 1,5 cm de la zona de vasos conductores y se colocaron en 10 ml de agua destilada estéril dentro de tubos de ensayo. Con la suspensión de bacterias producida, se hicieron diluciones sucesivas así: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , y 10^{-6} . Las últimas tres

diluciones (0,1 ml/plato) se rayaron con asa esterilizada a la llama, sobre el medio desarrollado por Granada y Sequeira (1983) modificado (0,025 g cristal violeta, 0,025 g cloruro de tetrazolium, 5,0 g glucosa, 10,0 g peptona, 1,0 g caseína, 0,1 g clorotalonil--75 g/kg de i.a.--, 20,0 g agar y 950,0 ml agua). Las colonias identificadas como P. solanacearum se transfirieron a medio agar nutrimento (AN) (Difco 0001-01) para su multiplicación y uso en las inoculaciones. Aplicando agua destilada estéril y frotando con un asa se desprendieron las masas bacteriales del medio de cultivo quedando en suspensión. Dicha suspensión fue ajustada para hacer las inoculaciones a aproximadamente 10^7 unidades celulares bacteriales/ml (ucb/ml) utilizando un espectrofotómetro.

3.4.2. Pruebas en el campo

3.4.2.1. Procedimiento

Plantas de cuatro meses de edad (mes y medio después del trasplante al campo definitivo) fueron inoculadas con ambos patógenos. En la prueba se incluyó P. solanacearum para estudiar su efecto sobre el comportamiento de la infección de P. capsici. Para poder hacer comparaciones también se incluyó un tratamiento de inoculación de sólo P. solanacearum. P. capsici (Cepa GSR-147) se inoculó en la base del tallo con una suspensión a dos concentraciones: 5×10^8 y 8×10^4 zoo/ml (en adelante, nivel 1 y nivel 2 de inóculo). Para ambos niveles, el volumen aplicado fue 20

el/planta. P. solanacearum se inoculó con una suspensión de aproximadamente 10^7 ucb/ml usando la técnica de punción en el tallo a través de una gota de la suspensión y sobre la axila de la tercera hoja. La suspensión se preparó con una mezcla de los seis aislamientos provenientes de Chile, tomate y Melampodium. Ambas suspensiones se prepararon con los métodos descritos anteriormente.

Las lecturas de incidencia se hicieron semanalmente para P. capsici y quincenalmente para P. solanacearum. Se consideró muerta cualquier planta que presentara marchitez irreversible, observando síntomas del patógeno inoculado. En algunos casos dudosos las plantas se llevaron al laboratorio para realizar aislamientos.

3.4.2.2. Tratamientos

Los 17 materiales de Chile evaluados por su resistencia constituyeron las subparcelas y los 4 tipos de inóculo (P. capsici nivel 1, P. capsici nivel 2, P. capsici nivel 2 + P. solanacearum y P. solanacearum) las parcelas principales.

3.4.2.3. Descripción de la unidad experimental

La unidad experimental fue un surco de 4,0 m de largo (5 plantas) incluyendo 1,0 m de borde en ambos extremos de la parcela. Los surcos (subparcela) se espaciaron a 1,2 m y la distancia entre plantas fue de 0,5 m (3,0 m²/unidad experimental).

3.4.2.4. Diseño experimental

Se utilizó un diseño en parcelas divididas con distribución en bloques al azar.

3.4.2.5. Manejo del experimento

Las labores realizadas en el campo fueron las siguientes:

- Preparación del suelo: Se realizó con dos pasadas de rastra y posteriormente se alomó a una distancia de 1,2 m entre lomos y con una altura aproximada de 0,3 m. Un mes después del trasplante se aporcó para cubrir las raíces.

- Control de malezas: Una semana antes del trasplante al campo se cortó la maleza sobre la superficie del suelo y se aplicó glifosato a razón de 2,7 l/ha. Durante la etapa de evaluación (cuatro meses y medio) se efectuaron cuatro limpiezas manuales.

- Manejo de las variedades: Los materiales a evaluar se sembraron en cajas-almácigo previa desinfección de la semilla con captán y del suelo con bromuro de metilo. Veinticinco días después de la siembra se trasplantaron a bolsas de polietileno de 10x8 cm y en suelo también tratado con bromuro de metilo. Cincuenta días después fueron llevados al campo definitivo y trasplantados sin eliminar el suelo adherido al sistema radicular. Durante el período entre siembra y trasplante al campo se hicieron aplicaciones alternas de Captafol-Nútrex-Malathion (2,6 g/l, 2,6 g/l y 1,95 ml/l del producto comercial respectivamente) y

Captafol-Metamidofos (2,6 g/l y 1,95 ml/l del producto comercial).

- Barreras y bordes: En el campo las parcelas principales (tipo de inoculación) fueron rodeadas completamente con barreras de sorgo, para lo cual este se sembró mes y medio antes del trasplante. La finalidad de esta práctica fue minimizar el traslado de inóculo entre parcelas. En las cabeceras de cada parcela principal se sembraron bordes con la variedad testigo.

- Fertilización: Diez días después del trasplante al campo, se aplicó el fertilizante compuesto 10-30-10 en dosis de 793 kg/ha. Dos meses después del trasplante, se hizo una segunda fertilización con 417 kg/ha de 18-5-15-6-2 y 90 kg/ha de 0-46-0. A partir de 20 días después del trasplante se hicieron aplicaciones de fertilizantes foliares (20-20-20+micronutrientes) a razón de 0,5 kg/ha con intervalos de 10-12 días.

- Control de plagas y enfermedades: Una semana después del trasplante se iniciaron aplicaciones con intervalos de 10-12 días de los siguientes agroquímicos: Insecticidas: acefato, foxim, malathion y metomil (1,95 g/l, 1,62 ml/l, 1,95 ml/l y 0,65 g/l de producto comercial respectivamente). Fungicidas: benomil, metalaxyl y captafol (1,3 g/l, 5,2 g/l y 2,6 g/l de producto comercial). Los productos se aplicaron en forma alterna usando metalaxyl y captafol en las parcelas inoculadas solamente con P. solanacearum como tratamiento.

3.4.2.6. Variables evaluadas y análisis

Las variables evaluadas fueron: tasa de mortalidad (t.m.) por tratamiento y altura de planta al momento de la inoculación. La tasa de mortalidad se sometió a análisis de varianza con datos transformados a $\text{arc. sen. } \sqrt{t.m./100}$ y a prueba de medias de Duncan. Además se hizo un análisis de regresión para incidencia de la enfermedad y altura de planta al momento de la inoculación.

3.4.3. Pruebas en el invernadero

3.4.3.1. Procedimiento

Cinco materiales que demostraron algún grado de resistencia en las inoculaciones de campo fueron seleccionados para la prueba en el invernadero. Siguiendo el procedimiento descrito anteriormente (numeral 3.3.2.1), fueron inoculados con una suspensión 5.000 zoo/ml. A la vez se evaluaron dos materiales colectados posteriormente a las pruebas en el campo, que fueron calificados como resistentes por los agricultores donantes y el testigo usado en la evaluación previa.

3.4.3.2. Tratamientos

Se formaron por la combinación de 8 materiales de Chile y 10 cepas de P. capsici que fueron las siguientes: GAV-1, GAV-3, GAV-5, GSM-155, GSM-157, GSM-158, GSR-147, GSR-147-2,

Montaña y CATIE; y los materiales: 7257, 9781, 10871, 14388, 11795, Morado del Tablón, Pico de Loro y Mil Frutos.

3.4.3.3. Descripción de la unidad experimental

Se sembraron cinco plantas por material en macetas plásticas de 25x15 cm sobre suelo esterilizado en autoclave durante 45 minutos. El suelo usado fue el descrito para la determinación de razas de P. capsici (numeral 3.3.2.3).

El experimento se sembró sin diseño y la variable evaluada fue patogenicidad de cada aislamiento ocho días después de haber sido inoculados sobre los materiales probados.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Determinación de razas de P. capsici

4.1.1. Aislamientos de P. capsici

Treinta y cuatro aislamientos provenientes de ochenta y una muestras de Chile con síntomas de marchitamiento y uno proveniente de lesiones de hoja de una planta de Chile picante se identificaron como P. capsici, basados en su patogenicidad sobre Capsicum sp. y ausencia de clamidosporas en medio de cultivo. En las cuarenta y siete muestras restantes se obtuvieron los siguientes organismos: bacterias no identificadas, Fusarium sp., Pythium sp., Rhizoctonia sp. y otros hongos no identificados. En general, organismos diferentes a P. capsici fueron aislados en una etapa del trabajo en la cual la técnica de aislamiento usada no funcionó eficientemente. Posteriormente, haciendo modificaciones a dicha técnica, se logró aislar P. capsici en la mayoría de las muestras procesadas. Las modificaciones realizadas fueron, cambiar el medio de cultivo de PDA a AA, uso de trozos de tejido más pequeños (aproximadamente de 2x1 mm) y con más de la mitad de tejido sano. Alfaro y Vegh (1971) mencionan que en las lesiones de la base del tallo, inicialmente causadas por P. capsici, es más frecuente encontrar estructuras de Fusarium sp., lo cual ha servido durante mucho tiempo para suponer que este género de hongo podría ser el agente causal de la enfermedad. De

allí se deriva la importancia de una adecuada y cuidadosa técnica de aislamiento. Los treinta y cinco aislamientos de P. capsici se colectaron en los siguientes sitios: nueve en la estación experimental Fabio Baudrit de Alajuela, once en la zona alta de la provincia de Cartago (Cervantes, San Isidro, El Tablón, Las Cóncavas, Linda Vista y Tobosi), doce en la zona baja de Cartago (CATIE, Guayabo de Turrialba: Alto de Varas, San Martín y San Ramón), una en Siquirres de Limón y dos en San Carlos de Alajuela (Cuadro 4).

4.1.2. Razas de P. capsici

De diez aislamientos de la zona baja de Cartago, inoculados en invernadero sobre la base de tallos en plantas de siete especies diferenciales, se identificaron seis variantes de acuerdo con su patogenicidad (Cuadro 5). Sin embargo, cuando dichos aislamientos fueron inoculados en laboratorio sobre hojas de las mismas especies diferenciales, su patogenicidad mostró variaciones. Solamente un aislamiento (GAV-1) no sufrió cambios en su patogenicidad (Cuadro 6).

Este comportamiento difiere de los resultados obtenidos por Vartanian y Endo (1985), los cuales indicaron que no hubo diferencias en la respuesta en hojas de plantas completas y en hojas separadas de plantas, de diferentes especies cuando estas fueron inoculadas con P. infestans.

Las variaciones en patogenicidad podrían deberse en este estudio, por un lado, a que en la base del tallo de plantas existieran lesiones tan pequeñas que no fueron

Cuadro 4. Aislamientos de Phytophthora capsici realizados, zona de origen y distribución en los diferentes experimentos.

Zona geográfica					
Cartago zona alta	Alajuela		Cartago zona baja		Siquirres
Cartago 1 a	A-2	a	GAV-1	a,b,c	Siquirres a
CLC-1	A-3		GAV-2	a,b	
CC-1 a	A-126	a	GAV-3	b,c	
CC-2	A-127	a	GAV-4	a	
CT-1 a	A-128	a	GAV-5	a, c	
CT-2 a	A-129	a	GSR-147	a,b,c,d	
CT-3 a	A-132	a	GSR-147-2	b,c	
CT-4	A-133	a	GSM-155	b,c	
CT-6	A-136	a	GSM-157	a,b,c	
CSI a	San Carlos	a	GSM-158	a,b,c	
C. tob. a	San Carlos/	a	CATIE	a,b,c	
			Montaña	a,b,c	

- a Incluido en la determinación de razas inoculando en hojas
 b Incluido en inoculación de la base del tallo de 7 especies diferenciales.
 c Incluido en la inoculación de 8 materiales de Chile en invernadero
 d Aislamiento usado en la inoculación de campo

Cuadro 5. Patogenicidad de *Phytophthora capsici* en siete especies diferenciales después de ocho días de inocular en la base del tallo con diez aislamientos del patógeno.

Aislamiento	Especies diferenciales						
	Tomate	Chile	Ayote	Sandía	Melón	Berenjena	Pepino
GAV-2	+	+	+	+	-	+	+
Gav-3	+	+	+	+	+	+	-
GSM-15B	+	+	+	+	+	-	-
GSR-147	+	+	+	+	+	-	-
GAV-1	+	+	+	+	+	-	-
CATIE *	+	+	+	+	+	-	-
Montaña	+	+	+	+	-	+	-
GSR-147-2	+	+	+	+	-	+	-
GSM-155	+	+	+	+	-	-	+
GSM-157	+	+	+	-	-	-	-

+ patogénico

- no patogénico

* Aislada de lesiones de hojas de chile picante

Cuadro 6. Comparación de la patogenicidad de siete aislamientos de *Phytophthora capsici* inoculados en la base del tallo de plantas (P) y en hojas separadas (H) de siete especies diferenciales.

Aislamiento	Especies diferenciales						
	Ayote	Sandía	Tomate	Pepino	Melón	Berenjena	Chile
CATIE (H)	+	+	+	+	-	-	-
CATIE (P)	+	+	+	-	-	-	+
GAV-2 (H)	+	+	+	-	+	-	+
GAV-2 (P)	+	+	+	-	-	+	+
GAV-1 (H)	+	+	+	-	-	-	+
GAV-1 (P)	+	+	+	-	-	-	+
Montaña (H)	+	+	+	+	+	+	+
Montaña (P)	+	+	+	-	-	+	+
GSM-158 (H)	-	+	+	-	+	-	-
GSM-158 (P)	+	+	+	-	+	-	+
GSM-157 (H)	-	-	-	+	+	-	-
GSM-157 (P)	-	-	+	-	-	-	+
GSR-147 (H)	+	+	+	+	+	+	+
GSR-147 (P)	+	+	+	-	-	-	+

+ patogénico
- no patogénico

observadas al hacer las lecturas y por el otro, a que las alteraciones en el metabolismo de las hojas al ser separadas de la planta, afectarían la respuesta de patogenicidad de los diferentes aislamientos. Además, las diferencias en la temperatura entre la evaluación de invernadero (Figura 2) y la de laboratorio ($18\pm 2^{\circ}\text{C}$) pudieron tener el mismo efecto.

De veintisiete aislamientos inoculados en laboratorio sobre hojas separadas de plantas de las especies diferenciales (ocho de la estación experimental Fabio Baudrit, ocho de la zona alta de Cartago, nueve de la zona baja de Cartago, dos de San Carlos y una de Siquirres), once razas fueron tipificadas de acuerdo con la presencia o ausencia de la enfermedad (Cuadro 7). Tanto entre razas como dentro de razas se observaron variaciones en el avance de las lesiones desarrolladas sobre los hospedantes diferenciales pero las variaciones no fueron tipificadas.

Diez aislamientos fueron patogénicos para todas las especies diferenciales, cuatro de ellas provenientes de Alajuela (Fabio Baudrit), cuatro de la zona alta de Cartago y dos de la zona baja de Cartago. Estos fueron clasificadas como raza 1. Seis aislamientos no fueron patogénicos en pepino pero sí en el resto de diferenciales (dos de Fabio Baudrit, dos de San Carlos, una de Cartago zona alta y una de Siquirres). Este segundo grupo se denominó raza 2. Dos aislamientos fueron no patogénicos en pepino y berenjena y se clasificaron como raza 5. La raza 7 se constituyó con dos aislamientos no patogénicos en pepino, berenjena y

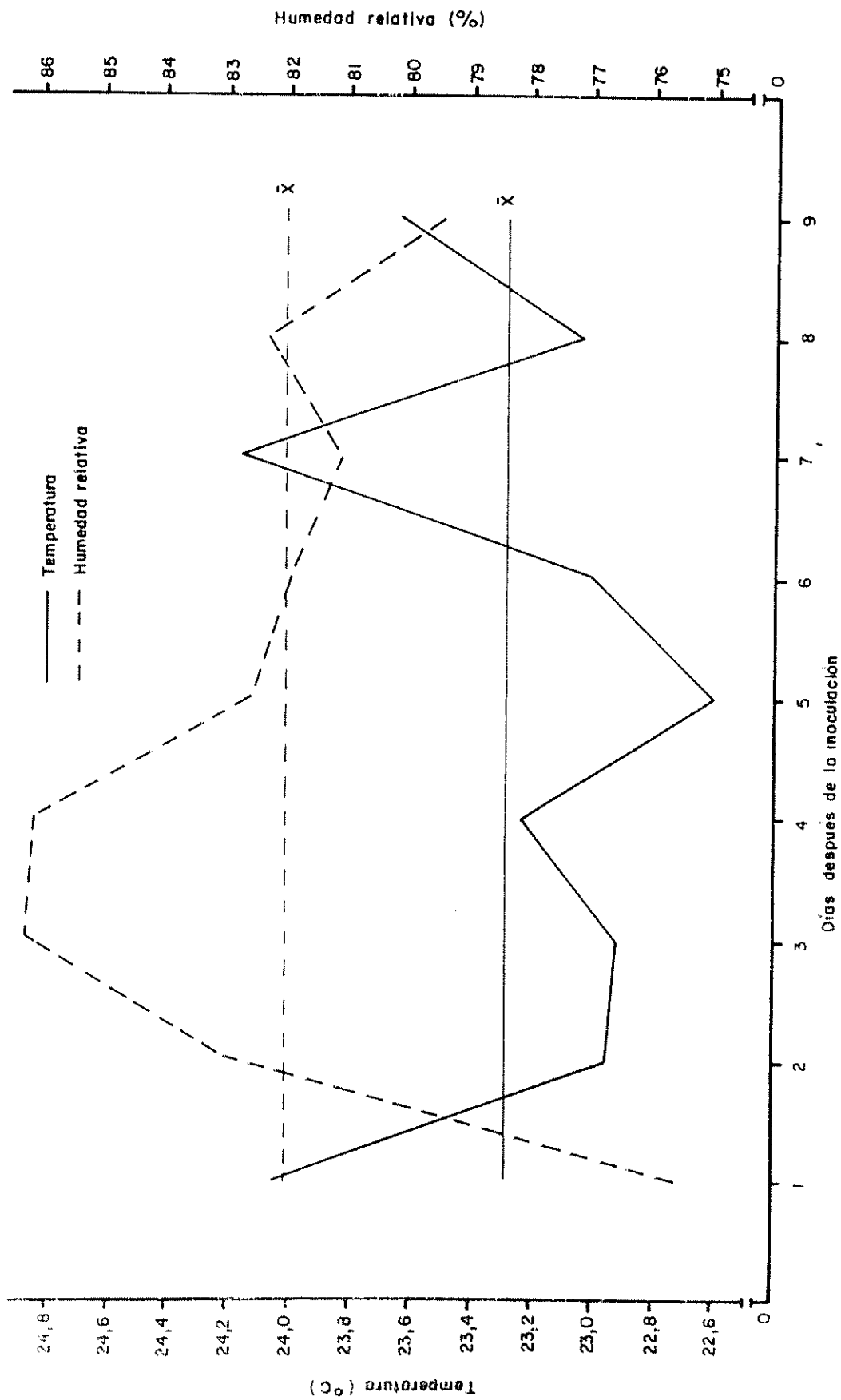


Fig. 2 Promedios diarios de temperatura y humedad relativa para el periodo de estudio en invernadero, de evaluación de la patogenicidad de 10 aislamientos de *Phytophthora capsici* en 7 especies diferenciales. CATIE, Turrialba, Costa Rica

Cuadro 7. Razas fisiológicas de *Phytophthora capsici* determinadas por su patogenicidad a los cuatro días de inoculadas en hojas separadas de la planta de especies diferenciales

Aislamiento	Especies diferenciales							Raza
	Tomate	Ayote	Chile	Sandía	Melón	Berenjena	Pepino	
1. CC-1	+	+	+	+	+	+	+	1
2. Cartago 1	+	+	+	+	+	+	+	1
3. CT-2	+	+	+	+	+	+	+	1
4. C.Tob.	+	+	+	+	+	+	+	1
5. A-126	+	+	+	+	+	+	+	1
6. A-127	+	+	+	+	+	+	+	1
7. A-129	+	+	+	+	+	+	+	1
8. A-133	+	+	+	+	+	+	+	1
9. GSR-147	+	+	+	+	+	+	+	1
10. Montaña	+	+	+	+	+	+	+	1
11. CSI	+	+	+	+	+	+	-	2
12. A-128	+	+	+	+	+	+	-	2
13. A-132	+	+	+	+	+	+	-	2
14. SC/	+	+	+	+	+	+	-	2
15. SC	+	+	+	+	+	+	-	2
16. Siquirres	+	+	+	+	+	+	-	2
17. GAV-5	+	+	+	+	+	-	+	3
18. A-2	+	+	+	-	+	+	+	4
19. GAV-2	+	+	+	+	+	-	-	5
20. GAV-4	+	+	+	+	+	-	-	5
21. CT-1	+	+	+	+	-	+	-	6
22. CT-3	+	+	+	+	-	-	-	7
23. GAV-1	+	+	+	+	-	-	-	7
24. CATIE	+	+	-	+	-	-	+	8
25. GSM-158	+	-	-	+	+	-	-	9
26. A-136	-	+	+	-	+	-	-	10
27. GSM-157	-	-	-	-	+	-	+	11

+ patogénico
no patogénico

melón. Las otras razas (3,4,6,8,9,10 y 11) se definieron por el comportamiento patogénico particular de cada uno de los aislamientos restantes. Ninguna especie de las usadas como diferenciales fue susceptible a todos los aislamientos, incluyendo el chile, que fue la especie de donde se obtuvieron todos los aislamientos. Para esta especie no fueron patogénicos los aislamientos CATIE, GSM-157 y GSM-158, todos originarios de la zona baja de Cartago. Polach y Webster (1972) observaron resultados similares e indicaron la posibilidad de que los aislamientos fueran incapaces de infectar a los hospederos originales debido a: i) diferencias varietales entre el hospedero fuente y el hospedero usado en la prueba, ii) condiciones ambientales de la prueba, y iii) el hecho que algunos de los aislamientos se mantuvieron en medio de cultivo por un largo periodo de tiempo. En nuestro caso, la segunda razón podría explicar el fenómeno porque la temperatura del laboratorio ($18 \pm 2^\circ\text{C}$) pudo afectar la capacidad patogénica de los aislamientos. La especie diferencial más resistente fue pepino, hospedera de catorce aislamientos (51,8 %). Las especies más susceptibles fueron tomate y ayote, hospederas de 25 aislamientos (92,6 %).

4.2. Caracterización in vitro de razas de *P. capsici*

4.2.1. Crecimiento de colonias

Los análisis de varianza para la tasa de crecimiento de colonias en las tres temperaturas (Cuadros 1A, 2A y 3A), muestran diferencias significativas para las fuentes de variación aislamiento, medio de cultivo e interacción aislamiento x medio ($P=0,01$). Con base en esa situación se determinó la realización de pruebas de medias que agruparan a los aislamientos para las combinaciones temperatura-medio y pruebas de medias para separar los medios de cultivo. En el caso de la combinación Temp 18°C-Medio V-8 (Cuadro 8) se observa que en el grupo de mayor tasa de crecimiento (6,30-6,75 mm/24 h) se ubicaron aislamientos de siete razas diferentes procedentes de Alajuela, Cartago zona alta y Cartago zona baja. Un grupo de crecimiento intermedio (5,70-6,05 mm/24 h) se constituyó con tres razas originarias de sitios diferentes. Igual situación ocurrió en el grupo con menor tasa de crecimiento (5,30-5,45 mm /24 h). Para la combinación Temperatura 18°-Medio PDA (Cuadro 8) el grupo de mayor velocidad de crecimiento (3,55-4,0 mm/24 h) lo constituyeron seis razas provenientes de Alajuela y San Carlos, que coincidieron con las de mayor crecimiento a esa temperatura en medio V-8. Cinco razas tuvieron velocidad de crecimiento intermedio (3,25-3,50 mm/24 h) sin coincidir con las de crecimiento intermedio en V-8. En el grupo de menor

crecimiento tampoco coincidieron los aislamientos con aquellas de menor crecimiento en V-8 a esa temperatura. Si se comparan los valores de velocidad de crecimiento en los dos medios (en Cuadro 8) se observan diferencias amplias en todas las razas y aislamientos lo cual se confirmó en la prueba de Duncan para medios de cultivo en la cual V-8 mostró una clara superioridad sobre PDA (6,02 contra 3.33 mm/24 h en promedio).

Para el resto de las combinaciones de temperatura y medios (24°C-VB, 24°C-PDA, 30°C-VB y 30°C-PDA, Cuadros 9 y 10) es también evidente la ausencia de un patrón de agrupamiento de acuerdo con la zona de origen de los aislamientos, las cuales sufrieron cambios en la posición relativa en cada condición. Esto indica una amplia variación entre aislamientos aun dentro de las razas definidas previamente como 1 y 2 con base en su patogenicidad.

La raza 10 (A-136), muestra el comportamiento más estable entre las de crecimiento rápido, ya que fue para todas las combinaciones temperatura-medio, clasificada entre el grupo más veloz en crecimiento. Le siguen en estabilidad para esa característica, las razas 4, 5 y 7 que sólo fueron afectadas en la condición Temp 30°C-Medio V-8. La raza 10, a pesar de su estabilidad para una alta velocidad de crecimiento en temperaturas variables, se diferenció del resto con una baja capacidad patógena (Cuadro 7) ya que fue capaz de infectar solamente a 3 de los 7 hospederos

Cuadro 8. Crecimiento radial (mm/24 h) de 15 aislamientos de Phytophthora capsici en dos medios de cultivo a 18°C.

Temperatura 18°C							
Medio de V-8				Medio de PDA			
Aisla- miento	raza	Crecimiento radial	***	Aisla- miento	raza	Crecimiento radial	***
A-136	10	6,75	a	A-127	1	4,0	a
A-127	1	6,40	ab	A-136	10	4,0	a
CT-1	6	6,40	ab	A-2	4	3,85	ab
A-2	4	6,40	ab	CT-1	6	3,70	abc
GSM-157	11	6,40	ab	SC	2	3,60	abc
CSI	2	6,40	ab	CT-3	7	3,55	abc
CT-3	7	6,30	ab	CATIE	8	3,50	bc
CC-1	1	6,05	bc	CSI	2	3,40	bc
GSM-158	9	6,00	bc	GAV-4	5	3,35	c
GSR-147	1	5,95	bc	CC-1	1	3,35	c
GAV-4	5	5,70	cd	GAV-5	3	3,30	c
CATIE	8	5,45	d	GSR-147	1	3,25	c
SC	2	5,40	d	GSM-157	11	2,65	d
GAV-5	3	5,40	d	GSM-158	9	2,45	de
A-132	2	5,30	D	A-132	2	2,05	e

* Promedio de dos repeticiones

✓ Promedios con la misma letra expresan diferencias estadísticamente no significativas según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P=0,01)

Media general 18°C= 4,68 mm/24 h

Cuadro 9. Crecimiento radial (mm/24 h) de 15 aislamientos de Phytophthora capsici en dos medios de cultivo a 24°C.

Temperatura 24°C							
Medio de V-8				Medio de PDA			
Aisla- miento	raza	Crecimiento radial	"xy"	Aisla- miento	raza	Crecimiento radial	"xy"
CATIE	8	7,55	a	A-136	10	5,95	a
A-2	4	7,40	ab	CC-1	1	5,90	a
CT-1	6	7,35	abc	A-127	1	5,80	a
CT-3	7	7,30	abcd	A-2	4	5,80	a
CC-1	1	7,25	abcde	CSI	2	5,70	ab
A-132	2	7,25	abcde	CT-3	7	5,65	ab
A-136	10	7,25	abcde	CT-1	6	5,60	ab
CSI	2	7,15	bcde	CATIE	8	5,60	ab
GAV-4	5	7,05	bcdef	SC	2	5,40	bc
SC	2	7,00	cdef	A-132	2	5,20	cd
GAV-5	3	6,95	def	GSR-147	1	5,05	d
GSR-147	1	6,90	ef	GAV-4	5	5,05	d
GSM-157	11	6,70	f	GAV-5	3	5,00	d
A-127	1	6,70	f	GSM-158	9	3,45	e
GSM-158	9	6,35	g	GSM-157	11	3,15	e

* Promedio de dos repeticiones

xy Promedios con la misma letra expresan diferencias estadísticamente no significativas según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P=0,01)

Media general 24°C= 6,15 mm/24 h

Cuadro 10. Crecimiento radial (mm/24 h) de 15 aislamientos de *Phytophthora capsici* en dos medios de cultivo a 30°C.

Temperatura 30°C							
Medio de V-8				Medio de PDA			
Aisla- miento	raza	Crecimiento radial "x"	"y"	Aisla- miento	raza	Crecimiento radial "x"	"y"
CATIE	8	8,95	a	A-2	4	5,80	a
A-136	10	8,90	a	CT-3	7	5,80	a
A-132	2	7,30	b	CSI	2	5,80	a
CT-3	7	6,80	c	A-136	10	5,75	a
CSI	2	6,75	c	CT-1	6	5,60	ab
A-127	1	6,50	cd	CATIE	8	5,60	ab
CC-1	1	6,50	cd	A-127	1	5,50	ab
CT-1	6	6,30	d	CC-1	1	5,35	ab
A-2	4	6,25	de	SC	2	5,30	b
GSM-158	9	6,15	de	GAV-4	5	4,45	c
SC	2	5,85	ef	GAV-5	3	4,30	c
GSM-1571	1	5,60	fg	GSR-147	1	4,25	c
GAV-5	3	5,30	g	A-132	2	3,60	d
GSR-147	1	5,25	g	GSM-157	11	3,25	de
GAV-4	5	4,20	h	GSM-158	9	3,00	e

" Promedio de dos repeticiones

✓ Promedios con la misma letra expresan diferencias estadísticamente no significativas según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P=0,01)

Media general 30°C= 5,66 mm/24 h

diferenciales. Estos resultados sugieren que en P. capsici la agresividad no está relacionada directamente con patogenicidad. Esto puede asociarse con el concepto de Van der Planck (1968) el cual dice que una raza con menos genes de virulencia puede conservarse mejor sin importar los cambios ambientales. En general los aislamientos provenientes de la zona baja de Cartago (Guayabo), tienden a crecer lentamente ubicándose en los grupos de menores tasas.

A las tres temperaturas la mayoría de los aislamientos presentaron una tasa de crecimiento mayor en medio V-8 que en PDA. Esto se confirmó con la prueba de medias para medios de cultivo en las que fueron separados V-8 y PDA en grupos estadísticos diferentes. También se observa claramente en la figura 3, en la cual los valores para cada aislamiento se obtuvieron del promedio para las tres temperaturas. El contenido de nutrimentos del medio de V-8 [extractos de tomate (L. esculentum), zanahoria (D. carota), apio (Apium graveolens L.), remolacha (Beta vulgaris L.), perejil (Petroselinus hortense Hoffm.), lechuga (Lactuca sativa L), espinaca (Espinacia oleracea L.) y berro (Nasturtium sp.)], es superior al medio PDA e indudablemente es la razón por la cual, los aislamientos crecieron mejor en V-8. De igual manera es notoria la diferencia en velocidad de crecimiento cuando se comparan los promedios generales para cada temperatura, observándose la mayor tasa de crecimiento a 24°C (6,15 mm/24 h), seguida por 30°C (5,66 mm/24 h) y por último 18°C (4,68 mm/24 h). Esto permite

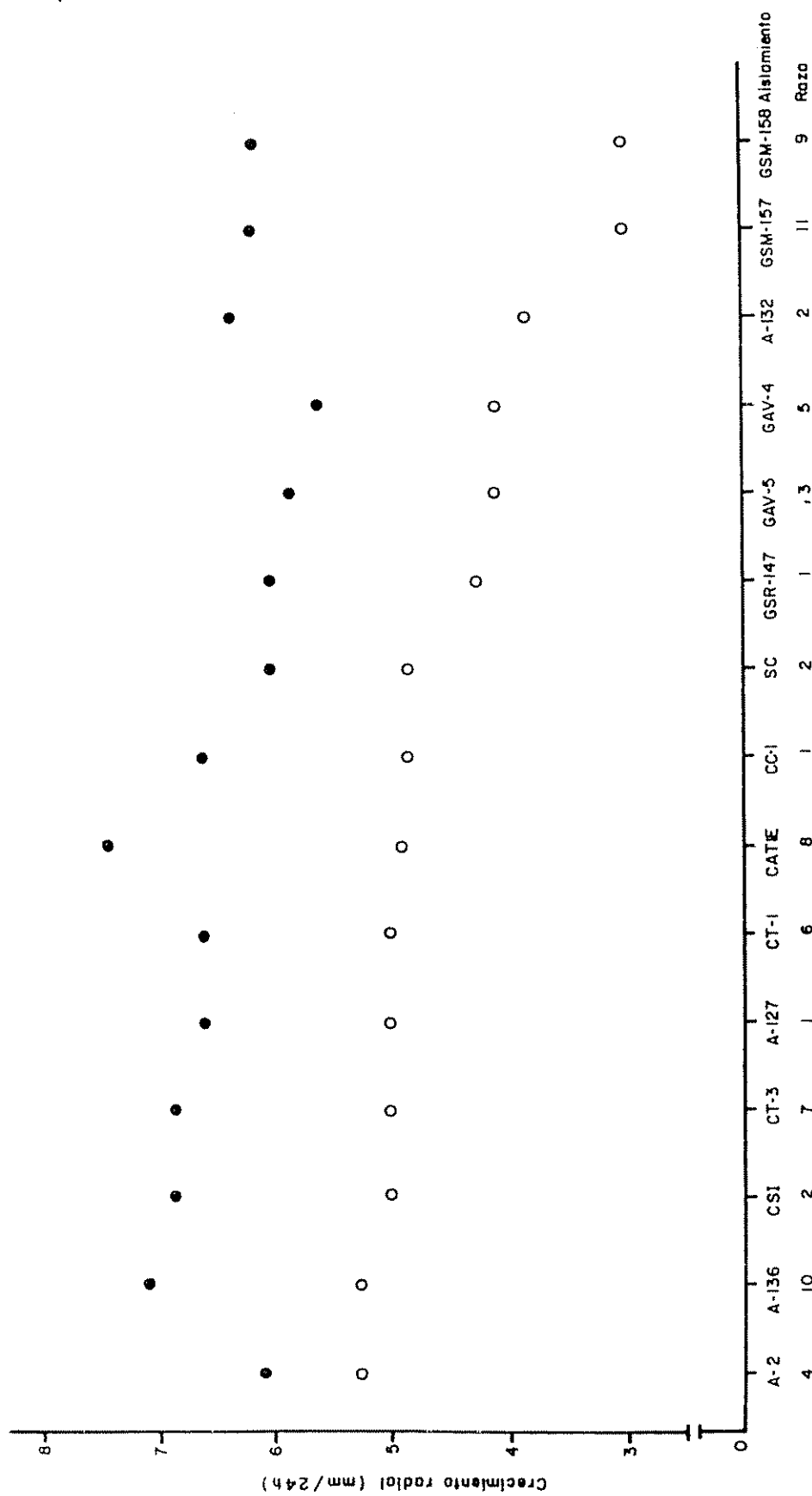


Fig. 3 Crecimiento radial de 15 aislamientos (agrupados en once razas) *Phytophthora capsici*, en dos medios de cultivo, V-8 (●) y PDA (○). Promedios de tres temperaturas

afirmar que para crecimiento vegetativo en condiciones de laboratorio la temperatura de 24°C se aproxima a la óptima para P. capsici. Alfaro y Vegh (1971), en un estudio similar con P. capsici (creciendo en medio papa-glucosa-agar), encontraron que el crecimiento a 18°C fue más lento que a 24 y 30°C. Sin embargo en estas últimas dos temperaturas obtuvieron crecimientos muy similares. En ese caso, tal comportamiento parece ser indicado para un solo aislamiento y como se muestra a continuación, también en este estudio hubo razas con esa tendencia.

Si se observa la figura 4, en la que se presenta la tasa de crecimiento para cada aislamiento en las tres temperaturas (como promedio de dos medios de cultivo), se nota que solamente dos razas (10 y 8) tuvieron mayor velocidad de crecimiento a 30°C que a 24°C. Así mismo dos razas crecieron a ritmo más rápido a 18°C que a 24°C (razas 5 y 11). Estas variaciones en comportamiento también sugieren diversidad genética en las razas previamente definidas.

4.2.2. Producción de esporangios

Los análisis de variancia de los β , (pendiente de la recta de regresión ajustada) para producción de esporangios (Cuadros 4A, 5A y 6A) muestran diferencias significativas para las fuentes de variación aislamiento, medio de cultivo y la interacción aislamiento x medio de cultivo. Esta

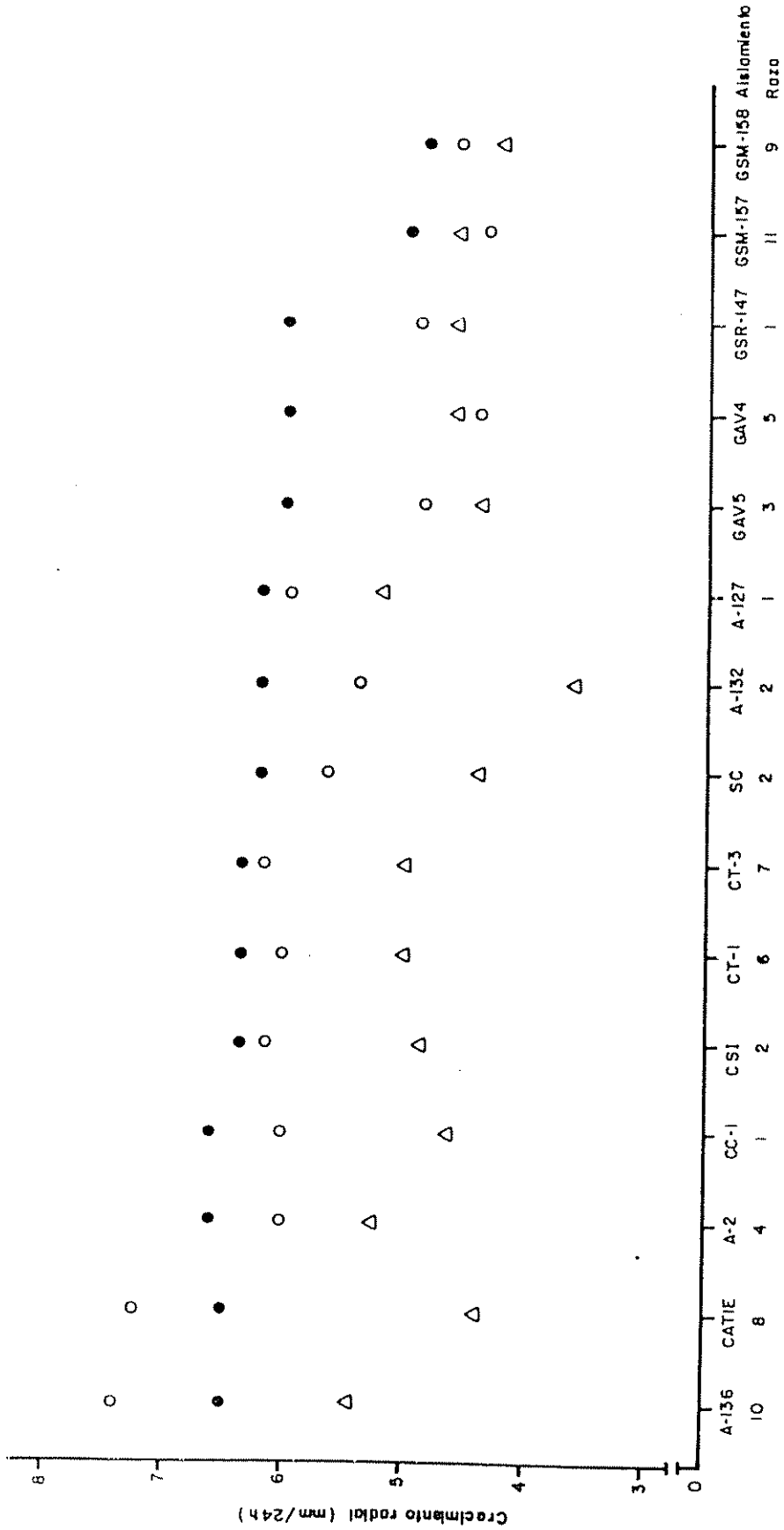


Fig. 4 Crecimiento radial de 15 aislamientos (agrupados en el rozos) de *Phytophthora capsici* en tres temperaturas, 18°C(△), 24°C(●) y 30°C (○). Promedios de dos medios de cultivo

circunstancia, al igual que para el crecimiento de colonias, determinó la realización de pruebas de medias que agruparan a los aislamientos para las combinaciones temperatura-medio y pruebas de medias para separar los medios de cultivo.

No existió un patrón de agrupamiento que relacionara a los aislamientos por su sitio de origen (Cuadros 11, 12 y 13). Aún dentro de aislamientos de las razas 1 y 2 se presentan diferencias marcadas en cuanto a producción de esporangios (exceptuando la condición temperatura 18°C-medio V-8 en la cual los tres aislamientos de la raza 1 tuvieron estadísticamente el mismo comportamiento). En general, para las tres temperaturas, los aislamientos esporularon mejor en medio V-8 que en PDA lo cual se observa en la figura 5. Para V-8 la raza 4 (aislamiento A-2) presentó la tasa más alta tanto a 18 como a 24°C. (122,37 y 33,48 esporangios/hora). Sin embargo, a 30°C se vio afectada cayendo a la posición 10 con menos de un esporangio/hora. Por el contrario el aislamiento CC-1 (raza 1), se vio afectado a 18°C en la cual fue superado por once aislamientos pero a 24 y 30°C ocupó las posiciones 3 y 1 en cuanto a tasa de producción de esporangios. Para el medio V-8 en las tres temperaturas, las razas provenientes de Guayabo (9 y 11) ocuparon siempre las últimas posiciones. En el medio PDA para las tres temperaturas, los aislamientos de Cartago zona baja (principalmente GAV-4, GAV-5 y GSR-147) se adaptaron mejor que el resto de los aislamientos en cuanto a producción de esporangios.

Cuadro 11. Producción de esporangios por hora, de 15 aislamientos de Phytophthora capsici en dos medios de cultivo a 18°C

Temperatura 18°C							
Medio de V-8				Medio de PDA			
Aisla- miento	Raza	Producción esporangios	***	Aisla- miento	Raza	Producción esporangios	***
A-2	4	122,37	a	GAV-5	3	7,12	a
CATIE	8	92,21	ab	GAV-4	5	5,14	ab
Gav-4	1	60,56	bc	CT-3	7	1,98	bc
A-132	2	53,49	c	SC	2	1,74	c
CT-1	6	44,64	c	CATIE	8	1,42	c
GAV-5	3	16,82	d	A-136	10	1,01	c
A-136	10	15,81	d	A-127	1	0,83	c
CT-3	7	15,72	d	GSM-158	9	0,81	c
CSI	2	15,42	d	GSR-147	1	0,59	c
GSR-147	1	6,89	de	CT-1	6	0,50	c
A-127	1	6,76	de	CSI	2	0,43	c
CC-1	1	5,53	de	CC-1	1	0,40	c
SC	2	4,38	de	A-132	2	0,18	c
GSM-157	11	3,86	de	A-2	4	0,03	c
GSM-158	9	1,52	e	GSM-157	1	0,01	c

*** Promedio de dos repeticiones

∨ Promedios con la misma letra expresan diferencias estadísticamente no significativas según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P=0,01)

Media general 18°C= 16,28 esporangios/hora

Cuadro 12. PRODUCCION DE ESPORANGIOS POR HORA, DE 15 AISLAMIENTOS DE Phytophthora capsici EN DOS MEDIOS DE CULTIVO A 24°C

Temperatura 24°C							
Medio de V-8				Medio de PDA			
Aisla- miento	Raza	Producción esporangios	**y	Aisla- miento	Raza	Producción esporangios	**y
A-2	4	33,48	a	GAV-5	3	4,56	a
CT-3	7	22,46	ab	GSR-147	1	3,21	a
CC-1	1	15,18	bc	GAV-4	5	1,71	b
CSI	2	14,39	bc	CT-1	6	1,15	bc
CT-1	6	14,22	bc	A-132	2	0,28	cd
A-127	1	13,44	bc	A-136	10	0,22	cd
GAV-4	5	12,76	bcd	GSM-157	11	0,12	cd
GAV-5	3	11,08	bcd	CC-1	1	0,0	d
CATIE	8	10,28	bcde	A-127	1	0,0	d
A-132	2	6,56	cdef	CT-3	7	0,0	d
A-136	10	3,30	def	A-2	4	0,0	d
GSR-147	1	2,98	def	CATIE	8	0,0	d
SC	2	1,86	ef	GSM-158	9	0,0	d
GSM-157	11	0,76	f	CSI	2	0,0	d
GSM-158	9	0,12	f	SC	2	0,0	d

* Promedio de dos repeticiones

✓ Promedios con la misma letra expresan diferencias estadísticamente no significativas según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P=0,01). Promedios expresados en valores reales y agrupación expresada para datos transformados.

Media general 24°C= 5,8 esporangios/hora

Cuadro 13. Producción de esporangios por hora, de 15 aislamientos de Phytophthora capsici en dos medios de cultivo A 30°C

Temperatura 30°C							
Medio de V-8				Medio de PDA			
Aisla- miento	Raza	Producción esporangios	**	Aisla- miento	Raza	Producción esporangios	**
CC-1	1	7,56	a	GSR-147	1	0,06	a
CT-3	7	6,98	a	GAV-4	5	0,01	b
CT-1	6	4,14	ab	GAV-5	3	0,01	b
CSI	2	3,11	bc	A-132	2	0,0	b
CATIE	8	2,54	bcd	CATIE	8	0,0	b
A-136	10	2,40	bcd	CC-1	1	0,0	b
GAV-4	5	1,44	cde	A-127	1	0,0	b
A-127	1	1,16	cde	CT-1	6	0,0	b
SC	2	0,66	de	CT-3	7	0,0	b
A-2	4	0,56	de	A-136	10	0,0	b
A-132	2	0,54	de	A-2	4	0,0	b
GSM-157	11	0,03	e	GSM-157	11	0,0	b
GSR-147	1	0,02	e	GSM-158	9	0,0	b
GSM-158	9	0,01	e	CSI	2	0,0	b
GAV-5	3	0,01	e	SC	2	0,0	b

* Promedio de dos repeticiones

✓ Promedios con la misma letra expresan diferencias estadísticamente no significativas según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P=0,01). Promedios expresados en valores reales y agrupación expresada para datos transformados.

Media general 30°C= 1,04 esporangios/hora.

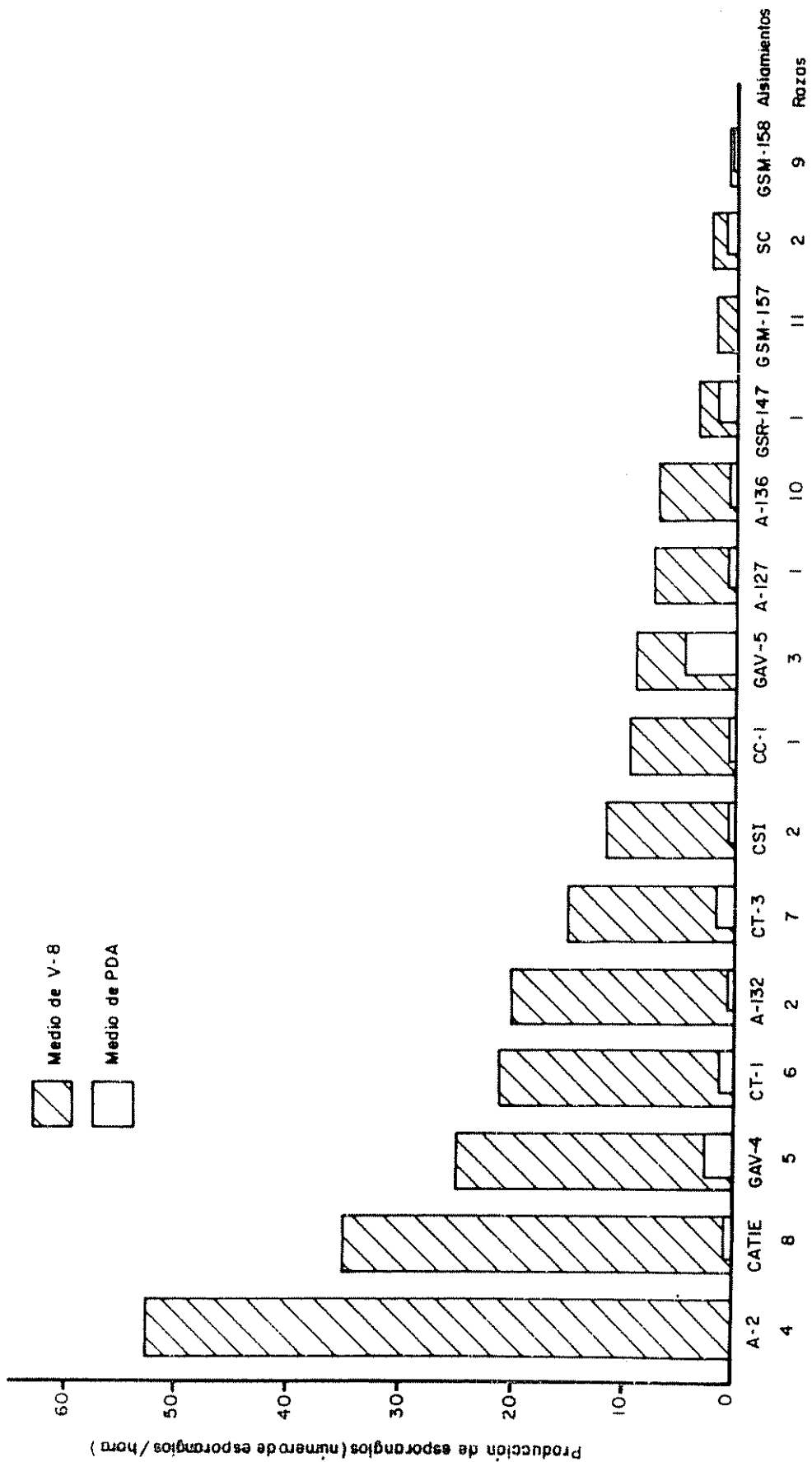


Fig. 5 Producción de esporangios por hora de 15 aislamientos (agrupados en 11 razas) de *Phytophthora capsici* en dos medios de cultivo. Promedios de tres temperaturas

En relación a temperaturas, el promedio general de esporulación mayor ocurrió a 18°C (16,28 esporangios/hora), seguido por 24°C (5,8 esporangios/hora) y por último 30°C (1,04 esporangios/hora). En la figura 6 se observa que solamente tres aislamientos (uno de la raza 7 y dos de la raza 1), esporularon mejor a 24°C que a 18°C. Ningún aislamiento esporuló más a 30°C que a 18°C. Ese comportamiento contrasta evidentemente con las tasas de crecimiento en las cuales 18°C fue la temperatura de crecimiento mínimo. Estos resultados indican que para P. capsici las temperaturas bajas limitan el crecimiento vegetativo y estimulan una mayor producción de esporangios. Esto también puede estar asociado con la inducción de liberación de zoosporas de los esporangios a temperaturas bajas y de germinación vegetativa en dichos esporangios a temperaturas altas, hechos indicados por Zentmyer y Erwin (1970). Además, el hecho de que tanto el crecimiento de colonias como la producción de esporangios se vean afectados negativamente a 30°C sugiere que esa temperatura es limitante para el crecimiento y reproducción de P. capsici, comparada con 24°C.

Una amplia variación en la capacidad de esporulación de los diferentes aislamientos se observa en las figuras 5 y 6. Los aislamientos A-2 y CATIE (razas 4 y 8, respectivamente) fueron las de mayor esporulación. Los aislamientos GSM-157 y GSM-158 (razas 9 y 11) tuvieron la esporulación más baja. La amplitud de la tasa de esporulación varió entre 1,0 y

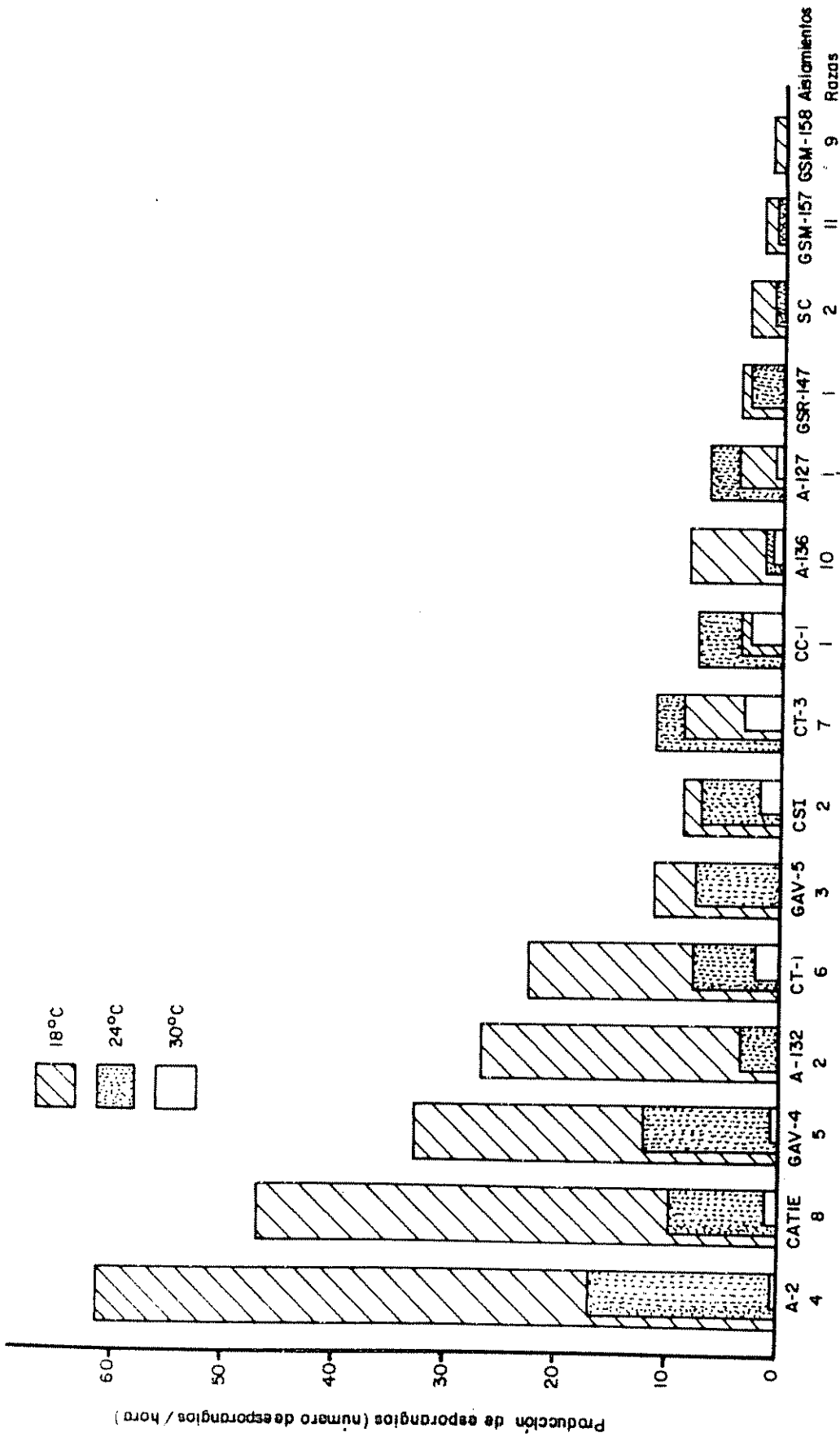


Fig. 6 Producción de esporangios de 15 aislamientos (agrupados en 11 razas) de *Phytophthora capsici* en tres temperaturas. Promedios de dos medios de cultivo

61,0 esporangios/hora para las temperaturas y entre 0,5 y 55,0 esporangios/hora para medios de cultivo.

Una comparación de comportamientos en cuanto a producción de esporangios entre tres razas distintas (1, 4 y 6) provenientes de zonas geográficas y climáticas diferentes se observa en las figuras 7 y 8. Las diferencias en comportamiento en cuanto a producción de esporangios a 36 horas de inducir esporulación son marcadas. La raza 4 tiene una máxima esporulación a 18°C en medio V-8 (4.240 esporangios). Sin embargo, a la misma temperatura en medio PDA su producción fue de 2,0 esporangios. Por el contrario el aislamiento GSR-147 (raza 1) es el de menor esporulación a 18°C en medio V-8 llegando a 220, pero en PDA es el de máxima producción con 138 esporangios. También es interesante notar que la esporulación máxima ocurrió en PDA a 24°C y en V-8 a 18°C.

Un análisis de correlación entre tasas de crecimiento (promedio de temperaturas y medios) de colonias y tasa de producción de esporangios indicó que no existe ninguna dependencia entre estas dos características. Sin embargo, si se comparan las tres temperaturas, es notorio que a 18°C se reduce la tasa de crecimiento y se incrementa la producción de esporangios, situación que se enmascara al promediar temperaturas y medios de cultivo.

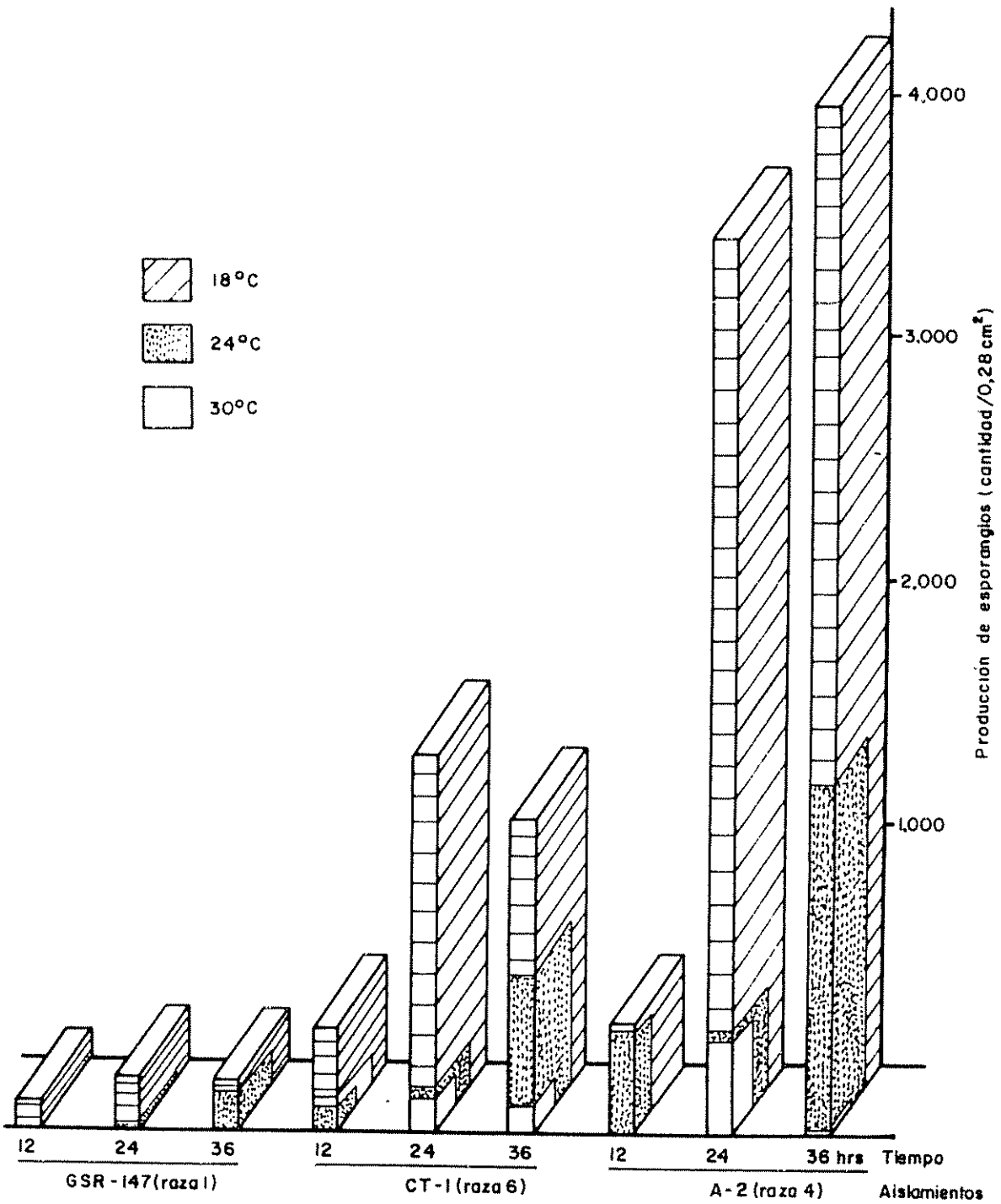


Fig. 7 Producción de esporangios de tres aislamientos (razas 1, 6 y 4) de *Phytophthora capsici* en tres temperaturas a tres intervalos de tiempo después de inducir esporulación en medio V-8

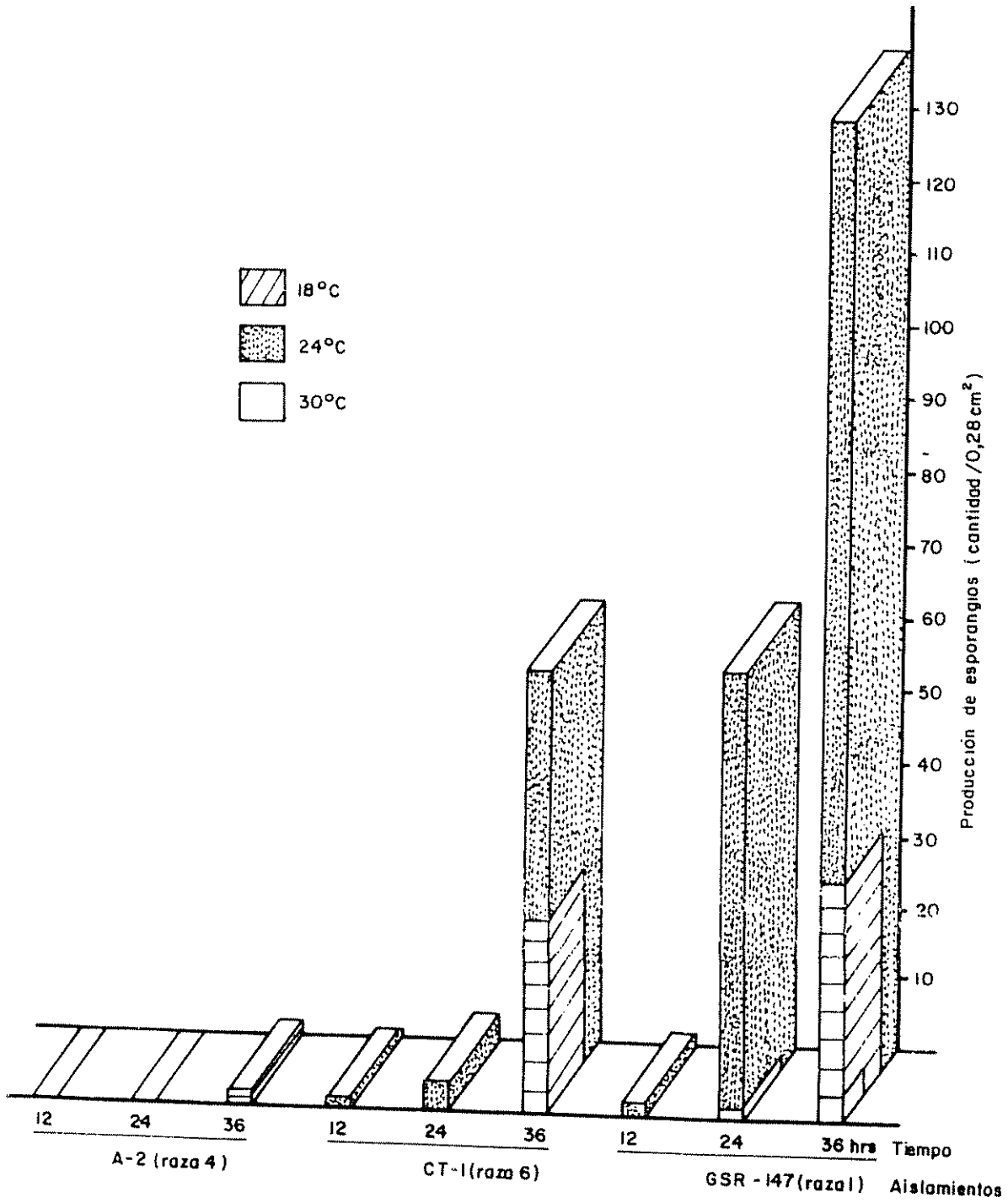


Fig 8 Producción de esporangios de tres aislamientos (razas 4, 6 y 1) de *Phytophthora capsici* en tres temperaturas a tres intervalos de tiempo después de inducir esporulación en medio PDA

4.3. Identificación de materiales resistentes a *P. capsici*

4.3.1. Prueba de campo

La tasa de mortalidad expresada como el porcentaje de plantas muertas por semana, (Cuadro 7A) muestra diferencias significativas ($P=0,01$) para las fuentes de variación parcela principal (tipo de inóculo), subparcela (cultivar o introducción) y para la interacción parcela principal x subparcela.

Cuando se inoculó *P. capsici* a un nivel de 5×10^3 zoo/ml (Cuadro 14), siete introducciones (41,2 %) presentaron tasas de mortalidad mayores a la del testigo (identificado como 17), este grupo incluyó una introducción picante (número 10) y sus tasas de mortalidad variaron entre 23,6 y 35,0. El resto de introducciones (52,9 %) presentaron tasas de mortalidad menores que el testigo. Este grupo incluyó cinco materiales picantes (1, 5, 6, 7 y 8) con tasas de mortalidad entre 3,5 y 21,8.

Al nivel 8×10^4 zoo/ml, nueve introducciones (52,9 %) superaron al testigo en mortalidad incluyendo nuevamente en este grupo al material picante número 10. El 41,2 % de las introducciones tuvieron tasas menores de mortalidad que el testigo y todos ellos coincidieron con el grupo más resistente al nivel 5×10^3 zoosporas/ml. En este caso, para el grupo con mayor resistencia la amplitud de la tasa de mortalidad varió entre 4,6 y 29,0. (Cuadro 14).

Cuadro 14. Mortalidad (%/semana) de 17 materiales de Capsicum annuum inoculados con Phytophthora capsici y Pseudomonas solanacearum

C o n c e n t r a c i o n d e i n ó c u l o							
" 5x10 ³		" 8x10 ⁴		" + 8x10 ⁴ +1x10 ⁷		" 1x10 ⁷	
MATE RIAL	MORTALIDAD ⁼	MATE RIAL	MORTALIDAD ⁼	MATE RIAL	MORTALIDAD ⁼	MATE RIAL	MORTALIDAD ⁼
16	35,0 a	15	65,7 a	16	66,7 a	9	5,3 a
4	31,6 ab	16	54,0 ab	3	55,7 ab	17	5,6 a
13	28,7 abc	10	46,7 bc	11	46,7 bc	2	3,6 a
10	27,8 abc	3	43,3 bcd	9	45,7 bc	11	1,8 a
14	26,0 abc	11	41,7 bcd	10	46,7 bc	3	1,8 a
9	24,0 abcd	9	40,0 bcde	15	43,3 bc	8	1,0 a
3	23,6 abcd	4	40,0 bcde	13	43,3 c	6	1,0 a
17	21,9 abcd	14	40,0 bcde	2	43,3 c	13	1,0 a
15	21,8 abcd	13	38,5 bcde	17	38,3 cd	12	0,62 a
11	21,0 abcd	17	35,3 cde	4	36,7 cd	10	0,62 a
12	16,2 abcd	2	29,0 cde	14	35,7 cd	14	0,62 a
8	14,8 bcde	7	26,7 cde	8	33,2 cde	16	0,5 a
2	15,0 bcde	12	25,3 cdef	7	26,7 cde	7	0,5 a
7	11,7 cde	5	22,7 def	12	22,1 def	5	0,0 a
6	11,5 cde	8	20,3 ef	5	17,21 ef	15	0,0 a
5	9,5 de	6	9,5 fg	1	14,2 f	1	0,0 a
1	3,5 e	1	4,6 g	6	8,5 f	4	0,0 a

" Phytophthora capsici

" Pseudomonas solanacearum

= Promedios de mortalidad expresados en valores reales y agrupación para datos transformados. Promedios seguidos por la misma letra expresan diferencias no significativas en la prueba de Duncan (P=0,1)

Cuando se usó en la inoculación P. capsici (8×10^4 zoo/ml) + P. solanacearum (1×10^7 ucb/ml), el 47,0 % de introducciones (8) tuvieron mortalidades mayores que el testigo y 47,0 % mortalidades más bajas. En este caso la mortalidad en plantas se debió al daño de P. capsici que no permitió la manifestación de P. solanacearum como causante de muerte. Tanto para P. capsici (8×10^4 zoo/ml) como para el tratamiento P. capsici + P. solanacearum los grupos con tasas de muerte menores al testigo incluyeron cinco materiales picantes (1, 5, 6, 7 y 8) (Cuadro 14).

La respuesta a inoculación con P. solanacearum a un nivel 1×10^7 ucb/ml fue diferente y ninguna de las introducciones evaluadas fue afectada más que el testigo. Sin embargo, la prueba de Duncan indica que para ese tratamiento no existen diferencias estadísticas entre los 17 materiales inoculados (Cuadro 14).

En general, la tendencia a mayor resistencia estuvo asociada al carácter picante de las introducciones lo cual coincide con los resultados obtenidos por Mora (1977). Los materiales identificados con buena resistencia, a pesar de ser picantes, pueden utilizarse para un programa de mejoramiento para resistencia a P. capsici debido a la ausencia de barrera marcadas para la hibridación que ocurre dentro del género Capsicum (Manual de, 1983). En relación con esto, Saini y Sharma (1978), al hacer cruzamientos entre una variedad de frutos pequeños y tipo picante, con alta resistencia a P. capsici y una variedad de frutos grandes y

tipo dulce, susceptible, lograron después de tres retrocruzadas, un material que combinó la resistencia del chile picante y el tamaño y tipo dulce del material susceptible.

En general el incremento de 5×10^3 a 8×10^4 zoo/ml en la concentración de inóculo de P. capsici provocó un aumento de la tasa de muerte. La figura 9 indica que en materiales susceptibles el efecto de concentración de inóculo es amplio (introducciones 15 y 16) mientras que en materiales resistentes tal efecto es mínimo (introducciones 1 y 6). Esta situación es similar a los resultados obtenidos por Brinsmead y colaboradores (1985) al trabajar con garbanzo y P. megasperma en pruebas de invernadero, quienes encontraron que el nivel de inóculo, tiene un marcado efecto sobre la expresión de la resistencia. Otra investigación realizada en invernadero por Gooding y Lucas (1959), quienes inocularon plantas de tabaco con P. parasitica con suspensiones de entre 1×10^2 y 1×10^5 zoo/ml sobre cultivares con resistencia variable entre susceptible y altamente resistente. Los resultados mostraron que la velocidad en el desarrollo de la enfermedad estuvo directamente relacionada con la concentración de esporas aplicada. En el experimento de Gooding y Lucas, con una variedad de resistencia mediana se necesitó 1×10^4 zoosporas/planta para matar el 100 % de su población en seis semanas mientras que en una variedad susceptible con sólo 1×10^3 zoosporas/planta se logró ese resultado.

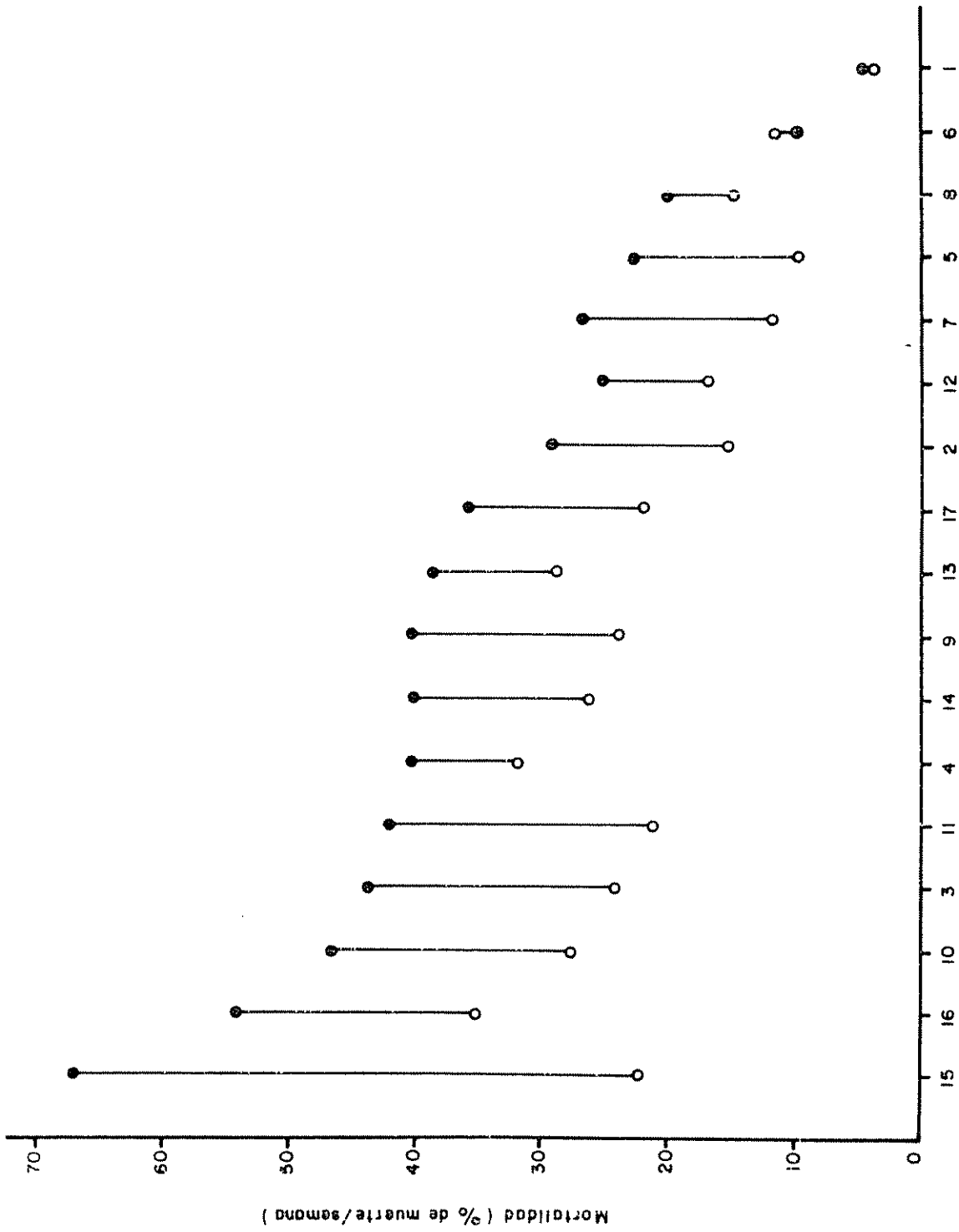


Fig. 9 Diferencias en tasa de mortalidad de 17 introducciones de chile (*Capsicum annuum*) inoculadas con *Phytophthora capsici* a 8×10^4 zoo/ml (●) y 5×10^3 zoo/ml (○) "La Montaña", CATIE, 1986

La inoculación con ambos patógenos incrementó las tasas de muerte pero la diferencia no fue estadísticamente significativa cuando se comparó con inoculación de P. capsici a 8×10^4 zoo/ml. (Cuadro 15).

En la figura 10 se observa en detalle el comportamiento de seis materiales, que incluyeron los de mayor resistencia (1 y 6, ambos picantes), el chile dulce más resistente (12), el 15 indicado como resistente a P. solanacearum (Leon y Gordon 1985) y el 13, un material derivado del 15. En esta figura se puede observar los valores promedios de incremento en mortalidad para cada una de las introducciones. De los materiales representados en la figura 10, tres tuvieron un aumento en su tasa de mortalidad con el tratamiento P. capsici + P. solanacearum (1, 13 y 17).

La figura 11 muestra el comportamiento a la enfermedad, de los materiales 1, 12, 15 y 17, expresado como el valor promedio de supervivencia a los tres tratamientos de inoculación con P. capsici. La introducción picante identificada como 1 (la más resistente), mostró una pérdida de población en las primeras tres semanas después de la inoculación. Sin embargo, a partir de ese punto la población se mantuvo sin modificaciones llegando al final de las evaluaciones (8 semanas después de la inoculación) con más del 60,0 % de su población original. Ese comportamiento singular podría explicarse en la falta de homogeneidad dentro de esa introducción lo cual podría permitir a P. capsici atacar a las plantas que no tuvieran la resistencia

Cuadro 15. Mortalidad promedio (% muerte/semana) en materiales de Capsicum annuum inoculados con Phytophthora capsici y Pseudomonas solanacearum.

Tratamiento	Mortalidad ^{1,2}	
^{1,2} 8x10 ⁴ + 1x10 ⁷	36,87	a
¹ 8x10 ⁴	34,37	a
¹ 5x10 ⁴	20,23	b
² 1x10 ⁷	1,42	c

- ¹ Promedios de mortalidad expresados en valores reales y agrupación expresada para datos transformados
- ² Promedios con la misma letra expresan diferencias estadísticamente no significativas según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P=0,01)
- ¹ Phytophthora capsici
- ² Pseudomonas solanacearum

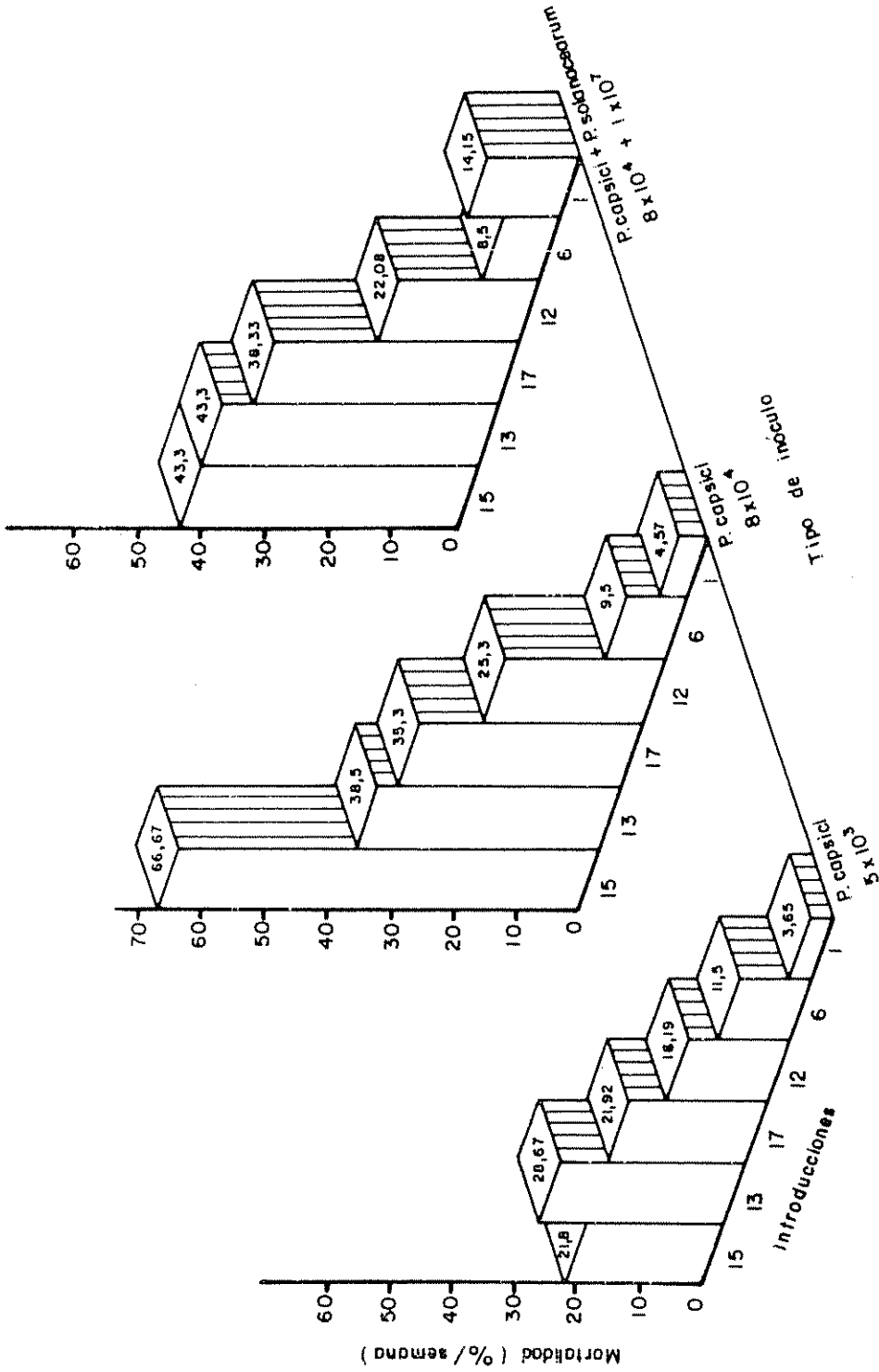


Fig. 10 Mortalidad de seis introducciones de Chile (*Capsicum annuum*) con tres tratamientos de inoculación con *Phytophthora capsici* y *Pseudomonas solanacearum*. "La Montaña", CATIE, 1986

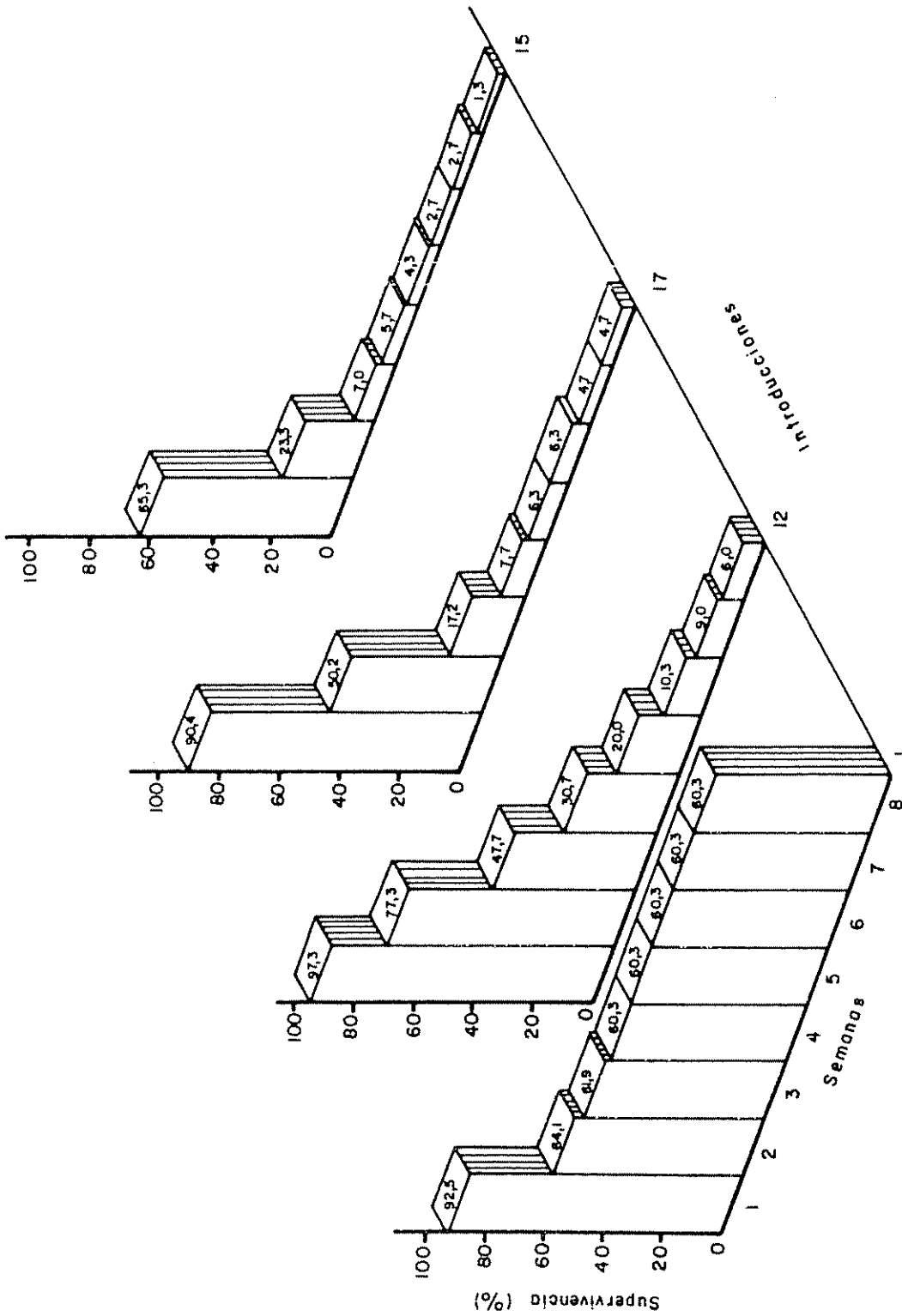


Fig. 11 Supervivencia de cuatro introducciones de Chile (*Capsicum annuum*) a través de ocho semanas después de la inoculación. Promedios de tres tratamientos que incluyen inoculación con *Phytophthora capsici*. "La Montaña", CATIE, 1986

que poseen el restante 62 %. Para confirmar esta explicación es necesario repetir inoculaciones con el mismo aislamiento, sobre esa introducción. La población de la introducción 12 (la dulce más resistente) disminuyó gradualmente, conforme transcurrieron las semanas hasta llegar al final con menos del 10,0 % de la población original. Situación similar ocurrió con el material 15 y con el testigo (17).

Debido a la variación en tiempo de germinación de semillas y la velocidad de crecimiento de los cultivares o introducciones de chile, las plantas, al momento de inocular presentaban diferencias en altura. Un análisis de regresión para altura de planta al inocular y tasa de mortalidad fue hecho, resultando en un β estimado no diferente a cero según prueba de hipótesis y con un coeficiente de determinación $R^2=0,0006$. Estos resultados indican que no existió dependencia de la tasa de mortalidad con respecto a la altura de planta al momento de inocular.

4.3.2. Prueba de invernadero

De las ocho introducciones evaluadas en invernadero, solamente tres mostraron resistencia. La número 1 (del experimento de campo) fue la de mayor resistencia sin presentar lesiones visibles a 8 aislamientos de los 10 inoculados. Siguió el material identificado como 5 en la prueba de campo, el cual fue resistente a tres aislamientos

de los 10 probados. La otra introducción fue la 6 de la prueba de campo que en invernadero fue resistente a un aislamiento. El resto materiales de Chile evaluados fueron susceptibles a los 10 aislamientos inoculados (Cuadro 16). Si se observa el cuadro 17 es evidente que la incidencia para la introducción 1 (30 % y 10 % para los aislamientos CATIE y GAV-3) es mínima, comparada con la del resto de introducciones probadas. En promedio para los diez aislamientos, la incidencia para el material 1 es 4,0 % seguido por las introducciones 5 y 6 con 25,3 y 31,75 %, respectivamente. Los tres materiales mencionados son los que mostraron resistencia por lo menos a un aislamiento de los inoculados y por lo tanto los más resistentes. El testigo (Mil Frutos) mostró un 75,98 % de infección como promedio para los diez aislamientos y fue superado en susceptibilidad sólo por el material denominado Morado del Tablón con 76,82 %. El aislamiento usado para la inoculación en la prueba de campo (GSR-147--raza 1) fue patogénico en siete de las ocho introducciones inoculadas en invernadero, pero no causó infección al material 1 que fue el más resistente en la evaluación de campo. Sin embargo, como se explicó anteriormente, en el campo, cerca del 38 % de plantas de esa introducción fueron muertas por la enfermedad. Es posible que en la inoculación de invernadero, por ser pocas plantas (10 para las dos repeticiones) por cuestiones de azar, no se hayan incluido individuos susceptibles. Si la situación se enfoca desde el

Cuadro 16. Patogenicidad de diez aislamientos de Phytophthora capsici sobre ocho materiales de Chile. Determinación ocho días después de inocular con una suspensión de 5×10^8 zoosporas/ml en la base del tallo. Prueba de invernadero, CATIE, 1986.

Aislamiento	I n t r o d u c c i o n e s							
	1	5	6	7	12	Pico Loro	Morado Tablón	Mil Frutos
CATIE	+	+	+	+	+	+	+	+
GAV-3	+	+	+	+	+	+	+	+
GAV-5	-	+	+	+	+	+	+	+
GSR-147	-	+	+	+	+	+	+	+
GSR-147-2	-	+	+	+	+	+	+	+
GSM-157	-	+	+	+	+	+	+	+
Montaña	-	+	+	+	+	+	+	+
GSM-155	-	-	+	+	+	+	+	+
GSM-158	-	-	+	+	+	+	+	+
GAV-1	-	-	-	+	+	+	+	+

+ patogénico

- no patogénico

Cuadro 17. Porcentajes de infección causados por diez aislamientos de Phytophthora capsici sobre ocho materiales de Chile. Determinación ocho días después de inocular con una suspensión de 5×10^8 zoosporas/ml en la base del tallo. Prueba de invernadero, CATIE, 1986.

Aislamiento	I n t r o d u c c i o n e s							
	1*	5*	6*	7*	12	Pico Loro	Morado Tablón	Mil Frutos
CATIE	30,0	83,3	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	90,0
GAV-3	10,0	10,0	10,0	70,0	100,0	81,6	100,0	100,0
GAV-5	0,0	10,0	40,0	70,0	100,0	91,6	100,0	100,0
GSR-147	0,0	40,0	20,0	22,5	22,5	25,0	30,0	70,0
GSR-147-2	0,0	40,0	30,0	57,5	100,0	60,0	85,7	100,0
GSM-157	0,0	50,0	70,0	80,0	70,0	90,0	100,0	100,0
Montaña	0,0	20,0	25,0	60,0	100,0	30,0	80,0	75,0
GSM-155	0,0	0,0	12,5	30,0	41,6	40,0	75,0	41,6
GSM-158	0,0	0,0	10,0	37,5	75,0	50,0	87,5	41,6
GAV-1	0,0	0,0	0,0	10,0	50,0	30,0	10,0	41,6
Promedio	4	25,3	31,8	53,8	75,9	59,8	76,8	75,9

* Materiales picantes.

punto de vista de patogenicidad, podría concluirse que el aislamiento GSR-147 es adecuado para pruebas de resistencia ya que fue patogénico en 7 de los ocho materiales de Chile inoculados en invernadero y en todos los de campo. Sin embargo desde el punto de vista de virulencia (cuadro 17) este aislamiento tuvo un 28,75 % de incidencia como promedio para los ocho materiales lo cual contrasta con la virulencia del aislamiento CATIE (87,91 % como promedio). Visto de esta manera sería más conveniente la utilización del aislamiento CATIE para inoculaciones con propósitos de seleccionar materiales de Chile con resistencia a P. capsici.

La existencia de un 30 % de susceptibilidad al aislamiento CATIE y un 10 % al aislamiento GAV-3, en el material 1, también da la posibilidad de que la población de tal material no sea homogénea genéticamente, incluyendo una proporción de individuos susceptibles a ciertas variantes del hongo. Esto podría explicar que en el campo el material 1 haya mostrado susceptibilidad en un 38 % y en el invernadero no haya sido afectado por el aislamiento GSR-147. La explicación sería que ese 38 % de mortalidad se debió al efecto de una variante del hongo presente en forma natural en el campo, la cual tiene características similares o iguales de patogenicidad del aislamiento CATIE. Tal posibilidad podría confirmarse inoculando nuevamente al material 1, en el mismo sitio, usando como tratamientos de inoculación a los aislamientos GSR-147, CATIE y un testigo

sin inoculación. Este último tratamiento tendría como objetivo detectar la presencia de inóculo natural en el campo, capaz de afectar cierto porcentaje de la población. Variaciones entre experimentos también fueron observadas por Gooding y Lucas (1959) quienes indicaron que las variaciones resultaron probablemente de diferencias en el ambiente antes y después de las inoculaciones, mencionándose como las más importantes a las ocurridas en intensidad de luz y temperatura.

Es interesante notar que la raza B (aislamiento CATIE), colectada de lesiones en una hoja, a pesar de ser la más patogénica en la prueba de resistencia en invernadero y de poseer tasas de crecimiento y producción de esporangios de las más altas, no afectó al chile cuando se inoculó en laboratorio para determinar las razas fisiológicas. Este tipo de inconsistencia podría deberse a problemas de temperatura o de variaciones entre el cultivar fuente del aislamiento y el cultivar usado en las pruebas en el invernadero. Los valores de temperatura y humedad relativa durante el período del experimento en invernadero se muestran en la figura 12.

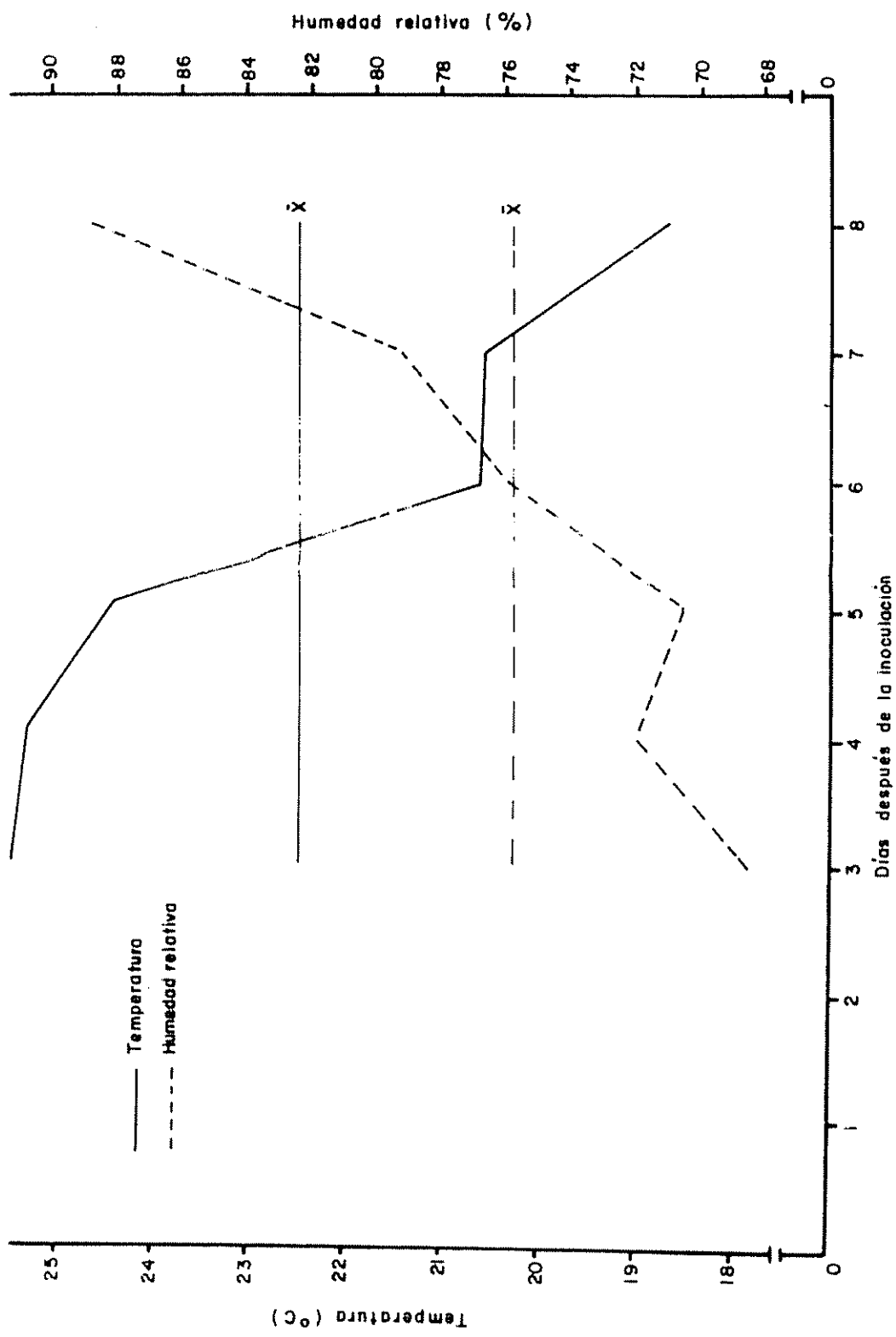


Fig. 12 Promedios diarios de temperatura y humedad relativa para el periodo de estudio en invernadero, de evaluación de la resistencia de ocho materiales de Chile inoculados con *IO* aislamientos de *Phytophthora capsici*. CATIE, 1986

5. CONCLUSIONES

Con base en las interpretaciones de los resultados obtenidos en las diferentes pruebas se presentan las siguientes conclusiones:

1. El proceso de aislamientos de P. capsici se logró con mayor facilidad en el medio AA, con trozos de tejidos de Capsicum sp. obtenidos del borde de la lesión y con un mínimo de tejido necrosado.

2. Entre los aislamientos de P. capsici que se obtuvieron, existen variaciones en su capacidad patógena sobre las especies diferenciales, incluyendo al chile (C. annum), lo que permitió una clasificación preliminar en razas fisiológicas. Tales razas no pertenecen a áreas geográficas determinadas.

3. Existen evidencias de que la patogenicidad de los aislamientos de P. capsici es diferente cuando se inoculan en la base del tallo de plantas completas y en hojas separadas de plantas del mismo hospedero.

4. Tanto entre como dentro de razas de P. capsici estudiadas, existen diferencias en la velocidad de

crecimiento y capacidad de producción de esporangios en medio de cultivo.

5. La capacidad de crecimiento y esporulación no están relacionadas con la zona geográfica de origen de los aislamientos.

6. Existen variaciones en comportamiento entre razas y dentro de razas cuando crecen a diferentes temperaturas y en diferentes medios de cultivo.

7. La capacidad de esporulación de P. capsici no está relacionada con la velocidad de crecimiento vegetativo del hongo.

8. La temperatura cercana a la óptima para crecimiento vegetativo (24°C) es diferente a la cercana óptima para esporulación (18°C).

9. El medio de cultivo fue un factor significativo en la producción de esporangios de ciertas razas (como la 4) pero no fue importante en el caso de la raza 1.

10. La extremada variabilidad de las razas no permitió hacer una caracterización in vitro.

11. Existe una relación directa entre concentración de inóculo de P. capsici y tasa de muerte en las introducciones de chile evaluadas.

12. El efecto del aumento en la concentración de inóculo es más evidente en introducciones susceptibles que en resistentes.

13. En los materiales evaluados, en general, la resistencia a P. capsici está directamente relacionada con el carácter picante del material.

14. Se encontró cierto grado de sinergismo entre P. capsici y P. solanacearum cuando se inocularon ambos patógenos sobre ciertas introducciones de chile

15. Las introducciones identificadas con los números 1, 5 y 6 en el experimento de campo, poseen resistencia a P. capsici.

6. RECOMENDACIONES

1. Hacer estudios de patogenicidad de P. capsici sobre hojas en las plantas y sobre hojas separadas de las plantas en cada uno de los hospedros diferenciales para establecer las relaciones entre evaluaciones de resistencia en invernadero y en laboratorio.

2. Hacer estudios de patogenicidad con inoculaciones de P. capsici en la base del tallo de plantas en macetas y sobre trozos de la base del tallo en cámara húmeda.

3. Hacer estudios de inoculación sobre hojas separadas de las plantas usando la metodología de este estudio para medir las diferencias en tamaño de lesiones, tipo de lesiones y tiempo a esporulación con el fin de establecer tipos de infección. Con base en esos tipos de infección, hacer una reclasificación de las razas fisiológicas.

4. Hacer estudios de inoculación del material 1 en campo, con los aislamientos GSR-147 (raza 1), y CATIE (raza 8) usando un testigo sin inoculación, para confirmar la existencia de variación de la resistencia genética dentro de la población, a esos dos aislamientos y a posibles variantes existentes en el campo.

5. Hacer una selección de individuos resistentes de la prueba de la recomendación 5, con el propósito de iniciar trabajos de mejoramiento genético, introduciendo tal resistencia a variedades comerciales de chile dulce.

6. Evaluar niveles de inóculo de *P. capsici* menores a 5×10^3 zoosporas/ml en inoculaciones en campo sobre plantas de chile (*C. annuum*), con la finalidad de establecer si este nivel es adecuado para estudios de resistencia.

7. Iniciar trabajos de mejoramiento genético seleccionando las plantas resistentes de los materiales identificados como 12 y 17 en la prueba de campo con el propósito de incrementar el porcentaje de individuos resistentes dentro de la población.

8. Hacer estudios de inoculación con *P. solanacearum* y *P. capsici* en la misma planta de chile (*C. annuum*) para confirmar sinergismo entre los dos patógenos.

7. BIBLIOGRAFIA CITADA

- ALFARO, A.; VEGH, I. 1971. La "tristeza" o "seca" del pimiento producida por Phytophthora capsici Leonian. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (Serie Protección Vegetal) (España) no. 1:9-42.
- BARKSDALE, T.H.; PAPAVIDAS, 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.
- BECERRA, J.E. 1975. Control cultural y químico de la pudrición basal del tallo del chile dulce (Capsicum annum L.) causada por Phytophthora capsici L. Tesis Ing. Agr. San José, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 34 p.
- BOLKAN, H.A. 1985. A technique to evaluate tomatoes for resistance to Phytophthora root rot in the greenhouse. Plant Disease (EE.UU.) 69(8):708-709.
- BRINSMEAD, R.B.; RETTKE, M.L.; IRWIN, J.A.G.; RYLEY, M.J.; LANGDON, P.W. 1985. Resistance in Chickpea to Phytophthora megasperma f. sp. medicaginis. Plant Disease (EE.UU.) 69(6):504-506.
- FAWCETT, H.S.; KLOTZ, L.J. 1934. A procedure for inducing the production of the sporangial and swarm stages in certain species of Phytophthora. Phytopathology (EE.UU.) 24:693-694.
- FERNANDEZ VALIELA, M. V. 1978. Introducción a la fitopatología. 3 ed. Buenos Aires, Argentina, INTA. p. 166-169. (INTA. Colección Científica; v.3, tomo 7).

- FERNANDEZ, C. 1983. Phytophthora capsici causante de la marchitez en pimiento (Capsicum annuum) en Chile. Agricultura Técnica (Chile) 43(2):91-93.
- FERREYRA, 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. 209 p.
- GALINDO, J.; ZENTMYER, G.A. 1967. Genetical and cytological studies of Phytophthora strains pathogenic to pepper plants. Phytopathology (EE.UU.) 57(12):1300-1304.
- GOODING, G.V.; LUCAS, G.B. 1959. Effect of inoculum level on the severity of tobacco black shank. Phytopathology (EE.UU.) 49(5):274-276.
- _____; Lucas, G.B. 1959. Factors influencing sporangial formation and zoospore activity in Phytophthora parasitica var. nicotianae. Phytopathology (EE.UU.) 49(5):277-281.
- GRANADA, G.A.; SEQUEIRA, L. 1983. A new selective medium for Pseudomonas solanacearum. Plant Disease (EE.UU) 67(10):1084-1088.
- HENDRIX, J.W. 1967. Light-cholesterol relationships in morphogenesis of Phytophthora palmivora y P. capsici sporangia. Mycologia (EE.UU.) 59:1107-1111.

- HEREDIA, A.; GALINDO, J. 1971. Herencia de la resistencia del chile (Capsicum annuum) al ataque de una cepa de Phytophthora capsici Leo. Proceedings of the American Society for Horticultural Science. Tropical Región (EE.UU) 15:121-125.
- HOOKEER, W.J., ed. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Lima, Perú, Centro Internacional de la papa. p. 40-42.
- HORSFALL, J.G.; DIMOND, A.E., eds. 1960. Plant pathology. 3. The diseased population epidemics and control. New York, Academic Press. p. 547.
- KEELING, B.L. 1985. Responses of differential soybean cultivars to hypocotyl inoculation with Phytophthora megasperma f. sp. glycinea at different temperatures. Plant Disease (EE.UU.) 69(6):524-525.
- KIMBLE, K.A.; GROGAN, R.G. 1960. Resistance to Phytophthora root rot in pepper. Plant Disease Reporter (EE.UU.) 44(11):872-873.
- KO, W.H.; NISHIJIMA, K.A. 1985. Nature of suppression of Phytophthora capsici in a Hawaiian soil. Phytopathology (EE.UU.) 75(6):683-685.
- KREUTZER, W.A. 1937. A Phytophthora rot of cucumber fruit. Phytopathology (EE.UU.) 27(9):955.
- _____; 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)Butler. Centro de Pesquisas do Cacau, (Bahia, Bra.). Boletim Técnico no. 62. p. 8-9.
- _____. 1980? The relative virulence of Phytophthora spp. causing Phytophthora rot of cacao en Bahia. Bahia, Bra., Centro de Pesquisas do Cacau. 8 p. (Mimeografiado).
- LEON, G. DE; GORDON, R. 1985. Cholo, nueva variedad nacional de pimentón. Panamá, Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. s.p.
- LEONIAN, L.H. 1932. Stem and fruit blight of peppers caused by Phytophthora capsici Sp. nov. *Phytopathology* (EE.UU.) 12(9):401-408.
- _____. 1925. Physiological studies on the genus Phytophthora. *American Journal of Botany* (EE.UU.) 12:444-495.
- MALAGUTI, G.; PONTIS, R. 1950. Phytophthora capsici en Venezuela. Caracas, Ven., Dirección de Agricultura, Departamento de Divulgación Agropecuaria. 13 p.
- MANUAL DE recomendaciones cultivos agrícolas de Costa Rica. 1983. Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Boletín Técnico no. 62. p. 102-109.
- MONTERROSO, D.; PAREJA, M., comps. 1985. Inventario de los problemas fitosanitarios de los principales cultivos de la República de Guatemala. s.l., Proyecto Regional de Manejo Integrado de Plagas CATIE/ROCAP. p. 14.

- MORA, B. 1977. Evaluación de la resistencia de cultivares de chile (Capsicum sp. L.) a la pudrición basal causada por Phytophthora capsici L. Tesis Ing. Agr. San José, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 30 p.
- PAPAVIZAS, G.C.; BOWERS, J.H. 1981. Comparative fungitoxicity of Captafol and Metalaxyl to Phytophthora capsici. Phytopathology (EE.UU.) 71(2):123-133.
- POLACH, F.J.; WEBSTER, R.K. 1972. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in Phytophthora capsici. Phytopathology (EE.UU.) 62(1):20-26.
- ROMERO, S. 1963. Inoculación artificial del chile en el campo con Phytophthora capsici. Agricultura Técnica en México (Mex.) 2(2):79-80.
- ROMERO, S.; ERWIN, D.C. 1969. Variation in pathogenicity among single-ospore cultures 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 annum L.). Euphytica (Holanda) 27(3):721-723.
- SATOUR, M.M.; BUTLER, E.E. 1968. Comparative morphological and physiological studies of the progenies from intraespecific matings of Phytophthora capsici. Phytopathology (EE.UU.) 58(2):183-192.
- SAVAGE, E.J.; CLAYTON, C.W.; HUNTER, J.H.; BRENNEMAN, J.A.; LAVIOLA, C.; GALLEGLY, M.E. 1968. Homothallism, Heterothallism, and interspecific hybridization in the

- genus Phytophthora. *Phytopathology* (EE.UU.) 58(7):1004-1021.
- SMITH, P.G.; KIMBLE, K.A.; GROGAN, R.G.; MILLET, A.H. 1967. Inheritance of resistance in Peppers to Phytophthora root rot. *Phytopathology* (EE.UU.) 57(4):377-379.
- STAKMAN, E.C.; HARRAR, J.G. 1957. Principles of plant pathology. New York, Ronald Press. p. 76-77.
- TOMPKINS, C.M.; TUCKER, C.M. 1937. Phytophthora rot of Honeydew melon. *Journal of Agricultural Research* (EE.UU.) 54(12):933-944.
- _____; TUCKER, C.M. 1941. Root rot of pepper and pumpkin caused by Phytophthora capsici. *Journal of Agricultural Research* (EE.UU.) 63(7):417-426.
- VAN DER PLANCK, J.E. 1968. Disease resistance in plants. New York, Academic Press. 206 p.
- VARTANIAN, V.G.; ENDO, R.M. 1985. Overwintering hosts, compatibility types, and races of Phytophthora infestans on tomato in southern California. *Plant Diseases* (EE.UU.) 69(6):516-519.
- WARD, E.W.B.; STOESSL, A. 1972. Postinfectious inhibitors from plants. 3. Detoxification of Capsidiol, an antifungal compound from peppers. *Phytopathology* (EE.UU.) 62(10):1186-1187.
- WEBER, G.F. 1932. Blight of peppers in Florida caused by Phytophthora capsici. *Phytopathology* (EE.UU.) 22:775-780.

BLANT, J.S.; TUCKER, C.M. 1940. A rot of Winter Queen watermelons caused by Phytophthora capsici. Journal of Agricultural Research (EE.UU.) 60(2):73-88.

ZENTMYER, G.A.; ERWIN, D.C. 1970. Development and reproduction of Phytophthora. Phytopathology (EE.UU.) 60(7):1120-1127.

A N E X O S

Cuadro 1A. Análisis de varianza para tasa de crecimiento radial de colonias a 18°C

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Cepa	14	10,61	0,7576	18,33**
Medio de Cultivo	1	108,27	108,27	2619,50**
Cepa x Medio	14	4,187	0,3	7,24**
error	30	1,24	0,041 1	
			C.V. = 4,35	

Cuadro 2A. Análisis de varianza para tasa de crecimiento radial de colonias a 24°C

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Cepa	14	16,82	1,202	49,04**
Medio de Cultivo	1	51,71	51,71	2110,54**
Cepa x Medio	14	5,86	0,419	17,10**
error	30	0,735	0,024	
			C.V. = 2,54	

Cuadro 3A. Análisis de varianza para tasa de crecimiento radial de colonias a 30°C

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Cepa	14	50,7	3,62	95,72**
Medio de cultivo	1	36,04	36,04	952,53**
Cepa x Medio	14	21,52	1,54	40,64**
error	30	1,13	0,038	
			C.V. = 3,43	

Cuadro 4A. Análisis de varianza para β_1 de tasa de producción de esporangios a 18°C.*

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Cepa	14	127,06	9,08	16,38**
Medio de Cultivo	1	170,22	170,22	307,22**
Cepa x Medio	14	124,06	8,86	15,99**
error	30	16,62	0,55	
				C.V= 23,57

* Valores transformados a $\sqrt{\beta_1+1}$ Cuadro 5A. Análisis de varianza para β_1 de tasa de producción de esporangios a 24°C.*

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Cepa	14	27,05	1,93	7,37**
Medio de Cultivo	1	53,95	53,95	205,64**
Cepa x Medio	14	29,48	2,11	8,03**
error	30	7,87	0,262	
				C.V= 23,30

* Valores transformados a $\sqrt{\beta_1+1}$ Cuadro 6A. Análisis de varianza para β_1 de tasa de producción de esporangios a 30°C.*

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Cepa	14	5,57	0,396	9,08**
Medio de Cultivo	1	5,91	5,91	134,92**
Cepa x Medio	14	5,67	0,405	9,23**
error	30	1,32	0,044	
				C.V= 15,90

* Valores transformados a $\sqrt{\beta_1+1}$

Cuadro 7A. Análisis de varianza para mortalidad de 17 introducciones de chile inoculadas con Phytophthora capsici y Pseudomonas solanacearum en prueba de campo.^a

Fuente de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Repeticiones	4	0,087	0,02	0,87
Tipo de inóculo	3	18,36	6,12	445,46**
Rep x T.I.	12	0,16	0,01	0,55
Introducciones	16	4,93	0,31	12,35**
T.I x Variedades	48	2,91	0,06	2,43**
error a			0,014	
error b	256	6,38	0,025	

C.V. = 35,6

^a Valores transformados a arc. sen. $\sqrt{t.m./100}$.