

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA
MAESTRIA EN PROTECCION VEGETAL

**"PATOGENICIDAD, VARIABILIDAD Y MANEJO
BIOLOGICO DE CINCO AISLAMIENTOS DE
Phytophthora capsici Leonian EN HORTALIZAS"**

T E S I S
QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS



PRESENTA:

DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

MARIAN GUADALUPE HERNÁNDEZ ARENAS

Chapingo, Estado de México

Mayo, 2006

**PATOGENICIDAD, VARIABILIDAD Y MANEJO BIOLOGICO DE CINCO
AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* Leonian EN HORTALIZAS**

Tesis realizada por la **Ing. Marian Guadalupe Hernández Arenas** bajo la dirección del Dr. Marcelo Acosta Ramos, aprobada por el Comité Asesor indicado y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

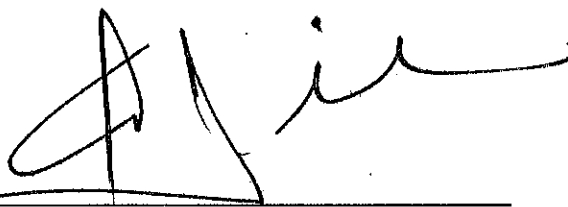
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

DIRECTOR:



Dr. Marcelo Acosta Ramos

ASESOR:



Dr. Victor Manuel Pinto

ASESOR:



Dr. Juan Fernando Solís Aguilar

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de postgrado y culminación de esta investigación.

A mi alma mater la Universidad Autónoma Chapingo, por brindarme todas las facilidades que un alumno pueda desear para su formación académica y obtención de un grado académico.

Al Dr. Marcelo Acosta Ramos, por su amistad, apoyo incondicional y consejo durante mi formación profesional, así como durante la realización y publicación de la presente investigación.

Al Dr. Victor Manuel Pinto y Dr. Juan Fernando Solís Aguilar, por sus valiosos comentarios y aportaciones en la revisión de este trabajo.

A los profesores que han contribuido a mi formación, académica y humana, por compartir con sus alumnos sus conocimientos, experiencia y disposición.

A mis compañeros de generación por la convivencia y agradables momentos compartidos.

DEDICATORIA

A Dios, creador del universo, por permitirme cumplir una meta más y por el enorme regalo de la vida.

A mis papás, J. Guadalupe Hernández Pérez y Susana Arenas Alamirra, por todos los consejos, apoyo y amor que nos regalan a mis hermanos y a mí.

Al mejor hombre que pude haber encontrado, para compartir mi vida y mis alegrías, mi esposo Edwin Barrios Gómez, por su enorme paciencia, comprensión, apoyo y amor.

A mi princesita, mi pequeña Fernanda, por llegar en el momento exacto a iluminar y llenar de felicidad mi vida al convertirme en madre.

A mis hermanos, Maricela, Ricardo, Marisol, Maribel, Leonel, Mariana y Lizeth, por apoyarme y por que cada logro que cumpla es parte de ustedes.

A mi tía Lina Arenas, por estar siempre pendiente de mis hermanos y de mí, por su cariño y apoyo.

A mis amigos de siempre y para siempre, Yunuen Zaragoza, Miguel Mayorga y Alberto Vargas, gracias por enseñarme que es la amistad.

Con cariño,

Marian

DATOS BIOGRAFICOS

Datos generales:

Nombre: Marian Guadalupe Hernández Arenas

Fecha de nacimiento: 05 de septiembre de 1980

Lugar de Origen: Cuautla, Morelos

Profesión: Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia

Formación Académica:

Licenciatura: Universidad Autónoma Chapingo (1998-2002).

Maestría en Ciencias: Programa de Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo (2004-2005).

Experiencia Laboral:

- Encargada de producción de la granja de hongos seta. Xcaret, Quintana Roo.
- Coordinadora de área en la "Aseguradora Agropecuaria de Puebla". Pue, Puebla.
- Asesoría técnica con la empresa "ASIVA" a productores viveristas de Cuautla y Cuernavaca. Morelos.

PROLOGO

El presente trabajo de investigación estuvo enfocado al estudio de la variabilidad y patogenicidad de cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo., obtenidos de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano, provenientes de distintas áreas geográficas de México, con la finalidad de estudiar el comportamiento de dichos aislamientos en frutos de hortalizas durante el almacenamiento, así como en plantas en invernadero y la búsqueda de alternativas de manejo mediante la aplicación de biocontroladores, dado que *P. capsici* es considerado uno de los patógenos más agresivos y dañinos a los cultivos de importancia económica en México y el mundo, debido a su amplia distribución y adaptación a condiciones ambientales y edáficas diversas.

La tesis esta integrada por cuatro capítulos, tres de los cuales son artículos científicos que corresponden a los capítulos 2, 3 y 4. Por el estilo de la tesis, en ocasiones fue necesario repetir cierta información. El primer apartado presenta aspectos generales del trabajo, abarcando Introducción, Objetivos y Revisión de Literatura. En el capítulo II, se presenta el estudio de la patogenicidad de aislamientos de *Phytophthora capsici* en frutos de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano en postcosecha. En el capítulo III, se estudia el comportamiento patogénico y variabilidad de los distintos aislamientos de *P. capsici* en los cultivos hortícolas. Finalmente, en el capítulo IV, se reporta la evaluación de tres productos biológicos comerciales formulados a base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp. y *Trichoderma* sp., para el control del patógeno en hortalizas en invernadero.

INDICE DE CAPITULOS

PATOGENICIDAD, VARIABILIDAD Y MANEJO BIOLOGICO DE CINCO AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* Leonian EN HORTALIZAS

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	i
1. INTRODUCCION GENERAL.....	1
2. OBJETIVOS GENERALES.....	3
3. REVISION DE LITERATURA.....	4
3.1. CULTIVOS HORTICOLAS DE FRUTO.....	4
3.1.1. CALABACITA (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	4
3.1.1.1. Generalidades del cultivo.....	4
3.1.1.2. Producción mundial.....	5
3.1.1.3. Producción nacional.....	5
3.1.2. PEPINO (<i>Cucumis sativus</i> L.)	6
3.1.2.1. Generalidades del cultivo.....	6
3.1.2.2. Producción mundial.....	7
3.1.2.3. Producción nacional.....	7
3.1.3. JITOMATE (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	8
3.1.3.1. Generalidades del cultivo.....	8
3.1.3.2. Producción mundial.....	9
3.1.3.3. Producción nacional.....	10
3.1.4. CHILE BELL (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	11
3.1.4.1. Generalidades del cultivo.....	11
3.1.4.2. Producción mundial.....	12
3.1.4.3. Producción nacional.....	12
3.1.5. CHILE MANZANO (<i>Capsicum pubescens</i> Ruiz y Pavón).....	13
3.1.5.1. Generalidades del cultivo.....	13
3.1.5.2. Producción mundial.....	14
3.1.5.3. Producción nacional.....	14

3.2. EL HONGO <i>Phytophthora capsici</i> Leonian.....	14
3.2.1. Síntomas de la enfermedad.....	15
3.2.2. Organismo causal.....	16
3.2.3. Ciclo de la enfermedad y epidemiología.....	17
3.2.4. Diversidad genética.....	18
3.2.5. Rango de hospedantes.....	19
3.2.6. Estrategias de manejo.....	19
3.3. BIOCONTROLADORES	20
3.3.1. Estrategias de biocontrol.....	22
3.3.2. <i>Trichoderma harzianum</i> raza T-22.....	24
3.3.2.1. PHC® T22®	24
3.3.3. <i>Bacillus</i> sp.	25
3.3.3.1. PHC® Healthy Start® 3-4-3.....	25
3.3.3.2. Bio-Raíz®	26
4. LITERATURA CITADA.....	27

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción de la calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.) en el año agrícola 2004.....	6
Cuadro 2. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción del pepino (<i>Cucumis sativus pepo</i> L.) en el año agrícola 2004.	8
Cuadro 3. Superficie sembrada, producción, rendimiento promedio y valor de la producción del tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) en el año agrícola 2004.	10
Cuadro 4. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción del chile (<i>Capsicum annuum</i> L.) en el año agrícola 2004.	13
Cuadro 5. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción del chile manzano (<i>Capsicum pubescens</i> Ruiz y Pavón) en el año agrícola 2004.	14

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Países productores principales de calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.) y su participación en la producción mundial (%) para el año 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999a).....	5
Figura 2. Países productores principales de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) y su participación en la producción mundial (%) para el año 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999b).....	7
Figura 3. Países productores principales de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) y su participación en la producción mundial (%) en 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999c).....	9
Figura 4. Países productores principales de chile (<i>Capsicum annuum</i> L.) y su participación en la producción mundial (%) para el año 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999d).....	12

CAPITULO II.

PATOGENICIDAD DE AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* Leonian EN HORTALIZAS EN POSTCOSECHA

RESUMEN.....	32
ABSTRACT.....	33
1. INTRODUCCION.....	34
2. OBJETIVO.....	35
3. MATERIALES Y METODOS.....	35
3.1. Material vegetal.....	35
3.2. Aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> Leonian.....	35
3.3. Reactivación de los aislamientos.....	35
3.4. Montaje del experimento.....	36
3.5. Variables evaluadas.....	37
3.6. Diseño del experimento.....	37
3.7. Análisis estadístico.....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1. Incidencia de la pudrición de frutos inducida con cinco aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> Leo.....	39
4.1.1. Aislamiento de calabacita.....	39
4.1.2. Aislamiento de pepino.....	41
4.1.3. Aislamiento de jitomate.....	42
4.1.4. Aislamiento de chile manzano.....	43
4.1.5. Aislamiento de chile bell.....	43
4.2. Severidad de cinco aislamientos de <i>P. capsici</i>	46
4.2.1. Aislamiento de calabacita.....	46
4.2.2. Aislamiento de pepino.....	47
4.2.3. Aislamiento de jitomate.....	48
4.2.4. Aislamiento de chile manzano.....	49
4.2.5. Aislamiento de chile bell.....	50
5. CONCLUSIONES.....	54
6. LITERATURA CITADA.....	55
ANEXOS.....	58

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos, aislamientos de <i>P. capsici</i> , número de frutos y repeticiones empleados en el experimento.....	38
Cuadro 2. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por los aislamientos de <i>P. capsici</i> , 96 horas después de su inoculación en cinco hortalizas de fruto.	40
Cuadro 3. Comparación de medias de la incidencia de la pudrición de frutos (%) causada por <i>P. capsici</i> entre aislamientos y en frutos inoculados a las 96 horas después de la inoculación.....	45
Cuadro 4. Severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por cinco aislamientos de <i>P. capsici</i> , 96 horas después de su inoculación en cinco hortalizas de fruto.	52
Cuadro 5. Comparación de medias de severidad (mm) entre aislamientos y entre frutos inoculados a las 96 horas después de la inoculación.....	52

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por <i>P. capsici</i> aislado de calabaza e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la inoculación.	39
Figura 2. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por <i>P. capsici</i> aislado de pepino e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y manzano (MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la inoculación.....	41
Figura 3. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por <i>P. capsici</i> aislado de jitomate e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ)	

comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la
inoculación..... 42

Figura 4. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por *P. capsici*
aislado de chile manzano e inoculado en frutos de calabacita
(CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano
(MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de
la inoculación. 43

Figura 5. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por *P. capsici*
aislado de chile bell e inoculado en frutos de calabacita (CB),
pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ)
comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la
inoculación. 44

Figura 6. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de
frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de calabacita e
inoculado en frutos de calabaza (CB), pepino (PP), jitomate (JT),
chile bell (BL) y chile manzano (MZ). 46

Figura 7. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de
frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de pepino e inoculado
en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell
(BL) y chile manzano (MZ). 47

Figura 8. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de
frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de jitomate e
inoculado en frutos de calabaza (CB), pepino (PP), jitomate (JT),
chile bell (BL) y chile manzano (MZ)..... 48

Figura 9. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de
frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de chile manzano e
inoculado en frutos de calabaza (CB), pepino (PP), jitomate (JT),
chile bell (BL) y chile manzano (MZ)..... 50

Figura 10. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de
frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de chile bell e
inoculado en frutos de calabaza (CB), pepino (PP), jitomate (JT),
chile bell (BL) y chile manzano (MZ)..... 51

CAPITULO III.

VARIABILIDAD Y PATOGENICIDAD DE CINCO AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* Leo. EN HORTALIZAS

RESUMEN.....	62
ABSTRACT.....	63
1. INTRODUCCION.....	64
2. OBJETIVO.....	65
3. MATERIALES Y METODOS.....	66
3.1. Material vegetal.....	66
3.2. Aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> Leonian.....	66
3.3. Preparación y cuantificación del inóculo.....	66
3.4. Inoculación de los aislamientos de <i>P. capsici</i>	67
3.5. Variables evaluadas.....	67
3.6. Diseño del experimento.....	68
3.7. Análisis estadístico.....	68
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	69
4.1. Respuesta de aislamientos de <i>P. capsici</i> Leo. en plantas de calabacita.	69
4.2. Respuesta de aislamientos de <i>P. capsici</i> Leo. en plantas de pepino.....	71
4.3. Respuesta de aislamientos de <i>P. capsici</i> Leo. en plantas de jitomate.....	73
4.4. Respuesta de aislamientos de <i>P. capsici</i> Leo. en plantas de chile bell.....	75
4.5. Respuesta de aislamientos de <i>P. capsici</i> Leo. en plantas de chile manzano.....	77
5. CONCLUSIONES.....	82
6. LITERATURA CITADA.....	83

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos, hortalizas, unidad experimental y repeticiones evaluados para determinar la variabilidad patogénica de <i>P. capsici</i> Leo. en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano.....	68
Cuadro 2. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por cinco aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.) a los 1 y 8 días después de la inoculación (DDI).....	69
Cuadro 3. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por cinco aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) a los días 3 y 8 después de la inoculación (DDI).....	71
Cuadro 4. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por cinco aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de jitomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) a los 1 y 5 días después de la inoculación (DDI).....	73
Cuadro 5. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por cinco aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de chile bell (<i>Capsicum annuum</i> L.) a los 1 y 5 días después de la inoculación (DDI).....	75
Cuadro 6. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por cinco aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de chile manzano (<i>Capsicum pubescens</i> Ruiz y Pavón) a los 1 y 4 días después de la inoculación (DDI).....	77
Cuadro 7. Promedio de la incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez, inducidos por <i>Phytophthora capsici</i> Leo. en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano en la fecha final* de evaluación de cada especie.....	78
Cuadro 8. Promedio de la incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez final, inducidos por cinco aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> Leo. en hortalizas.....	79

CAPITULO IV.

MANEJO BIOLOGICO DE *Phytophthora capsici* Leo. EN CINCO HORTALIZAS

RESUMEN.....	87
ABSTRACT.....	88
1. INTRODUCCION.....	89
2. OBJETIVO.....	90
3. MATERIALES Y METODOS.....	91
3.1. Material vegetal.....	91
3.2. Aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> Leonian.....	91
3.3. Preparación y cuantificación del inóculo.....	91
3.4. Aplicación de los biocontroladores.....	92
3.5. Variables evaluadas.....	92
3.6. Diseño del experimento.....	93
3.7. Análisis estadístico.....	93
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	95
4.1. Manejo biológico de <i>P. capsici</i> Leo. en calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	95
4.2. Manejo biológico de <i>P. capsici</i> Leo. en pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)...	96
4.3. Manejo biológico de <i>P. capsici</i> Leo. en tomate (<i>Lycopersicon</i> <i>esculentum</i> Mill.).....	98
4.4. Manejo biológico de <i>P. capsici</i> Leo. en chile bell (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	100
4.5. Manejo biológico de <i>P. capsici</i> Leo. en chile manzano (<i>Capsicum</i> <i>pubescens</i> Ruiz y Pavón).....	102
5. CONCLUSIONES.....	105
6. LITERATURA CITADA.....	106

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos, hortalizas, productos, repeticiones y número de plantas evaluados para el manejo biológico de <i>P. capsici</i> en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano.....	94
Cuadro 2. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.) tratadas con diferentes biocontroladores a los 3 y 9 días después de la inoculación (DDI).....	95
Cuadro 3. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) tratadas con diferentes biocontroladores a los 3 y 10 días después de la inoculación (DDI).....	97
Cuadro 4. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de jitomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) a los 2 y 8 días después de la inoculación (DDI).....	98
Cuadro 5. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por <i>Phytophthora capsici</i> en plantas de chile bell (<i>Capsicum annuum</i> L.) tratadas con diferentes biocontroladores a los 2 y 8 días después de la inoculación (DDI).....	100
Cuadro 6. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por <i>P. capsici</i> en chile manzano (<i>C. pubescens</i> Ruiz y Pavón) tratadas con diferentes biocontroladores a los 2 y 8 días después de la inoculación (DDI).....	103

PATOGENICIDAD, VARIABILIDAD Y MANEJO BIOLOGICO DE CINCO AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* Leonian EN HORTALIZAS

PATHOGENICITY, VARIABILITY AND BIOLOGICAL MANAGEMENT OF FIVE ISOLATIONS OF *Phytophthora capsici* Leonian IN VEGETABLES

Marian Guadalupe Hernández-Arenas¹, Marcelo Acosta-Ramos²

RESUMEN

Cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian, cada uno obtenido de calabaza y pepino provenientes de Morelos, jitomate y chile bell de Sinaloa y chile manzano del Estado de México, fueron inoculados en frutos y plantas de las hortalizas mencionadas, el objetivo fue evaluar la agresividad y virulencia de los aislamientos en postcosecha e invernadero y la eficiencia de los productos comerciales T22®, Healthy Start® 3-4-3 y Bioralz®, para el manejo de *P. capsici*. Se evaluó la incidencia (%) y severidad (mm) de la enfermedad y, en frutos, diámetro de la lesión (mm). Los aislamientos de *P. capsici* indujeron lesiones, presentando la incidencia y porcentaje de infección mayor al inocularlos la especie donde se aislaron originalmente. La aplicación de biocontroladores, no redujo de manera significativa la incidencia o el porcentaje de infección en las plantas.

Palabras clave: *Phytophthora capsici* Leo., variabilidad, agresividad, biocontrol.

ABSTRACT

Five isolations of *Phytophthora capsici* Leonian, every one from each species, were taken from zucchini squash and cucumber from Morelos, tomato and bell pepper from Sinaloa, and *Manzano* chili pepper from the State of Mexico. Then, the five isolations were inoculated into the fruit and the plants above mentioned. The aim was to evaluate the aggressiveness and virulence of the isolations in the postharvest and under greenhouse conditions and the efficiency of commercial products T22®, Healthy Start® 3-4-3 and Bioralz®, for the management of *P. capsici*. The incidence (%) and severity (%) of disease and the diameter of the rotted area (mm) on fruit were evaluated. All the isolations produced rotting, but there was a higher incidence of rotting and infection when the original plants were inoculated with the isolations that were taken from the same species. The application of biocontrol products did not significantly reduce the incidence of infection in plants.

Key words: *Phytophthora capsici* Leo., variability, aggressiveness, biocontrol.

¹ Autor de tesis/ Thesis writer

² Director de Tesis/Thesis Director

1. INTRODUCCION GENERAL

La importancia de los cultivos hortícolas en México es mayor año tras año, principalmente las hortalizas de fruto y con destino al mercado exterior debido a la aportación de divisas. Además, dichas hortalizas son usadas como alimento, dado que proporcionan vitaminas, sales minerales y nutrientes esenciales al hombre (Pérez, *et al.*, 1997). En el proceso productivo de todos los cultivos existen una serie de factores que afectan el desarrollo óptimo de las plantas de interés, tales como condiciones climáticas, edáficas y biológicas, dentro de estas últimas, la presencia de plagas y enfermedades, minimiza de manera importante la producción y ganancias que se esperan obtener (Namesny, 1996).

El género *Phytophthora* comprende alrededor de 60 especies y la mayoría son patógenos importantes de las plantas cultivadas, entre ellos, una de las especies más dañinas es *P. capsici*, descubierta por León H. Leonian en 1922 en Nuevo México afectando pimiento (*Capsicum* sp.) (Hausbeck y Lamour, 2004) y en 1956 fué encontrada por Galindo en México dañando chile y después en calabaza, pepino, jitomate y fresa cultivos en los que ocasiona daños de 80 a 100% (Romero, 1988).

El hongo *P. capsici* afecta un amplio número de cucurbitáceas y solanáceas alrededor del mundo, existen reportes de que afecta 49 especies de plantas cultivadas, representadas por 14 familias, de las cuales ocho son altamente susceptibles (Tian y Babadoost, 2004). Debido a este rango amplio de hospedantes y su distribución mundial, durante años se ha supuesto la existencia de variación genética intraespecífica en aislamientos de cucurbitáceas y solanáceas, debido al estudio de resistencia a fungicidas y virulencia (Ristaino, 1990). La determinación de la variabilidad entre aislamientos de *P. capsici* es esencial para el desarrollo de medidas efectivas de control de este patógeno en campos y almacenes (Tian y Babadoost, 2004), pues se han observado diferencias en características morfológicas, culturales y físicas entre aislamientos de esta especie (Erwin, 1983).

El daño que produce este patógeno, se hace visible en raíces, tallos e incluso ramas y frutos en contacto con el suelo contaminado. En los frutos, aparecen lesiones oscuras y aguanosas, posteriormente se desarrolla el micelio del hongo en la superficie, causando pérdidas importantes durante el almacenamiento (Hausbeck y Lamour, 2004). Muchas de estas contaminaciones ocurren desde el campo y no fueron percibidas en el momento de selección o por un manejo deficiente durante el empaque (Namesny, 1999), produciendo pérdidas económicas incluso durante la comercialización.

Por otro lado, la importancia e impulso que han tenido los medios biológicos para el manejo de enfermedades, sugieren su estudio y determinación de eficacia contra *P. capsici*. Existen numerosos organismos empleados en la actualidad como agentes de biocontrol, entre los más importantes se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares, especies del género *Trichoderma* sp. y las rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPRs), entre las cuales las más conocidas pertenecen al género *Bacillus* sp. (Cook, 1985), sin embargo, la eficacia de tales biocontroladores ha sido poco estudiado en México.

A pesar de que existen trabajos previos que señalan la variabilidad y formas de manejo de *P. capsici*, pocos o ninguno de ellos se ha realizado en México, por lo que se desconoce la situación actual del patógeno en este país. Por tal motivo, se plantea la presente investigación como una herramienta que permita conocer la variabilidad y patogenicidad entre aislamientos de *Phytophthora capsici* tanto en invernadero como en postcosecha, para posteriormente desarrollar y evaluar métodos de manejo biológico que permitan integrarse a un manejo integrado y con ello tratar de reducir las pérdidas ocasionadas por dicho patógeno.

2. OBJETIVOS GENERALES

- 1) Conocer la variabilidad entre aislamientos de *Phytophthora capsici* provenientes de distintas áreas geográficas y especies de hortalizas en invernadero y postcosecha.
- 2) Determinar la patogenicidad de cinco aislamientos de *P. capsici* obtenidos y reinoculados en calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano.
- 3) Evaluar el efecto de biocontroladores en el manejo de *P. capsici* en cinco hortalizas de fruto.

3. REVISION DE LITERATURA

3.1. CULTIVOS HORTICOLAS DE FRUTO

Las hortalizas en México, constituyen uno de los subsectores en la agricultura nacional que guarda una singular importancia debido a tres factores fundamentales (Claridades Agropecuarias, 1999c):

- a) El alto valor de la producción, ya que es una de las áreas en las que los costos de producción y la inversión son elevados.
- b) Las divisas que genera para el país, ya que una parte importante de la producción tiene una acentuada vocación exportadora.
- c) La capacidad generadora de empleos, muy superior a otros productos.

3.1.1. CALABACITA (*Cucurbita pepo* L.)

3.1.1.1. Generalidades del cultivo

La calabacita es una hortaliza perteneciente a la familia de las Cucurbitáceas teniendo su origen en México, Centroamérica y Sudamérica, cuya aplicación principal es el consumo de sus flores, semillas y mayormente frutos en estado joven, sin haber alcanzado su tamaño definitivo, empleándolos en una gran variedad de usos culinarios (Maroto, 1989). El color del fruto es variable, se les encuentra desde blancos, amarillos, siendo los verdes los más frecuentes y utilizados en México (Pérez, *et al.*, 1997). La cosecha de frutos es escalonada y se realiza manualmente ya que la epidermis de estos es sumamente delicada y sensible a todo tipo de maltrato, por lo que es altamente perecedera, durando de 1 – 2 semanas en calidad comercial (Decoteau, 2000). El tipo de empaque varia de acuerdo al destino de venta y la demanda de estos; desde cajas de cartón recubiertas con lámina plástica y papel para absorción de humedad, separación de frutos (mercado de exportación) y cajas de cartón simples (Maroto, 1989); mientras que en México, las más comunes son cajas de madera recubiertas con papel y hojas de la misma planta.

3.1.1.2. Producción mundial

México se ubica, de acuerdo a la FAO, como el primer país exportador de calabacita, con cerca del 40% de las exportaciones mundiales, sin embargo, los países productores principales son India, China, Rumania, Ucrania y México (Figura 1).

La venta de calabacita al extranjero, a pesar de no alcanzar los volúmenes de otras hortalizas como el jitomate y pepino, se ubica como aquellas de segunda importancia, de tal forma que su participación dentro del total de los volúmenes exportados es de cerca del 7% (Claridades Agropecuarias, 1999a).

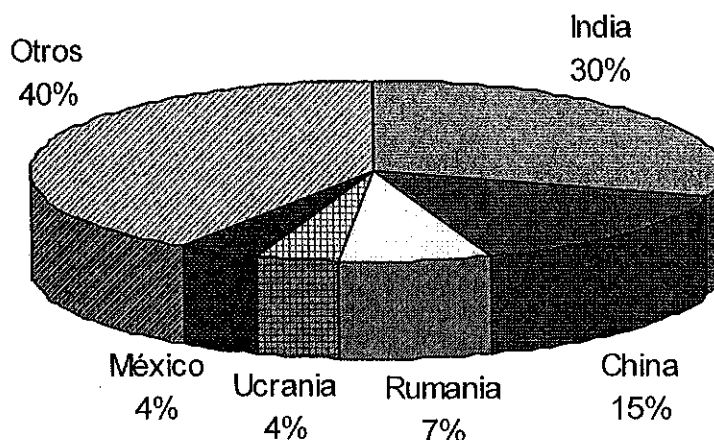


Figura 1. Países productores principales de calabacita (*Cucurbita pepo* L.) y su participación en la producción mundial (%) para el año 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999a).

3.1.1.3. Producción nacional

La calabacita (*Cucurbita pepo*) es la única especie del género *Cucurbita*, que se cultiva a nivel comercial en México, destinándose gran parte de la producción para el mercado de exportación a los Estados Unidos y Canadá principalmente (Pérez, *et al.*, 1997). De acuerdo con la SAGARPA (2005), los estados productores principales por superficie sembrada fueron: Puebla, Sonora, Hidalgo, Sinaloa y Morelos entre otros, los cuales generaron un valor de la producción de \$1' 122, 930, 446 pesos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción de calabacita (*Cucurbita pepo* L.) en el año agrícola 2004.

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Pesos)
Puebla	4,006	41,516	11.15	105,042,065
Sonora	2,398	41,685	17.60	178,272,153
Hidalgo	2,118	21,189	11.03	83,118,225
Sinaloa	2,006	36,547	23.83	190,740,100
Morelos	1,672	28,423	16.99	110,759,180
Otros	9,898	144,322	14.58	454,998,723
Total	22,098	313,682	15.06	1'122,930,446

Fuente: SAGARPA (2005).

3.1.2. PEPINO (*Cucumis sativus* L.)

3.1.2.1. Generalidades del cultivo

El pepino es otro integrante de la familia Cucurbitaceae, originario de la India y cultivado en Asia desde hace 3,000 años, posteriormente conocido en Grecia, Italia y China, distribuyéndose por toda Europa en el año 1300 e introducido a América en 1539 (Decoteau, 2000), sin embargo, Maroto (1989), menciona que su origen más probable fue en África, donde ya era conocido por los egipcios.

Esta hortaliza se utiliza principalmente para ensaladas, encurtidos, aceite comestible de sus semillas e incluso sus hojas tiernas como un sustituto de las espinacas (Messiaen, 1979). Los frutos son de tamaño y forma muy variable (oblongos, cilíndricos, alargados) y su epidermis puede ser de color amarillo, verde, blanco, aunque significativamente más gruesa y resistente al maltrato en postcosecha que la calabacita; la pulpa es siempre blanca y con alto contenido de agua (Maroto, 1989).

La cosecha de los frutos es escalonada por un periodo de un mes aproximadamente, aunque la producción se incrementa con el cultivo en invernadero, donde también los rendimientos que alcanza son mayores que en campo abierto. Los frutos son cosechados, lavados con cloro, agua caliente, cepillados, secados y recubiertos de cera especial para posteriormente

seleccionarlos por calibres, de acuerdo a la longitud, uniformidad en color, etc. (Decoteau, 2000). El tipo de empaque más utilizado son cajas de cartón enceradas y puede tener una vida postcosecha de 20 a 30 días a una temperatura de 20°C (Namesny, 1999).

3.1.2.2. Producción mundial

El cultivo de pepino se realiza prácticamente en todo el mundo. De acuerdo a Claridades Agropecuarias (1999b), aproximadamente el 70% de la producción mundial de pepino se encuentra concentrada en cinco países, China, Irán, Turquía, Estados Unidos y Japón (Figura 2).

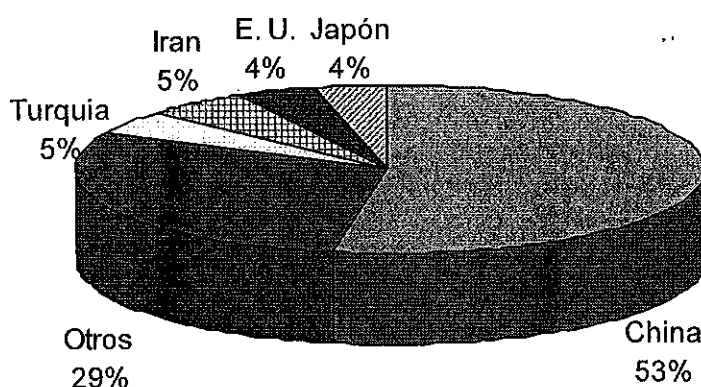


Figura 2. Países productores principales de pepino (*Cucumis sativus* L.) y su participación en la producción mundial (%) para el año 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999b).

3.1.2.3. Producción nacional

Actualmente, México es el segundo exportador mundial de esta hortaliza y el primer proveedor del mercado americano de pepino. La producción principal se lleva a cabo en el estado de Sinaloa, en el noroeste del país, aprovechando las ventajas que le proporciona la cercanía del mercado estadounidense y la explotación de un nicho de mercado para hortalizas de invierno (Claridades Agropecuarias, 1999b). Otros estados productores importantes en México son: Morelos, Michoacán, Baja California y Jalisco entre otros (Cuadro 2), los cuales tienen como destino de venta principalmente el mercado nacional (SAGARPA, 2005), generando ganancias económicas

importantes para los horticultores, a pesar de que se requiere una inversión inicial alta.

Cuadro 2. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción del pepino (*Cucumis sativus* pepo L.) en el año agrícola 2004.

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Pesos)
Sinaloa	4,351	145,360	33.79	285,499,950
Morelos	1,563	33,311	22.58	79,173,170
Michoacán	1,190	23,482	20.29	48,149,353
Baja California	1,148	33,714	29.36	240,370,586
Jalisco	667	11,448	17.32	27,097,930
Otros	5,018	103,369	20.59	232,433,757
Total	13,937	350,684	25.44	912,724,746

Fuente: SAGARPA (2005).

3.1.3. JITOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

3.1.3.1. Generalidades del cultivo

El tomate o jitomate pertenece a la familia Solanaceae, al igual que el chile (*Capsicum annum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), entre otras, siendo la hortaliza más extensamente cultivada a nivel mundial después de la papa. Es originaria de Centroamérica, específicamente de México, Perú, Bolivia y Ecuador, donde aún se encuentran parientes silvestres comestibles (Pérez, *et al.*, 1997). Su nomenclatura se deriva de los términos aztecas "tomatl" y "xitomate" y en un principio fue utilizada como planta ornamental en su introducción a Europa en el siglo XVI y a mediados del siglo XVIII ya era cultivada como alimento en Italia (Messiaen, 1979). Su contenido alto en vitaminas hace al tomate una hortaliza fundamental y de gran uso en la alimentación mundial actual, pues contiene vitamina A, B y C, ácido cítrico, ácido málico y pectina (Decoteau, 2000). El tomate es una hortaliza de alto valor económico y un cultivo exigente, ya que se deben cuidar la selección de híbrido o variedad, sustrato para el cultivo sin suelo, fertilización, riegos, podas, factores bióticos y abióticos, etcétera, con el fin de que la planta pueda expresar su máximo potencial productivo y así obtener la mayor cosecha posible (Nuez, 2001).

La última fase en el proceso productivo es la recolección, la cual se lleva a cabo principalmente a mano, de forma escalonada y en estado verde-maduro o pintón con destino al mercado en fresco, ya sea para el país o el extranjero. Los frutos pasan por un proceso de lavado, selección por color, tamaño, firmeza, etc., separando aquellos frutos con defectos físicos o enfermos, de manera manual o con maquinaria automática (Maroto, 1989). Después de esto, se da el empaque, utilizando materiales diversos como madera, cartón y plásticos, además de una gama amplia de tamaños, de acuerdo a las exigencias del mercado y con el cuidado necesario, ya que es durante el proceso de empaque y comercialización cuando se pierde del 11 al 14% del tomate, en su mayor parte debido a la acción de patógenos, siendo principalmente causada por hongos (Nuez, 2001). Una vez empacados los frutos, se pueden almacenar con temperaturas que van de los 7 a 15°C, con lo que tendrán una vida útil de hasta tres semanas, dependiendo del estado de madurez en que se encuentren (Namesny, 1999).

3.1.3.2. Producción mundial

De acuerdo con datos de Claridades Agropecuarias (1999c), para 1998, países como Estados Unidos, Turquía, Italia, Egipto e India acapararon el mayor porcentaje de la producción mundial de tomate (Figura 3).

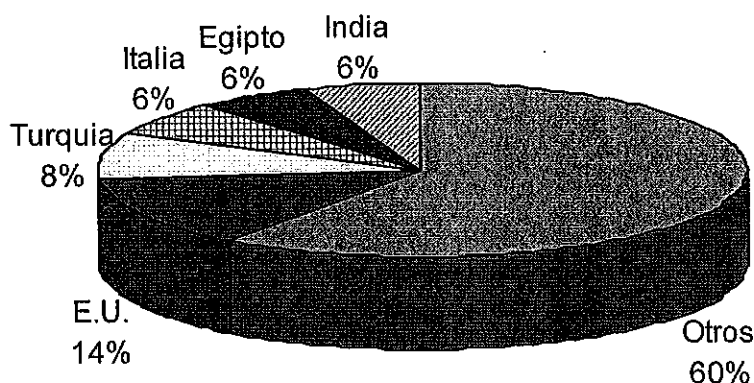


Figura 3. Países productores principales de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y su participación en la producción mundial (%) en 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999c).

Durante el año 2000, el tomate ocupó casi tres millones de hectáreas cultivadas y un volumen de producción superior a los setenta millones de toneladas, siendo Egipto, Marruecos, Turquía, China, Italia, España, Grecia, Estados Unidos, México y los países Centroamérica los productores principales, concentrando el 75% de la oferta mundial de producto fresco (Nuez, 2001).

3.1.3.3. Producción nacional

En México, el jitomate se ubica entre las cuatro hortalizas más importantes cultivadas a campo abierto, incrementándose cada vez más el cultivo bajo invernadero y cubiertas plásticas, con una superficie aproximada de 78,000 hectáreas, con lo que se genera el 22% de las divisas por exportaciones agrícolas (Nuez, 2001).

Los estados de Sinaloa, Baja California Norte, Morelos, San Luis Potosí y Michoacán son los productores principales para consumo nacional y mercado externo (Pérez, *et al.*, 1997), generando en conjunto un valor de la producción de \$ 3, 672, 754, 414 pesos (Cuadro 3) con destino a los Estados Unidos y Canadá principalmente, y el norte de Europa, situando a México como el segundo país exportador a nivel mundial (Nuez, 2001).

Cuadro 3. Superficie sembrada, producción, rendimiento promedio y valor de la producción del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el año agrícola 2004.

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Pesos)
Sinaloa	10,202	346,768	34.05	1,281,191,400
San Luis Potosí	5,470	105,585	26.26	698,855,487
Michoacán	4,573	132,370	29.36	699,676,138
Jalisco	1,861	67,311	36.22	540,808,000
Nayarit	1,079	19,840	19.99	37,412,200
Otros	4,360	111,631	25.60	414,811,189
Total	27,545	783,505	30.48	3,672,754,414

Fuente: SAGARPA (2005).

3.1.4. CHILE BELL (*Capsicum annuum* L.)

3.1.4.1. Generalidades del cultivo

El chile es una planta perteneciente a la familia Solanaceae, tuvo su origen en América Central, considerando a México como centro de origen primario y Guatemala como secundario (Decoteau, 2000), sin embargo, Maroto (1989) mencionó el área de Perú y Bolivia como centro de origen de esta planta, de donde se expandió al resto de Centroamérica, posteriormente se introdujo a Europa a través de España por medio de Colón en su primer viaje y para el siglo XVI ya estaba distribuido por otros países de Europa, Asia y África (Sobrino, 1989). El género *Capsicum* comprende de 20 a 30 especies en los trópicos y subtrópicos de Sudamérica, reconociéndose principalmente cinco especies cultivadas: *C. annuum* L., *C. chinense* Jacquin, *C. pendulum* Willdenow, *C. frutescens* L. y *C. pubescens* Ruiz y Pavón, este último conocido en nuestro país con el nombre común de chile manzano (Pérez, *et al.*, 1997).

El chile bell o chile morrón, posee una gran variabilidad de tamaños, formas, colores y sabores (Decoteau, 2000), sin embargo los más comunes son los verdes y dulces, los cuales tienen alto contenido en vitamina A y C, potasio y ácido ascórbico (Maroto, 1989). Su cultivo en México se da a campo abierto y bajo invernadero; su ciclo de producción va de los 70 a 90 días después del trasplante, dependiendo de la variedad o híbrido. La cosecha se realiza de manera manual y escalonada cada 7 a 12 días, para el mercado en fresco los frutos habrán alcanzado su tamaño óptimo de 8 a 10 cm de largo por lo mismo de ancho, así como el contenido de sólidos solubles necesario y manteniendo su color verde. Posteriormente, los frutos pasan por un proceso de lavado, selección por tamaño y color, después el empaque en charolas o cajas de cartón y finalmente su almacenamiento a una temperatura de 10°C, manteniéndose en buenas condiciones hasta por dos semanas (Decoteau, 2000). Se calcula que un 40% de las pérdidas del pimiento en poscosecha se debe a enfermedades de origen infeccioso, causadas principalmente por hongos (Namesny, 1999).

3.1.4.2. Producción mundial

Los países productores principales de chile verde, incluyendo todas sus variedades son Turquía, México, España, Nigeria y Estados Unidos (Figura 4). Los intercambios comerciales están concentrados en tres áreas: para abastecimiento en Europa, principalmente de la Cuenca del Mediterráneo, la producción de México para Estados Unidos principalmente y la que se produce en el este asiático, con producto proveniente de China e India, para abastecer a países como Singapur o Hong Kong (Namesny, 1996).

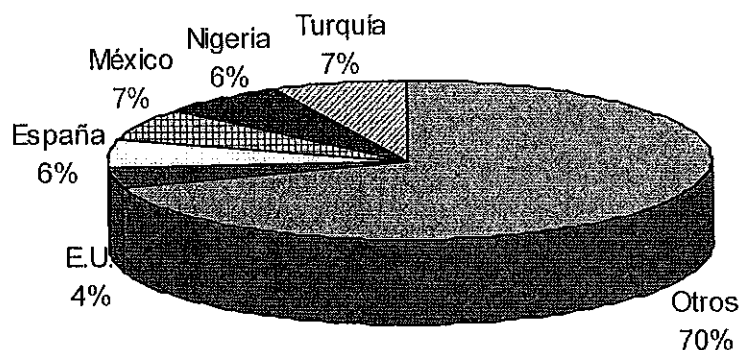


Figura 4. Países productores principales de chile (*Capsicum annum* L.) y su participación en la producción mundial (%) para el año 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999d).

3.1.4.3. Producción nacional

En México, el chile ha sido cultivado y usado como alimento en la dieta diaria de la población desde tiempos precolombinos; después del jitomate y la papa, el chile es la solanácea más importante como condimento, en conserva, fresco o seco, etcétera (Sobrino, 1989).

El chile representa hoy en día, uno de los cultivos principales de la agricultura de riego en los estados del Centro y Norte del país, siendo los estados productores principales Chihuahua, Sinaloa, Zacatecas y Durango. Sin embargo, datos específicos para chile bell muestran que la producción se concentra en tres estados principalmente, Baja California, Baja California Sur y Sinaloa (Cuadro 4), con destino al mercado de exportación en Estados Unidos (SAGARPA, 2005).

Cuadro 4. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción del chile (*Capsicum annuum* L.) en el año agrícola 2004.

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Pesos)
Baja California	67	1,256	18.74	6,673,058
Baja California Sur	163	10,547	64.71	84,381,840
Sinaloa	1,400	53,069	38.11	496,665,900
Total	1,630	64,872	39.98	587,720,798

Fuente: SAGARPA (2005).

3.1.5. CHILE MANZANO (*Capsicum pubescens* Ruiz y Pavón)

3.1.5.1. Generalidades del cultivo

El chile manzano es originario de las partes altas de Sudamérica, principalmente de Bolivia, Perú y Chile; y se le encuentra desde México hasta Perú. Su cultivo se ubica en las tierras altas de América central y Sudamérica, conocido en Sudamérica como "rocoto" y en México como manzano o perón. Se distingue por sus flores moradas, frutos de color amarillo, naranja e incluso rojos y semilla negra; tolera temperaturas frescas (5 a 21.5°C), pero, no tolera heladas (Cano, 1998). En México, generalmente se cultiva entre los 1,700 y 2,500 metros de altitud, es decir, es una planta que se adapta en regiones con climas templados y fríos como Zitácuaro, Tacámbaro y Morelia en el estado de Michoacán, Coatepec de Harinas y San Miguel Tlaixpan en el Estado de México; Zacapoaxtla y Tlatlauquitepec en el estado de Puebla, entre otros.

Existe una gran diversidad de este tipo de chile en cuanto a color, forma y tamaño del fruto; por lo común, los frutos anaranjados son más preferidos que los amarillos y rojos, mientras que los de forma de manzana o cuadrada se prefieren sobre los que presentan una forma de pera. La producción de chile manzano, se realiza en huertos semicomerciales, no mayores de cinco hectáreas, donde generalmente se le encuentra asociado con árboles frutales avejentados de aguacate y durazno, que le proporcionan sombra y sirven de tutores a las plantas (Pérez, *et al.*, 1997).

3.1.5.2. Producción mundial

Debido a la rusticidad de este cultivo y a su alto nivel de pungencia, lo que lo ubica entre los chiles más picosos, el chile manzano es poco conocido a nivel mundial, exceptuando los países centro de origen que cuentan con especies criollas y silvestres, principalmente para consumo local (Cano, 1998).

3.1.5.3. Producción nacional

En México, la producción de chile manzano ha tenido mayor aceptación en los últimos 10 años, sin embargo debido a la falta de variedades y poco estudio en el mejoramiento genético, su distribución ha quedado restringida al Estado de México donde se localizan alrededor de 143 hectáreas sembradas (Cuadro 5), las cuales generan un valor mayor a los \$11, 340, 000 pesos (SAGARPA, 2005).

Cuadro 5. Superficie sembrada, producción, rendimiento y valor de la producción del chile (*Capsicum pubescens* Ruiz y Pavón) en el año agrícola 2004.

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Pesos)
México	143	652	4.55	11,340,000
Total	143	652	4.55	11,340,000

Fuente: SAGARPA (2004).

3.2. EL HONGO *Phytophthora capsici* Leonian

Este patógeno fué descubierto por Leon H. Leonian (1922) en la estación de investigación agrícola "Las Cruces" en Nuevo México, describiéndola como: "una nueva especie causante de daños considerables en chile (*Capsicum* sp.)", según lo mencionó Galindo (1960). De acuerdo con Hausbeck y Lamour (2004), el primer reporte de *P. capsici* en una cucurbita fue en 1937 en pepino, donde causó pudriciones del 100% en los frutos y plantas. Para 1940, ya había reportes en berenjena (*Solanum melongena* L.), melón (*Cucumis melo* L.), calabacita (*Cucurbita pepo* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). En México, fué encontrado por Galindo (1956) en chile, después en calabaza, jitomate y fresa (Galindo, 1960). Este patógeno causa daños cercanos al 80% en las zonas

dedicadas a la producción de chile y, en términos generales, aproximadamente el 40% de las plantas de chile en nuestro país mueren anualmente por esta enfermedad (Romero, 1988).

3.2.1. Síntomas de la enfermedad

El hongo es capaz de afectar cualquier parte de la planta, así como todos los estados fisiológicos; en plántulas es especialmente grave, puede causar muerte antes de la emergencia, pudrición del tallo y muerte por *damping-off*, ya sea en campo, semillero o almácigo (Mendoza, 1996; Blancard, *et al.*, 2000). En la mayoría de las ocasiones, lo típico es que el hongo inicie su ataque a nivel del cuello de las plantas, presentando en éstas la clásica mancha oscura en el tallo, el ahorcamiento e interrupción de la savia, con lo que la planta presenta una marchitez rápida e irreversible, siempre sin amarillamiento previo (Namesny, 1996). Las plantas infectadas por *P. capsici* generalmente inician con una ligera marchitez, adquieren un color café o negrusco en las raíces o la base del tallo, produciendo ahorcamiento, necrosis, pudriciones aguanosas en las hojas, frutos cercanos al suelo, etc., y marchitez total después de 3 o 4 días, dependiendo del hospedante (Tian y Babadoost, 2004; Mendoza, 1996).

En ocasiones, dado que es un hongo del suelo, los salpiques de tierra contaminada, causadas simplemente por la lluvia o agua de riego, pueden propiciar la infección de frutos localizados en las partes más inferiores de la planta, e incluso zonas del tallo, ramas y hojas (Namesny, 1996). Cuando se producen lluvias o después de riegos pesados, que provocan salpiques, la aparición de manchas sobre las hojas, necrosis de los ápices, tallos y frutos es más común, con lo que el porcentaje de pérdida del cultivo es mayor, especialmente en calabaza y pepino, produciendo mortandad en plántulas y plantas adultas (Blancard, *et al.*, 2000).

En frutos, inicialmente aparecen lesiones oscuras y aguanosas, posteriormente (2 a 3 días después), aparece el micelio del hongo en la superficie del fruto, dependiendo de las condiciones ambientales, como temperatura y humedad (Hausbeck y Lamour, 2004). Sin embargo, también se mencionan

ataques sobre frutos en postcosecha, debido al almacenamiento de producto que ha sido infectado desde el campo y que no fué percibido al momento de la selección o por un manejo deficiente durante el empaque (Namesny, 1999). En estudios realizados por Bowers y Mitchell (1991) citados por Campbell (1994) se encontró que se puede inducir una mortandad en chile del 10 al 35% teniendo una sola oospora de *P. capsici* por gramo de suelo y se incrementó al 100% de mortandad cuando se encontraron 91 oosporas por gramo de suelo.

3.2.2. Organismo causal

Las especies del género *Phytophthora* son más cercanas a las algas no fotosintéticas y pertenecen al Reino Chromista, Phylum Oomycota, Orden Peronosporales, Familia Pythiaceae (Kendric, 2000). Las características comunes de *Phytophthora* incluyen hifas aseptadas con ligeras constricciones en el ángulo de ramificación, con esporangióforos de crecimiento indeterminado, poseen esporangios de formas diversas y zoosporas biflageladas lateralmente dentro de los esporangios (Mitchell y Kannwischer-Mitchell, 1990).

La descripción de *P. capsici* de acuerdo a Stamps, *et al.* (1990), está basada en características morfológicas y culturales; posee esporangios papilados, en ocasiones con más de una papila, crecimiento simpodial simple; pedicelo sésil de 50 µm o más, de forma elipsoidal, ovoide, obpiriforme de 45 a 75 µm o mayor; esporangióforos de crecimiento aéreo de forma estrellada en PDA. Perteneció al Grupo II de Waterhouse, siendo una especie heterotálica con anteridio anfígeno claviforme, forma elongada y cilíndrica, con oogonio esférico terminal de 30 a 40 µm y oosporas lisas, apleróticas y de 20 a 40 µm (Romero, 1988).

Con el avance de la tecnología, se han desarrollado métodos para simplificar y agilizar la identificación de aislamientos a nivel de especies, incluyendo el uso de proteínas, isoenzimas, serología, fragmentos de restricción de polimorfismos largos (RFLP), análisis de DNA nuclear y mitocondrial y más recientemente análisis de los espacios internos transcritos (ITS) del DNA ribosomal (rDNA). Algunos de estos métodos son ventajosos porque no se requiere el aislamiento del patógeno y la amplificación de la reacción en cadena

de la polimerasa (PCR) se puede llevar a cabo del DNA del tejido infectado, lo cual es importante para el rápido diagnóstico de la enfermedad e incluso, para encontrar diferencias o particularidades entre aislamientos de diferentes hospedantes o de distintas áreas geográficas (Martin y Tooley, 2004).

3.2.3. Ciclo de la enfermedad y epidemiología

Los propágulos de los patógenos del suelo, sirven como punto de inicio para las enfermedades de las raíces, éstos pueden ser cualquier parte o fragmento del hongo, desde un segmento de hifa hasta esporangios, zoosporas y oosporas (Galindo, 1960). En el caso de *P. capsici*, el cual tiene un ciclo de vida policíclico, los propágulos se pueden transportar por medio del viento cuando afectan las partes aéreas de la planta y, principalmente, a través del agua del suelo, dando como consecuencia una infección primaria, la cual se lleva a cabo por el crecimiento micelial de estos propágulos (Campbell y Benson, 1994). De acuerdo con Redondo (1986), el proceso infectivo inicia una hora después de la inoculación del hongo; con la germinación de las zoosporas se da la colonización intercelular e intracelular de la epidermis y cambium vascular, ocasionando la pérdida de absorción del sistema de raíces y deficiente conducción de agua por el xilema, esto a su vez, conlleva a la marchitez de la planta y finalmente su muerte.

Este hongo sobrevive en el suelo, de un ciclo a otro, en forma de oosporas, las cuales se producen sexualmente cuando, en un mismo campo, se encuentran los dos tipos de compatibilidad: A1 y A2, requiriendo un periodo de dormancia de al menos un mes antes de la germinación directa o por la formación de esporangios. Las oosporas han sido consideradas fuente de inóculo primario en el campo. Cuando los esporangios se encuentran en agua, se diferencian, eclosionando y produciendo unas 20 a 40 zoosporas, las cuales son diseminadas por el agua de lluvia o riego, permitiendo así la contaminación de las plantas (Hausbeck y Lamour, 2004).

El hongo puede vivir en forma saprofita sobre los restos descompuestos y con los riegos sucesivos produce esporangios y zoosporas, fuente secundaria de inóculo (Hausbeck y Lamour, 2004). Es capaz de sobrevivir en el suelo por más

de dos años en ausencia del hospedante. El micelio es una fuente importante de inoculo secundario, favoreciendo el desarrollo de la enfermedad en presencia de humedad alta en el suelo, así como temperaturas frescas, siendo óptimas para su desarrollo de 17 a 31°C (Campbell y Benson, 1994; Mendoza, 1996).

3.2.4. Diversidad genética

Polach y Webster (1971), mencionaron que de acuerdo a la posición taxonómica, los aislamientos de *Phytophthora capsici* constituyen un taxón mucho más complejo que una simple raza, basándose en la patogenicidad en Chile, como hasta entonces se venía haciendo. En 1986, Redondo sugirió que la variación patogénica de *P. capsici* existente en México es mayor que en otros países, basado en la susceptibilidad que presentaron variedades extranjeras al ser inoculadas con diferentes aislamientos de este hongo, provenientes de diversas zonas chileras del país.

En estudios posteriores, Ristaino (1990), consideró que existe una importante variación intraespecífica en las características morfológicas de aislamientos de *P. capsici*. Pero es hasta finales de 1980 que ocurren las primeras investigaciones moleculares de la genética de este patógeno, cuando a través de un estudio de fragmentos de restricción de polimorfismos largos (RFLP) y análisis mitocondriales y de DNA, se encontraron diferencias entre aislamientos de diferentes áreas geográficas, años de colecta y hospedantes (Hausbeck y Lamour, 2004).

La mutación es la principal fuente de la variación genética en *Phytophthora*, donde todos los miembros clonados de un individuo (producto de la reproducción asexual) deberían ser iguales, sin embargo, se han encontrado diferencias entre ellos, debido probablemente a una posible recombinación mitótica o mutaciones a nivel mitocondrial o nuclear (Goodwin, 1997). Sin embargo, Redondo (1986), mencionó que la variación patogénica de *P. capsici* puede ser originada por mutación, somatogamia o anastomosis hifal y de manera más importante, por recombinación genética, a través de la reproducción sexual.

La progenie de las cruzas entre un aislamiento A1 y A2, ha mostrado diferir de sus progenitores, de manera patogénica como morfológica, generalmente incrementando la virulencia del patógeno, lo cual sugiere que la reproducción sexual puede llegar a incrementar la virulencia en campo, con lo que se considera que las oosporas poseen un papel importante en la variación genética de la población (Hausbeck y Lamour, 2004). Por otro lado, si ambos tipos de compatibilidad se localizan en un mismo predio, existe potencial para recombinación genética y con ello, desarrollo de variabilidad del hongo. Esta variabilidad se puede expresar en su fisiología, patogenicidad y de respuesta a fungicidas, ocasionando un control más difícil y complicado (Beckman, 1987).

3.2.5. Rango de hospedantes

De acuerdo a Hausbeck y Lamour (2004) *Phytophthora capsici* afecta un rango amplio de hospedantes alrededor del mundo; se reportan 49 especies de plantas cultivadas, representadas por 14 familias susceptibles a este patógeno; la mayoría pertenecientes a las Solanaceae (chile, jitomate, berenjena, tabaco) y Cucurbitaceae (calabaza, pepino, melón).

Este patógeno también se ha encontrado en algunas Chenopodiaceae (espinaca, betabel, acelga), Cruciferaeae (rábano, brócoli, coliflor, col), Poaceae (maíz y trigo), Fabaceae (frijol, soya, chícharo), Liliaceae (cebolla, cebollín, ajo), Umbeliferae (zanahoria, apio, perejil), entre otras (Tian y Babadoost, 2004).

3.2.6. Estrategias de manejo

De acuerdo a Namesny (1996), es posible prevenir la enfermedad realizando el tratamiento con fungicidas antes de que se haya iniciado la infección, especialmente mediante aplicaciones de fenilaminas (metalaxil, mefenoxam) y etridiazol dirigidos a las raíces, al cuello de las plantas o previo a la plantación. Además de estos productos en forma individual, se pueden combinar con fungicidas a base de cobre (Ristaino, 2003). Además, se recomiendan métodos preventivos y/o técnicas culturales como las mencionadas por Namesny (1996) y Hausbeck y Lamour (2004):

- **Presiembra**

- Usar semilla tratada con algún fungicida efectivo contra oomycetes.
- Emplear las variedades o híbridos resistentes.
- Aplicación de fungicida al momento de trasplante o siembra.
- No plantar en suelos encharcados.
- Usar plántula sana y con 15 a 20 cm de cepellón.

- **Producción**

- Llevar un monitoreo de enfermedades en campos de cultivo, principalmente para *damping-off* y marchitez.
- Evitar riegos pesados, sustituyéndolos por ligeros y frecuentes.
- Utilizar acolchados y solarizar el suelo.
- Eliminar residuos de cosecha y frutos enfermos.
- Aplicar fungicidas en forma preventiva, especialmente en campos con historial de problemas fitosanitarios.
- Rotar los fungicidas empleados.

- **Postcosecha**

- Realizar un tratamiento postcosecha a los frutos que incluya la eliminación de frutos dañados, enfermos, lavado con cloro y secado.
- Almacenar los frutos cosechados en condiciones frescas y secas.

3.3. BIOCONTROLADORES

De acuerdo con Cook (1985), el control biológico se define como la utilización de un organismo para el control de un patógeno, incluyendo desde plantas superiores hasta microorganismos como bacterias y hongos microscópicos, además de la resistencia de las plantas hospedantes, considerada como una de los mejores y más efectivos métodos de control biológico. Sin embargo, otros investigadores han definido el control biológico, en el ámbito de la Fitopatología, como “la reducción del inóculo del patógeno o de su capacidad de producir enfermedad mediante la acción de uno o más organismos excluyendo al hombre” (Zavaleta, 1994).

Las primeras investigaciones sobre la aplicación del control biológico se dieron en 1890, y estaban enfocadas hacia el control de insectos, mientras que el desarrollo de biocontroladores para enfermedades de plantas tiene cerca de 40 años. Una de las primeras especies introducidas como biocontrolador fue *Peniophora gigantea*, aplicada en árboles forestales para el manejo de la pudrición de raíz causada por *Heterobasidion annosum*, también se utilizaba *Gliocladium virens* para el biocontrol del *damping-off* causado por *Pythium* y *Rhizoctonia* en algodón y coliflor y *Talaromyces flavus* aplicado en el campo de berenjena para el control de *Verticillium* (Campbell y Benson, 1994).

El control biológico se puede dar sobre la planta, o dentro de ella, dependiendo de los biocontroladores y de la y sus características particulares, como genética, biología, fisiología, bioquímica, entre otras (Cook, 1985). Los factores principales que han contribuido al uso cada vez mayor de los biocontroladores, son por la pérdida de registros de productos químicos, poca tolerancia a residuos químicos, resistencia a plaguicidas, el problema de salud y seguridad pública y del trabajador (Paulitz y Bélanger, 2001; Zavaleta, 1994).

La funcionalidad de los agentes de biocontrol se da mediante la colonización y promoción de la diversidad biológica en los suelos de cultivo, a través de la cual, se crea competencia hacia el patógeno impidiendo o retardando su proliferación. Sin embargo, existen interrelaciones entre planta, patógeno y agente de biocontrol, así como la influencia de las condiciones ambientales en ellas (Campbell y Benson, 1994).

Por otro lado, la manipulación genética de los antagonistas permite el rápido desarrollo y eficacia de los biocontroladores, debido a que se pueden seleccionar las variantes o razas más eficaces, la identificación y manipulación de genes, mutaciones inducidas y la fusión de protoplastos para mejorar la eficacia y otras características de los antagonistas de patógenos como tolerancia a los plaguicidas comúnmente usados, habilidad para competir en la rizósfera, tolerancia a condiciones ambientales extremas, crecimiento vigoroso y esporulación abundante y larga vida de anaquel (Zavaleta, 1994).

El control biológico en la Fitopatología se ha enfocado principalmente en el combate de patógenos habitantes de la rizósfera del suelo, por lo que la mayoría de los productos comerciales desarrollados para el biocontrol de fitopatógenos están diseñados para este fin, tomando ventaja de los antagonistas nativos de los patógenos y por el establecimiento de antagonistas introducidos (Zavaleta, 1994).

Existen numerosos organismos empleados en la actualidad como agentes de biocontrol, entre los más importantes se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares, varias especies del género *Trichoderma* sp., las rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPRs), siendo que las más conocidas pertenecen al género *Bacillus* sp. (Cook, 1985; Hornby, 1990; Lewis y Papavizas, 1991).

3.3.1. Estrategias de biocontrol

El control biológico se ha subdividido en tres estrategias: a) control biológico del inóculo, involucra la destrucción del inóculo del patógeno o la prevención de su formación; b) protección biológica de la planta, más conocido por el empleo de un organismo para la supresión o inhibición del desarrollo de otro y c) control biológico a través de la resistencia inducida o protección cruzada (Cook, 1985). Dada la gran diversidad de las especies que se pueden emplear como biocontroladores, entre los que se encuentran principalmente bacterias y hongos, existen diversos mecanismos de acción, por ejemplo:

a) Antibiosis

La antibiosis en el control biológico de la agalla de la corona causada por *Agrobacterium radiobacter* var. *tumefaciens* y controlada por *A. radiobacter* raza 84 (no patógena), la cual posee un plásmido que codifica para la producción de un nucleótido altamente específico capaz de inhibir selectivamente la mayoría de las bacterias patógenas (Campbell y Benson, 1994; Hornby, 1990). La producción de enzimas se puede involucrar indirectamente en la antibiosis, por ejemplo, la glucosa extracelular producida por *Talaromyces flavus* reacciona para producir peróxido de hidrógeno, el cual destruye los microesclerocios de *Verticillium dahliae* (Campbell y Benson, 1994; Weller, 1988).

b) Competencia

Principalmente, la competencia ventajosa se da por la invasión y posesión de nutrientes del suelo por el organismo que lo coloniza en primer lugar, como se lo han mencionado Lewis y Papavizas (1985) al observar que la presencia de *Trichoderma hamatum* y *Gliocladium virens* suprimen la actividad saprofítica de *Rizoctonia solanani* en campo. A pesar de que es difícil estudiar la competencia por nutrientes entre los microorganismos, de acuerdo a Campbell y Benson (1994), existen reportes de competencia por hierro, carbono y nitrógeno, los cuales, son elementos indispensables para la penetración y germinación de los patógenos habitantes de la rizósfera del suelo en el hospedante (Hornby, 1990).

c) Exclusión

Los agentes de biocontrol pueden proteger la rizósfera mediante la exclusión física del patógeno. La competencia por nutrientes y por espacio se pueden confundir ya que ambos están asociados a los sustratos, por lo que se considera la competencia por nutrientes, en las raíces de la planta, como una forma de exclusión del patógeno (Hornby, 1990). La competencia por nutrientes y espacio es un factor importante en varios sistemas de control biológico, como el uso de ectomicorizas para proteger las raíces de pinos de *Phytophthora cinnamomi* (Marx, 1972; citado por Campbell y Benson, 1994).

c) Mecanismos combinados

La mayoría de los agentes de biocontrol emplean más de un mecanismo para proteger las raíces de las plantas de los fitopatógenos. El uso de varios mecanismos puede ser simultáneo o en diferente tiempo; un mecanismo puede operar sobre una planta, mientras que en otra, el mismo biocontrolador, puede usar un mecanismo diferente (Campbell y Benson, 1994). Existen varios organismos que poseen más de un mecanismo de acción, los más conocidos y ampliamente empleados son *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. y *Trichoderma* sp., los cuales además de estimular el crecimiento de la planta e incrementar los rendimientos, son capaces de producir antibióticos y actuar como antagonistas de hongos y bacterias fitopatógenos (Hornby, 1990; Weller, 1988).

3.3.2. *Trichoderma harzianum* raza T-22

Esta raza fué producida a finales de 1980 por la fusión de protoplastos entre T-95, una raza competente de la rizósfera de *T. harzianum* aislada de un suelo de Columbia y *T. harzianum* T-12 aislada de suelo en Nueva York. Realizando pruebas en campo e invernadero se pudo observar que colonizó todas las partes del sistema de raíces y fué capaz de persistir por un largo periodo cuando se aplicó como tratamiento a semillas, en el riego o en gránulos (Plant Health Care México, 2006a).

Las especies del género *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas causantes de cambios a nivel celular del patógeno, como vacuolación, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular (Ezziyyani, *et al.*, 2004). El hongo *T. harzianum* tiene múltiples mecanismos de acción, incluyendo micoparasitismo vía producción de quitinasas, β 1-3 glucanasas, antibióticos, competencia, solubilidad de nutrientes inorgánicos para la planta, induce resistencia e inactiva las enzimas del patógeno involucradas en el proceso de infección (Paulitz y Bélanger, 2001).

3.3.2.1. PHC® T22®

Es un fungicida biológico preventivo para el control de enfermedades inducidas por patógenos del suelo y de follaje comercializado por PLant Health Care de México. El ingrediente activo es *Trichoderma harzianum* raza T22 (KRL-AG2). Posee un rango amplio de adaptación a suelos (de arenosos a arcillosos), climas (templados y cálidos húmedos) y pHs (4 a 8). Puede ser aplicado a las semillas u otros materiales de propagación, así como al suelo y follaje, además de utilizarse solo o en combinación con Captán, Clorothalonil, Iprodiona, triadimefon, Azoxystrobina, Vinclozolina, Metalaxil y Corpyrifos. T-22 inhibe el crecimiento de hongos patógenos del suelo mediante competencia natural y procesos de micoparasitismo necrotrófico de hongos parásitos. Esta exento de tolerancia por la EPA y no tiene restricciones en tiempo para reentrar a las superficies tratadas, además de que no se ha registrado ningún efecto fitotóxico. Su presentación T-22 PH se puede aplicar a la semilla, césped y semilleros, drench, fertirriego, esquejes

(inmersión de raíz desnuda) y aspersión foliar. Para la propagación de hortalizas en charolas se recomienda una concentración de 0.6 a 1.2 g·L⁻¹ con bomba de aspersión, mojando la semilla antes de cubrir y repetir la aplicación a los 30 a 45 días o un día antes del trasplante (Plant Health Care México, 2006a).

3.3.3. *Bacillus* sp.

Junto con *Pseudomonas*, las especies de *Bacillus* sp., son las bacterias biocontroladoras más ampliamente investigadas y comercializadas. Han sido aplicadas, la mayoría de las veces, como una mezcla de varias especies que, además de tener un efecto en el incremento del rendimiento, son capaces de actuar como antagónicas de varios fitopatógenos tanto de follaje como raíz. En Estados Unidos, se encontró que *Bacillus subtilis*, razas FZB 13, FZB 44 y FZB 24 resultaron efectivas para el control de *Phytophthora* sp. y *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en cultivos de pepino y tomate (Cook y Baker, 1983).

Bacillus sp. ha sido probada alrededor del mundo, en numerosas especies de plantas, por su habilidad en el control de enfermedades. Sus especies liberan endosporas que son tolerantes al calor y la deshidratación, además de que usada en el tratamiento de semillas favorece la germinación y posterior desarrollo de las plantas (Weller, 1988). La bacteria *Bacillus subtilis* libera compuestos con propiedades antifúngicas, como la subtilina y otros antibióticos, los cuales actúan sobre la pared celular de los hongos (Lagunas, 2000), además produce sustancias promotoras del crecimiento, mejorando la germinación de semillas, nutrición de las plantas y desarrollo y rendimiento del cultivo (Fernández, 2001).

3.3.3.1. PHC® Healthy Start® 3-4-3

Este producto es un biofertilizante orgánico y acondicionador del suelo con bacterias benéficas del género *Bacillus* sp. (*B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. polymixia*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*) y *Paenibacillus azotofixans*, además de una mezcla nitrógeno, ácido fosfórico (P₂O₅), óxido de potasio soluble (K₂O), ácido húmico y maltodextrina. Se puede emplear en bulbos, pastos, jardinería, árboles, hortalizas, semillas y en mezcla para macetas, para estas últimas aplicando 11.34 kg·m³ antes de plantar (Plant Health Care México, 2006b).

3.3.3.2. Bio-Raíz®

Es un fertilizante y fungicida con inoculante bacterial elaborado a base de nitrógeno, fósforo, potasio y *Bacillus subtilis* (10 billones de células viables por gramo de producto) en un concentrado soluble. Su modo de acción es mediante la colonización de raíces, compitiendo con los patógenos del suelo por ocupación del nicho (espacio a poblar en la raíz) y por sustancias nutritivas. Estimula las defensas contra agentes patógenos que se encuentran en el suelo, por ejemplo, *Rhizoctonia*, *Streptomyces*, *Fusarium*, *Pythium* y *Phytophthora* (Bayer CropScience, 2006).

4. LITERATURA CITADA

- Bayer Cropscience. 2006. Bio Raíz Biofertilizante para plantas y árboles. (www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/).
- Beckman, C. H. 1987. The Nature of Wild Diseases of Plants. The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, United States of America. 175 p.
- Blancard, D., Lecoq, H. y Pitrat, M. 2000. Enfermedades de las Cucurbitáceas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 301 p.
- Campbell, C. L. and Benson, D. M. 1994. Epidemiology and management of root diseases. Ed. Springer-Verlag. Berlin, Germany. 344 p.
- Cano, A. M. 1998. El cultivo del chile. Guatemala, 53 p. <http://www.mflor.mx/materias/temas/cultivochiles/cultivochiles.htm>
- Claridades Agropecuarias. 1999a. La calabaza y calabacita mexicanas en el mercado europeo. SAGARPA, ASERCA. No. 73. 35 p.
- Claridades Agropecuarias. 1999b. Comportamiento de la producción mundial de pepino y pepinillo. SAGARPA, ASERCA. No.60. 32 p.
- Claridades Agropecuarias. 1999c. El jitomate, la hortaliza de excelencia en exportación. SAGARPA, ASERCA. No. 62. 36 p.
- Claridades Agropecuarias. 1999d. La producción mundial del chile. SAGARPA, ASERCA. No. 56. 40 p.
- Cook, J. R. 1985. Biological control of plant pathogens: Theory to application. Phytopathology 75 (1):25-29.

- Cook, J. R. and Baker, K. F. 1983. The nature and the practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, United States of America. 539 p.
- Decoteau, R. D. 2000. Vegetable crops. Prentice-Hall Inc. New Jersey, United States of America. 464 p.
- Ezziyyani, M., Pérez, S., Sid, A., Emilia, R., y Emilia, C. 2004. *Trichoderma harzianum* como fungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* Leo. en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología 26:35-45.
- Erwin, D. C., Bartnicki-Garcia, S. and Tsao, P. H. 1983. *Phytophthora*: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, United States of America. 392p.
- Fernández, L. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas. CATIE 62:96-100.
- Galindo, A. J. 1960. Estudio preliminar sobre la marchitez de las plantas de Chile en México y su agente causal *Phytophthora capsici* Leonian. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura. México. 42 p.
- Goodwin, S. 1997. The population genetics of *Phytophthora*. Phytopathology 87(4):463-473.
- Hausbeck, M. and Lamour, K. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. Plant Disease 88(12):1292-1302.
- Hornby, D. 1990. Biological control of soilborne plant pathogens. Ed. CAB International. Oxon, United Kingdom. 479 p.
- Kendric, B. 2000. The fifth kingdom. 3th Edition. Mycologue publications. Newburyport, United States of America. 374 p.

- Lagunas, L. J. 2000. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Estado de México, México. 69 p.
- Lewis and Papavizas. 1985. Effect of micelial preparation of *Trichoderma* and *Gliocladium* on population of *Rhizoctonia solani* and the incidence of damping-off. *Phytopathology* 75:812-817.
- Maroto, J. V. 1989. Horticultura herbácea especial. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 566 p.
- Martin, F. N. and Tooley, P. W. 2004. Identification of *Phytophthora* isolates to species level using Restriction Fragment Length Polymorphism Analisis of a Polymerase Chain Reaction-Amplified region of Mitochondrial DNA. *Phytopathology* 94(9):983-991.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades fungosas de las hortalizas. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 85 p.
- Messiaen, C. M. 1979. Las hortalizas. Ed. Blume. D. F., México. 455 p.
- Mitchell, D. J. and Kannwischer-Mitchell, M. 1990. *Phytophthora*. Pp. 31- 38. In: Soilborne phytopathogenic fungi. Singleton, L. L., Mihail, J. D. and Ruch, Ch. M. The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, United States of America. 265 p.
- Namesny, V. A. 1996. Pimientos. Compendio de horticultura No. 9. Ediciones de Horticultura. Barcelona, España. 164 p.
- Namesny, V. A. 1989. Post-recolección de hortalizas de fruto Vol. III Hortalizas de fruto. Compendio de horticultura No. 11. Ediciones de Horticultura. Barcelona, España. 278 p.
- Nuez, F. 2001. El cultivo del tomate. Mundi-Prensa. Barcelona, España. 793 p.

- Paulitz, T. C. and Bélanger, R. R. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology* 39:103-133.
- Pérez G., Márquez, S. F. y Peña, L. A. 1997. Mejoramiento genético de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 390 p.
- Plant Health Care México. 2006a. PHC T-22 Fungicida biológico para la raíz y follaje. (www.phcmexico.com.mx/pdfs/biopesticidas/t22.pdf).
- Plant Health Care México. 2006b. PHC Healthy Start Biofertilizante para plantas (<http://www.phcmexico.com.mx/pdfs/bioestimulantes/hs343.pdf>).
- Polach F. J. and Webster, R. K. 1971. Identification of strains and inheritance of pathogenecy in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 62:20-26.
- Redondo, J. E. 1986. Mecanismo de infección y patología de las plantas de chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Doctorado, Colegio de Postgraduados. Estado de México, México. 182 p.
- Ristaino, J. B. 1990. Intraespecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *Phytopathology* 80(11):1253-1258.
- Ristaino, J. B. 2003. Compendium of pepper disease. The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, United States of America. 289 p.
- Romero, C. S. 1988. Hongos fitopatógenos. Patronato Universitario. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 347 p.
- SAGARPA. 2005. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. SIAP. (www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comdeanuadin.html)
- Sobrino, I. E. 1989. Tratado de horticultura herbácea. Editorial AEDOS. Barcelona, España. 459 p.

- Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J. and Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. 2d Edition. CAB International Mycological Institute. Mycological papers No. 162. United Kingdom. 28 p.
- Tian, D. and Babadoost, M. 2004. Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. Plant Disease 88(5):485-489.
- Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathology 26:379-407.
- Zavaleta, M. E. 1994. Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y perspectivas. Revista Mexicana de Fitopatología 12(1)107-111.

CAPITULO II

PATOGENICIDAD DE AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* Leonian EN FRUTOS DE HORTALIZAS EN POSTCOSECHA

RESUMEN

Cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo., aislados de calabacita (CB) y pepino (PP) provenientes de Morelos, jitomate (JT) y chile bell (BL) de Sinaloa y chile manzano (MZ) del Estado de México, fueron inoculados en frutos de cinco hortalizas. El objetivo fué evaluar la agresividad y virulencia de los aislamientos en postcosecha. Los aislamientos incidieron (%) y causaron la severidad mayor (diámetro de la lesión) al inocularlos en la especie donde se aislaron originalmente. El aislamiento CB mostró la incidencia mayor (93%) en chile bell y la menor (73.3%) en calabacita. El aislamiento PP en chile manzano y jitomate con 93.3 y 80.0%. El aislamiento JT incidió en jitomate y chile manzano en 93.3% y 66.7% respectivamente. El aislamiento MZ mostró una incidencia del 93% en chile manzano y 60% en jitomate, mientras que el aislamiento BL se presento en un 100% en todos los frutos. La severidad del aislamiento CB causó 65.3 mm de diámetro de la lesión en jitomate y 39.8 mm en chile manzano, el aislamiento PP en frutos de pepino en 67.6 mm y en chile bell con 28.3 mm. El aislamiento JT causó pudrición de 58.2 mm jitomate, mientras que la menor fué en chile bell con 25.4 mm. El aislamiento BL fué más severo en chile bell (34.0 mm) y el menor en chile manzano (12.1 mm). El aislamiento MZ causó la severidad mayor en frutos de pepino y la menor en calabacita con 80.7 y 43.1 mm respectivamente. En promedio, los aislamientos causantes de la severidad mayor fueron MZ, CB y PP, mientras que el BL causó las lesiones menores. Los frutos más susceptibles al patógeno fueron los de jitomate, calabacita y pepino, mientras que el menos susceptible fué el chile bell.

PATHOGENICITY OF ISOLATIONS OF *Phytophthora capsici* Leonian IN VEGETABLES FRUITS IN POSTHARVEST

ABSTRACT

Five isolations of *Phytophthora capsici* Leo., from zucchini squash and cucumber from Morelos, tomato and bell pepper from Sinaloa and *manzano* chili pepper of the State of México were inoculated in vegetables fruits. The aim was to evaluate its aggressiveness and virulence of the isolations in postharvest. The isolations caused severe injury (diameter of rotting) and higher incidence (%) when inoculated in to the plant that they were isolate first. The isolation CB showed a higher incidence (93%) in bell pepper and the lowest (73.3%) in zucchini squash. The isolation PP on *manzano* chili pepper and tomato had 93.33 and 80% respectively. The isolation JT had 93.3% and 66.7% incidence on tomato and *manzano* chili pepper. The isolation MZ showed 93% incidence on *manzano* chili pepper and 60% on tomato, while isolation BL had 100% incidence on all the fruits. As for the severity, the CB showing a 63.3 mm diameter of injury on tomato and 39.8 mm on *manzano* chili pepper. The isolation PP had a 67.8 mm and 28.3 mm injury on fruits of cucumber and bell pepper. The isolation JT produced a 58.2 mm diameter injury on tomato, while it had a smaller diameter (25.4 mm) on bell pepper. The isolation BL was very severe on bell pepper (34.0 mm) and less severe on apple pepper (12.1 mm). The isolation MZ caused severe damage o the cucumber fruits and was less severe on pumpkin with 80.7 mm and 43.1 mm respectively. On average, the isolations that caused severe damage were MZ, CB and PP, while BL caused least injuries. The fruits that were very susceptible to the pathogen were tomato, zucchini squash and cucumber while the least susceptible was bell pepper.

1. INTRODUCCIÓN

La culminación del proceso productivo de hortalizas es la recolección y almacenamiento para su posterior transporte y distribución a los lugares de venta al consumidor final, sin embargo, en postcosecha se sufre de grandes pérdidas económicas, ya sea debido al manejo deficiente del producto, selección y desecho por calidad y finalmente la presencia de enfermedades (Urrestarazu, 2000).

El desarrollo de enfermedades en frutos y plantas puede causar cambios en la apariencia, calidad y rendimiento, pues los patógenos usan los metabolitos producidos por el hospedante y reducen la eficiencia de este (Decoteau, 2000). Si aunado a esto tenemos que al llegar a la madurez, la actividad respiratoria y la capacidad de producir etileno de los frutos aumenta, por consecuencia su vida postcosecha se reduce a través del tiempo (Namesny, 1999).

La presencia de *Phytophthora capsici* Leo., está generalmente asociada al cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) y otras solanáceas, sin embargo, produce grandes pérdidas en cucurbitáceas, afectando tanto a frutos como plantas, por lo que, actualmente es posible encontrarla en casi cualquier parte donde se cultiven estas familias de plantas gracias a su rango amplio de hospedantes y adaptación a condiciones ambientales (Romero, 1988).

Sin embargo, se desconoce si dicho hongo ha sido capaz de evolucionar al grado de tener preferencia por la especie predominantemente cultivada en su área de influencia y como sería su comportamiento en los frutos de esas y otras especies en postcosecha.

Lo anterior tiene su importancia para desarrollar métodos de manejo que permitan mantener el producto en óptimas condiciones para su distribución y comercialización. En base a lo anterior se realizó la presente investigación con el objetivo siguiente:

2. OBJETIVO

- Evaluar la patogenicidad de cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian en frutos de calabaza, pepino, tomate, chile bell y chile manzano en postcosecha.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Material vegetal

Se adquirieron frutos de calabaza (*Cucurbita pepo* L. cv. Zucchini), pepino (*Cucumis sativus* L.), jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), chile bell (*Capsicum annuum* L.) y chile manzano (*C. annuum* L.) en la Central de Abastos de Ecatepec en el mes de marzo del 2005. Estos se trasladaron al laboratorio de Hongos Fitopatógenos del Departamento de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Chapingo, lugar donde se llevo a cabo el experimento.

3.2. Aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian

Se emplearon cinco aislamientos de *P. capsici* Leo., aislados de tomate en Texcoco, Estado de México (Fernández, 2006), chile bell en Sinaloa, calabaza y pepino en Morelos (Ramírez, 2005), y chile manzano en Coatepec de Harinas, Estado de México (Rangel-Jiménez y Acosta-Ramos, 2005), los cuales se mantuvieron conservados en aceite mineral.

3.3. Reactivación de los aislamientos

Cada uno de los aislamientos se lavó con agua destilada esterilizada para eliminar el aceite mineral, se secaron con papel esterilizado y se tomó un disco

del hongo, de 5 mm de diámetro, para sembrarlo en una caja Petri con medio jugo de tomate – agar (TA). Una vez desarrollado el micelio, se cortaron 10 discos y se colocaron en una caja Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada; estos se incubaron a 25°C para promover la formación de esporangios, los cuales se obtuvieron a los 3 días.

Para la liberación de zoosporas, las cajas Petri con el hongo, se colocaron a 12°C durante 20 a 30 minutos (Ramírez y Romero, 1980). Posteriormente, se inocularon plántulas de calabaza, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano con 3 a 4 hojas verdaderas, cada una con 5 mL de una solución con zoosporas sin contabilizar, pues solo se requería que indujeran síntomas de marchitez, proporcionándoles un riego pesado inmediatamente (Polach y Webster, 1971). Las plantas se consideraron enfermas cuando se observaron las primeras lesiones en el cuello del tallo, las cuales se presentaron a los 3 días después de la inoculación (DDI). De estas plantas se reaislaron y purificaron los cinco aislamientos empleados en los ensayos, sembrándolos en medio de cultivo jugo de tomate – agar.

3.4. Montaje del experimento

El experimento se llevó a cabo con 450 frutos sanos visiblemente y en madurez comercial; 90 frutos de calabaza, 90 de pepino, 90 de jitomate, 90 de chile bell y 90 de chile manzano. Los frutos se sumergieron en cloro al 2% durante 5 minutos y se enjuagaron con agua caliente (50°C) por 2 minutos, posteriormente se secaron con papel sanitas esterilizado y se les realizó una herida de 1 mm de diámetro con una aguja esterilizada en la parte media longitudinal de cada fruto.

Se realizó la producción de esporangios y liberación de zoosporas por la metodología antes señalada y con la ayuda de un hemacitómetro se cuantificó la solución madre, la cual se ajustó a una concentración de 1×10^5 zoosporas·mL⁻¹ (Hernández-Arenas y Acosta-Ramos, 2005). En la herida se colocó una gota de la solución de *P. capsici* y en el testigo únicamente agua destilada esterilizada. Una vez inoculados los frutos, éstos se colocaron en charolas de plástico que contenían en su interior papel esterilizado absorbente, el cual se humedeció con

agua destilada esterilizada (Gómez, 2004); las charolas se colocaron en el interior de una cámara húmeda prefabricada donde se mantuvo una temperatura de $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $90 \pm 5\%$ para favorecer el desarrollo óptimo de la enfermedad.

3.5. Variables evaluadas

Se determinó la incidencia y severidad de la pudrición de frutos. La incidencia se consideró como el número de frutos que mostraron síntomas de pudrición con respecto al número total de frutos para cada especie; dicha variable se determinó cada 12 horas hasta tener pérdida total del fruto y se expresó en porcentaje (%). La severidad de la enfermedad, se consideró como el crecimiento del patógeno (daño) en el hospedante y se determinó a través del diámetro de la lesión en cada uno de los frutos con ayuda de un vernier digital Truper. Esta variable se midió cada 12 horas hasta tener pérdida total del fruto y se expresó en milímetros (mm).

3.6. Diseño del experimento

El experimento estuvo constituido por 25 tratamientos, conformados por cinco aislamientos inoculados cada uno en frutos de calabaza, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano, además de un testigo absoluto para cada hortaliza. La unidad experimental estuvo constituida por cinco frutos con tres repeticiones (Cuadro 1). Las evaluaciones de las variables se hicieron a las 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 horas después de la inoculación o hasta que los frutos no fueron aptos para evaluarse por ser pérdida total. Se empleó un diseño experimental completamente al azar.

3.7. Análisis estadístico

Todos los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de Tukey ($P \leq 0.05$), mediante el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., 1998).

Cuadro 1. Tratamientos, aislamientos de *P. capsici*, número de frutos y repeticiones empleados en el experimento.

Tratamientos	Aislamientos de <i>P. capsici</i>	Frutos	Unidad Experimental	Repeticiones
1	CB	Calabaza	5*	3
2	CB	Pepino	5	3
3	CB	Jitomate	5	3
4	CB	Ch. bell	5	3
5	CB	Ch. manzano	5	3
6	PP	Calabaza	5	3
7	PP	Pepino	5	3
8	PP	Jitomate	5	3
9	PP	Ch. bell	5	3
10	PP	Ch. manzano	5	3
11	JT	Calabaza	5	3
12	JT	Pepino	5	3
13	JT	Jitomate	5	3
14	JT	Ch. bell	5	3
15	JT	Ch. manzano	5	3
16	BL	Calabaza	5	3
17	BL	Pepino	5	3
18	BL	Jitomate	5	3
19	BL	Ch. bell	5	3
20	BL	Ch. manzano	5	3
21	MZ	Calabaza	5	3
22	MZ	Pepino	5	3
23	MZ	Jitomate	5	3
24	MZ	Ch. bell	5	3
25	MZ	Ch. Manzano	5	3
26	Testigo sin inocular	Por especie	5	3

* Aislamientos de *P. Capsici* obtenidos de plantas de calabaza (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Incidencia de la pudrición de frutos inducida con cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo.

La incidencia de la enfermedad fué constante en las cinco hortalizas a las 96 horas después de la inoculación, por lo que a continuación se presentan estos datos, ya que muestran el comportamiento final de la enfermedad.

4.1.1. Aislamiento de calabacita

El aislamiento de *P. capsici* Leo. de calabacita, inoculado en chile bell (BL), mostró la incidencia mayor de la enfermedad (93.3%), sin embargo, no se observaron diferencias significativas con respecto a la respuesta en jitomate (JT) y chile manzano (MZ), en las que se hubo incidencia superior al 80% (Figura 1). Por otro lado, en los frutos de pepino (PP) y calabaza (CB), la incidencia fué estadísticamente igual (Cuadro 2); sin embargo, dicho aislamiento al ser inoculado en calabaza mostró la incidencia menor de la enfermedad (73.3%).

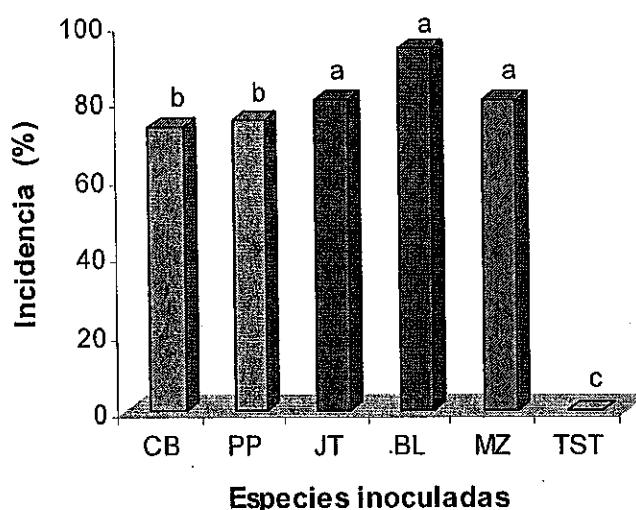


Figura 1. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por *P. capsici* Leo., aislado de calabacita e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la inoculación.

El comportamiento anterior, probablemente se pudo deber a que los frutos de calabacita (cv. *Zucchini*) en que se inocularon pudieron mostrar cierta tolerancia al patógeno y por ende no permitieron la aparición de síntomas en todos los frutos muestreados, debido a que la inoculación del hongo no haya sido homogénea o por alteración en el inóculo de *P. capsici* Leo. Por otro lado, en los frutos testigo, tal como de esperaba, no se presentaron síntomas de pudrición causada por *Phytophthora*.

Cuadro 2. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por los aislamientos de *P. capsici*, 96 horas después de su inoculación en cinco hortalizas de fruto.

FRUTOS INOCULADOS	AISLAMIENTOS DE <i>P. capsici</i> Leo.				
	CB ^Y	PP	JT	BL	MZ
Calabaza	73.3b ^z	86.7a	80.0b	100a	86.7a
Pepino	83.3b	91.7a	75.0b	100a	91.7a
Jitomate	80.0a	80.0b	93.3a	100a	60.0c
Ch. Bell	93.3a	75.0c	75.0b	100a	75.0b
Manzano	80.0a	93.3a	66.7c	100a	93.3a
Testigo	0.0 c	0.0d	0.0d	0.0b	0.0d
CV	7.25	4.06	4.05	0	5.21
r ²	0.98	0.99	0.99	1.0	0.99
DMS	13.32	7.91	7.22	0	9.69

^YCB=calabaza, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey (P≥0.05).

El patógeno *Phytophthora capsici* se presentó en más del 70% en todas las hortalizas, esto muestra el gran número de hospedantes que posee éste patógeno, tal como lo han mencionado Hausbeck y Lamour (2004), quienes señalaron que este hongo afecta un rango amplio de solanáceas y cucurbitáceas alrededor del mundo y con diferente grado de patogenicidad. En este caso, la incidencia mayor apareció en chile bell, chile manzano y jitomate, a pesar de que el aislamiento provino de calabaza.

Por otro lado, Ristaino (1990) mencionó que los aislamientos de cucurbitáceas son patogénicos tanto en pimientos como en calabazas, lo que pudiera explicar la respuesta observada en este experimento.

4.1.2. Aislamiento de pepino

Este aislamiento mostró la incidencia mayor al inocularlo en frutos de chile manzano y pepino, pues tuvo una incidencia del 93.3% y 91.7% respectivamente, sin observarse diferencias significativas entre ellos (Cuadro 1), seguidos de los frutos de calabacita con un 86.7% y jitomate con 80.0%, mientras que en chile bell fue la más baja (75%) y los frutos tomados como testigo (sin el hongo) no sufrieron daño (Figura 2).

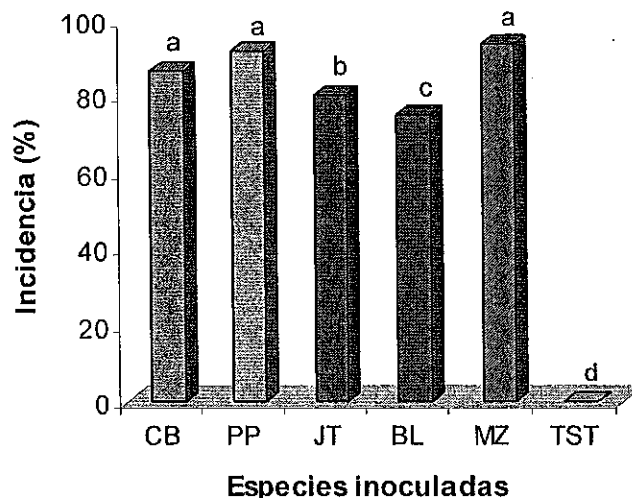


Figura 2. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por *P. capsici* aislado de pepino e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la inoculación.

El comportamiento observado con este aislamiento, afectó principalmente a los frutos de pepino, calabacita y chile manzano, probablemente debido a que los aislamientos estarán relacionados más estrechamente con la especie donde se extrajeron y a miembros de la misma familia, como calabacita que tuvo una incidencia cercana al 90%; esta situación es semejante al primer reporte de *Phytophthora* en cucurbitáceas en 1937 cuando afectó al 100% de la producción de pepino en el Valle de Colorado, Estados Unidos (Hausbeck y Lamour, 2004).

Por otro lado, Tian y Babadoost (2004), mencionaron que las plantas de pepino pudieran tolerar la infección por *P. capsici* Leo., aunque los frutos son muy susceptibles, lo cual permite enfatizar la importancia del manejo preventivo de la enfermedad, la recolección de frutos y residuos vegetales que pudieran ser reservorio de inóculo para futuros cultivos, aún cuando se realice la práctica de rotación de cultivos, principalmente si se tratara de solanáceas.

4.1.3. Aislamiento de jitomate

Dicho aislamiento presentó el valor más alto de incidencia de la pudrición (93.3%) en frutos de jitomate, hortaliza donde se aisló originalmente (Figura 3), observándose así diferencias estadísticas con calabacita, pepino y chile bell, mientras que la incidencia menor se apreció en chile manzano (66.7%) y nuevamente el testigo no presentó síntoma alguno causado por el patógeno (Cuadro 2).

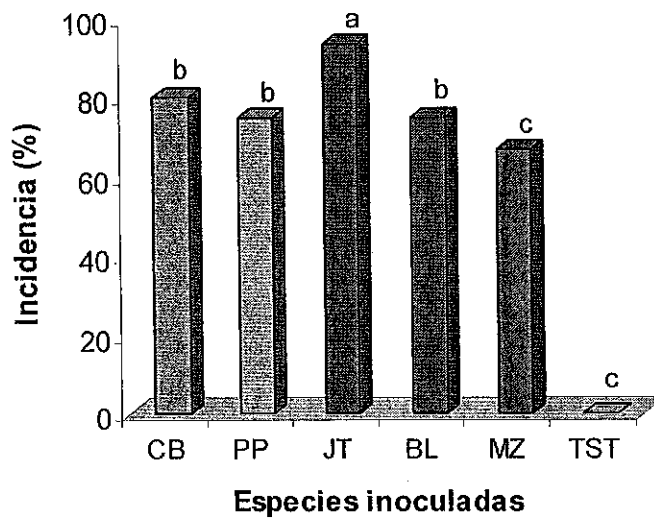


Figura 3. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por *P. capsici* aislado de jitomate e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la inoculación.

A pesar de que jitomate, chile bell y chile manzano son solanáceas, la diferencia significativa, en la incidencia de la enfermedad, observada entre ellos quizá se deba a que exista cierta variabilidad en las características morfológicas, culturales y fisiológicas en los aislamientos de *P. capsici*, tal como lo mencionó Hartman (1993) al realizar pruebas de resistencia a fungicidas, encontrando diferentes grados de respuesta entre aislamientos de la misma especie de *Phytophthora*.

Por otro lado, Hartman y Huang (1991), encontraron que solamente en plantas de tomate y chile se observaron síntomas de la enfermedad, aunque con diferencias en virulencia, mientras que otras cucurbitáceas tuvieron un porcentaje menor de expresión de síntomas.

4.1.4. Aislamiento de chile manzano

El aislamiento de chile manzano inoculado en la misma especie desarrolló la incidencia mayor (93.3%) aunque no hubo diferencias significativas con los frutos de pepino y calabacita (Cuadro 2); si se observaron diferencias altamente significativas al compararlos con chile bell y jitomate, siendo este último el que tuvo el porcentaje de incidencia menor (Figura 4), exceptuando nuevamente al testigo que se mantuvo en cero frutos enfermos.

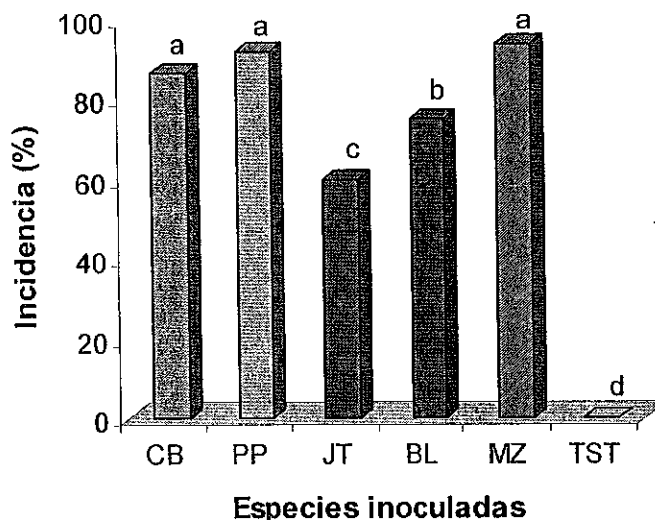


Figura 4. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por *P. capsici* aislado de chile manzano e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la inoculación.

El comportamiento observado en este experimento coincide con Ristaino (1990) quien mencionó que se han demostrado diferencias en virulencia entre aislamientos de *P. capsici* en genotipos de pimiento con diferente nivel de resistencia, de esta manera a pesar de que los frutos de chile manzano y chile bell están estrechamente relacionados, no necesariamente deben tener el mismo comportamiento en susceptibilidad o resistencia al patógeno, pues la variación genética se puede encontrar en el aislamiento de *Phytophthora*.

4.1.5. Aislamiento de chile bell

En contraste con los demás aislamientos, el proveniente de chile bell (BL) manifestó una incidencia de 100% en todas las especies inoculadas (Figura 5), debido probablemente a que dicho aislamiento se colectó en Culiacán, Sinaloa,

lugar donde se realiza la producción mayor de hortalizas y por lo tanto el uso de agroquímicos y fungicidas es muy alto, lo cual pudo haber generado resistencia y mayor agresividad en los patógenos que habitan dicha zona. Para el caso del testigo no se presentó la enfermedad en ninguna de las especies probadas (Cuadro 2).

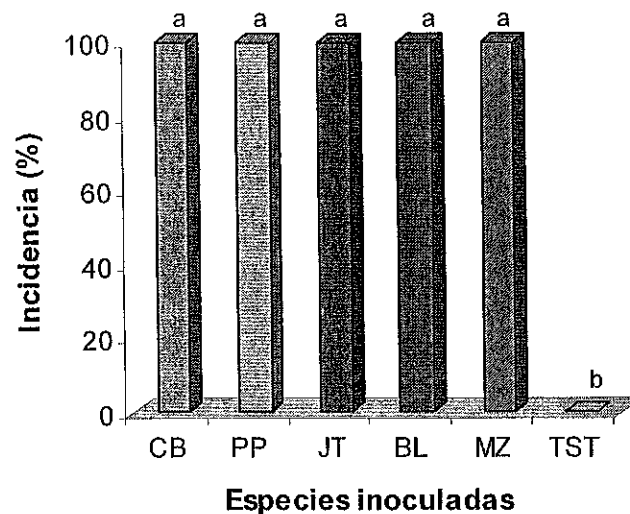


Figura 5. Incidencia de la pudrición de frutos (%) inducida por *P. capsici* aislado de chile bell e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ) comparados con el testigo (TST) a las 96 horas después de la inoculación.

La expresión de la enfermedad dada por el aislamiento de chile bell puede tener varias explicaciones; Polach y Webster (1971) mencionaron que la patogenicidad de los aislamientos se puede deber a varios factores, tales como las diferencias varietales entre el hospedante original y el usado en las pruebas, las condiciones ambientales, e incluso al tiempo de almacenamiento del aislamiento en medio de cultivo, por lo que en cada aislamiento, generación, hospedante y ambiente se encontraran diferentes comportamientos, tal como se observó en el experimento. Por otro lado, Tian y Babadoost (2004) encontraron que, aislamientos de *P. capsici*, provenientes de diferentes especies y diferentes áreas geográficas, difieren en virulencia al evaluarlos en varias especies de solanáceas y cucurbitáceas, siendo una probable consecuencia de la reproducción sexual del hongo.

Al obtener las medias del porcentaje de incidencia en cada una de las especies y realizar la comparación general entre aislamientos, se entiende el

comportamiento global de la patogenicidad de los aislamientos y la susceptibilidad de los frutos utilizados; en donde se observó que hay una diferencia significativamente alta entre la incidencia de la enfermedad causada por el aislamiento de chile bell (83.3%) y la causada por los otros aislamientos, donde no se observaron diferencias estadísticas entre ellos, no obstante, el aislamiento que causó el porcentaje de incidencia menor en todos los frutos inoculados fue el de jitomate (JT). En lo referente a que especie fue más susceptible, no hubo diferencias significativas, sin embargo, se observó que los frutos de pepino y chile manzano tuvieron la incidencia mayor con 86.6%, mientras que el jitomate obtuvo el porcentaje menor con 82.6% (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de medias de la incidencia de la pudrición de frutos (%) causada por *P. capsici* entre aislamientos y en frutos inoculados a las 96 horas después de la inoculación.

AISLAMIENTOS		FRUTOS INOCULADOS	
CB ^Y	66.9b ^Z	Calabaza	85.3a
PP	71.1b	Pepino	86.6a
JT	65.0b	Jitomate	82.6a
BL	83.3a	Chile Bell	83.6a
MZ	67.7b	Chile manzano	86.6a
		Testigo	0.0b
CV	12.37	CV	12.37
r ²	0.94	r ²	0.94
DMS	8.15	DMS	9.34

^YCB=calabaza, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^ZValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

Los datos obtenidos contrastan con los obtenidos en el trabajo de Tamietti y Valentino (2001), quienes al probar 13 aislamientos de *Phytophthora capsici* en plantas de diferentes especies encontraron que todos fueron patogénicos en chile bell, un 95% en calabaza y 79% en tomate. Por su parte, Ristaino (1990) observó que de 40 aislamientos probados, uno de calabaza fué el menos virulento en chile y tomate. El hecho de que algunos aislamientos sean patogénicos en un hospedante más no en otro se puede deber a que la patogenicidad esta dada genéticamente y dado que *Phytophthora capsici* presenta sus fases asexual y sexual, se puede observar recombinación genética en la progenie, dando como resultado que afecte en menor o mayor grado a los hospedantes, tal como lo afirman Polach y Webster (1971).

4.2. Severidad de cinco aislamientos de *P. capsici* Leo.

A continuación se muestra el comportamiento temporal de la severidad de pudrición de frutos de manera grafica, los resultados de la prueba de Tukey se encuentran al final del presente capítulo.

4.2.1. Aislamiento de calabacita

En la Figura 6a se observa que el periodo de mayor tasa de crecimiento del hongo (diámetro de la lesión), inició 36 horas después de la inoculación y con ascendencia constante hasta las 96 horas para jitomate (JT), pepino (PP) y chile bell (BL), manteniendo diferencias significativas entre ellos. Por otro lado, el chile manzano inició su mayor tasa de crecimiento a partir de las 60 y hasta las 96 horas. Finalmente, a las 96 horas después de la inoculación, dicho aislamiento inoculado en jitomate y calabacita mostró la severidad mayor con 65.3 y 62.4 mm de diámetro respectivamente, mientras que, en chile bell ocasiono un daño de 39.8 mm de diámetro, teniendo la severidad menor de los frutos, sin embargo, estadísticamente no se observaron diferencias significativas entre la severidad de las especies inoculadas al final de las evaluaciones (Anexo 1).

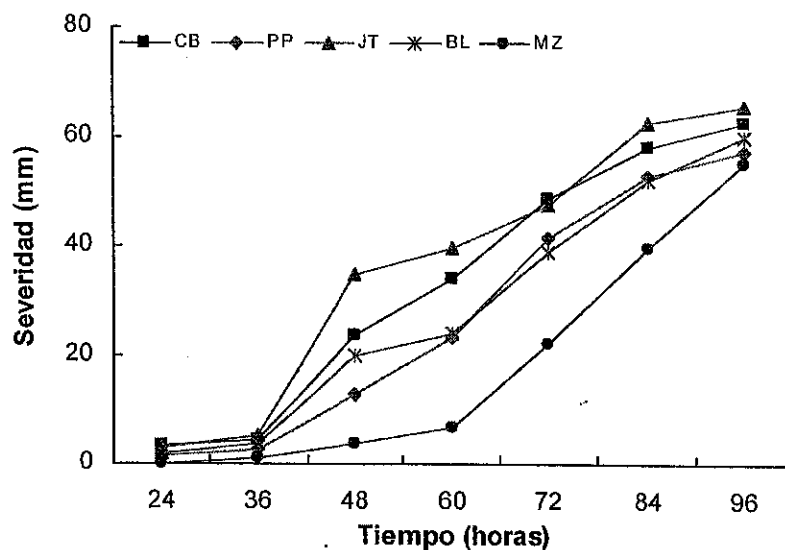


Figura 6. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de calabacita e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ).

En el caso de los frutos de calabacita y pepino, se produjeron manchas blandas y hundidas con desarrollo de micelio en la superficie de estas (Fig. 6a y

6b), tal como lo mencionó Namesny (1999), dicho micelio produjo una gran cantidad de esporangios en forma natural, a las 96 horas el área dañada adquirió un color café. Para el jitomate y chile bell se apreció ablandamiento en los tejidos del fruto, la formación de micelio en forma de halo en la superficie de estos (Fig. 6c y 6d), mostrando el crecimiento típico de *Phytophthora* (Romero, 1988) y para el caso de chile manzano, la coloración amarilla de los frutos disimuló en parte el ablandamiento de los tejidos y sólo fué posible observarlos cuando se presentó coloración café alrededor del hongo (Fig. 6e).

4.2.2. Aislamiento de pepino

Dicho aislamiento mostró la severidad mayor a partir de las 48 horas y hasta la última evaluación (96 horas después de la inoculación) para todas las hortalizas (Figura 7), manteniendo diferencias significativas y las más notorias entre los frutos de calabacita y chile bell durante todo el experimento; con un comportamiento similar entre jitomate y pepino. Finalmente, dicho aislamiento provocó la severidad mayor en calabacita y pepino con 76.0 mm y 67.6 mm de diámetro de la lesión y la menor en chile bell con 28.3 mm de diámetro en la superficie de los frutos, apreciándose diferencias significativas entre cada una de las especies (Anexo 2).

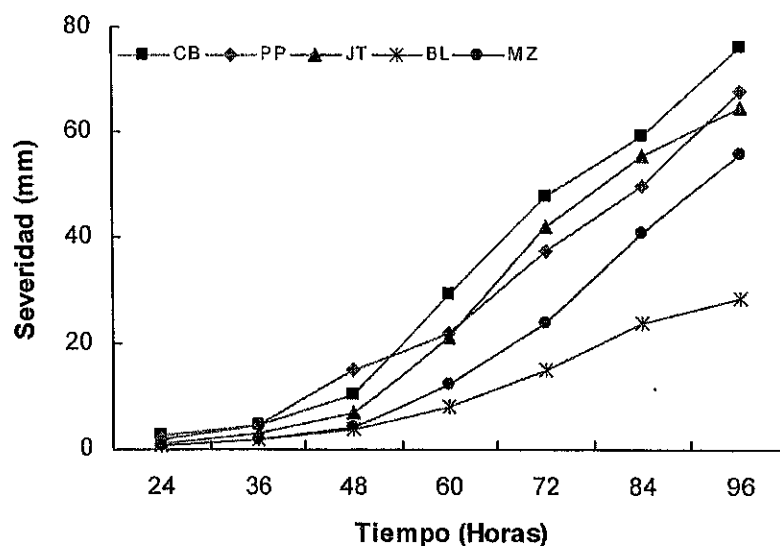


Figura 7. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de pepino e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ).

Además, las lesiones adquirieron un oscurecimiento, observándose blandas y aguanosas, así como esporulación en la superficie de los frutos de calabacita y pepino (Fig. 7a y 7b), característica típica en frutos de cucurbitáceas, mientras que en chile, jitomate y otras solanáceas, la infección, esporulación y daño es principalmente en la planta o incluso en frutos verdes cercanos al suelo (Ristaino, 1990). Por otro lado, se observó el crecimiento circular del hongo en la superficie de los frutos de jitomate y chile bell (Fig. 7c y 7d) y en el caso específico de este último, hubo crecimiento de micelio en la parte interna del fruto, teniendo apariencia más blanca y algodonosa que en el exterior (Fig. 7e).

4.2.3. Aislamiento de jitomate

Este aislamiento mostró un incremento exponencial de la severidad de la pudrición de frutos para todas las especies a partir de las 48 horas después de la inoculación (Figura 8), sin embargo, fué en chile bell donde causó el diámetro menor de la pudrición durante todo el experimento y finalmente, a las 96 horas se observó la severidad mayor al inocular el aislamiento de jitomate en frutos de pepino y del mismo jitomate, observándose una lesión de 65.9 mm y 58.2 mm de diámetro respectivamente, no habiendo diferencias significativas entre ellos. El valor menor se mostró en chile bell con 25.4 mm de pudrición del fruto (Anexo 3).

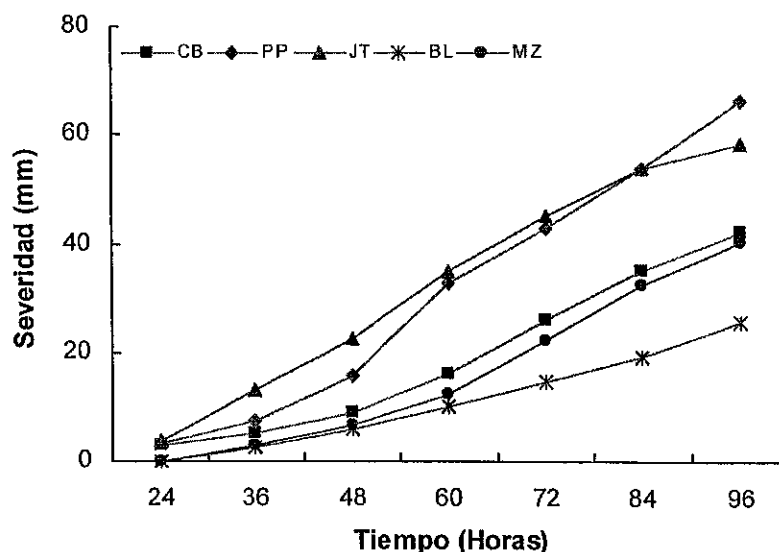


Figura 8. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de jitomate e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ).

El comportamiento de la severidad observado en este aislamiento fué similar al observado con la incidencia, los frutos de jitomate y calabacita presentaron la misma tendencia de incremento y el chile bell se mantuvo con la menor severidad. Este comportamiento, concuerda con los estudios de Tian y Babadoost (2004), donde al inocular con cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* de distintos cultivos y áreas geográficas en 49 especies vegetales diferentes, encontraron que dichos aislamientos diferían en el grado de virulencia.

Los síntomas inducidos por el aislamiento JT se muestran en la Fig. 8a, b, c, d y e, donde se observa el micelio en la superficie del fruto, siendo mayor en jitomate (Fig. 8c), donde llegó a provocar agrietamiento y ruptura de la epidermis; mientras que, en chile manzano hubo ablandamiento de la parte afectada, pero sin producir micelio. Tian y Babadoost (2004), por su parte, encontraron que todas las plantas de las familias Cucurbitaceae y Solanaceae, así como la mayoría de las Chenopodiaceae, fueron infectadas por los mismos aislamientos de *Phytophthora capsici* y desarrollaron los síntomas típicos, siendo las cucúrbitas y los pimientos los más susceptibles al patógeno.

4.2.4. Aislamiento de chile manzano

El aislamiento de chile manzano no mostró diferencias significativas al inocularlo en los diferentes frutos de hortalizas, sin embargo, se observó un incremento exponencial en el diámetro de la lesión a través de los días (Figura 9). El comportamiento final observado (96 horas después de la inoculación), mostró la severidad mayor en pepino con lesiones de 80.7 mm de diámetro y la menor en los frutos de chile bell y chile manzano con 55.9 y 52.9 mm de diámetro respectivamente (Anexo 4).

El aislamiento proveniente de chile manzano no mostró diferencias significativas en la severidad de cada una de las especies inoculadas, salvo durante las primeras 48 horas después de iniciado el experimento. Este comportamiento se pudo deber a la presencia de capsidol en especies del género *Capsicum*, el cual inhibe en cierta medida el desarrollo de enfermedades causadas por *Phytophthora* (Hornby, 1990).

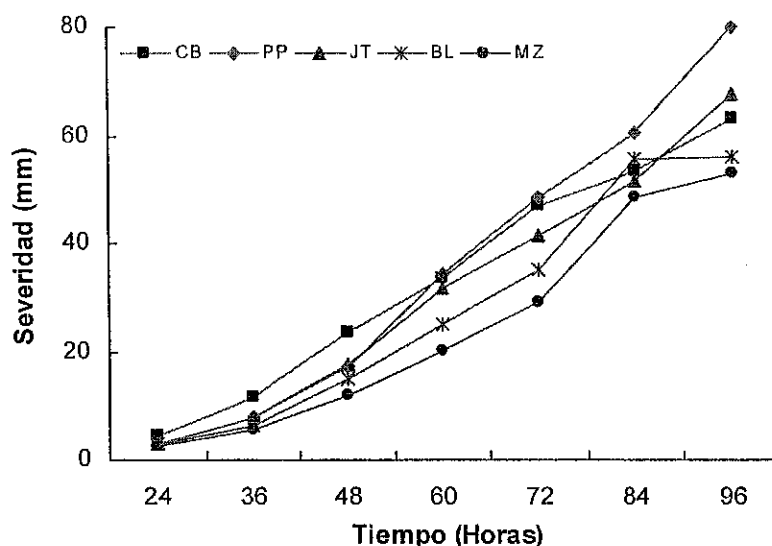


Figura 9. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de chile manzano e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ).

En la Fig. 9 a, b, c, d y e, se pueden observar los síntomas causados en los frutos, siendo los más sobresalientes en chile bell (Fig. 9d), donde la lesión inducida por el hongo no fué la mayor pero también produjo crecimiento de micelio en el interior del fruto e incluso en la superficie de las semillas, tal como lo mencionó Tlapal (1995).

4.2.5. Aislamiento de chile bell

Tal como se observó en la incidencia de la enfermedad, para el aislamiento de chile bell se encontró una severidad mayor al inocularlo en frutos de la misma especie, pues la lesión alcanzó 34.0 mm de diámetro, sobresaliendo de las demás especies inoculadas, ya que mostró diferencias significativas durante todo el experimento (Anexo 5). Sin embargo, a las 96 horas después de la inoculación, dicho aislamiento no presentó diferencias cuando se inoculó en frutos de pepino y calabacita, pues tuvieron pudriciones de 17.4 y 17.1 mm de diámetro respectivamente, mientras que en los frutos de jitomate y chile manzano tuvo un comportamiento casi idéntico con 13.1 y 12.1 mm de diámetro (Figura 10).

El aislamiento de chile bell inoculado en frutos de la misma especie, causó el daño mayor, tanto en diámetro de la lesión como en producción de micelio en el interior y el exterior de los frutos, además se favoreció la producción de

esporangios (Fig. 10 d y e), asimismo, se observó el crecimiento en forma estrellada en la epidermis de los frutos de jitomate (Fig. 10c) pero sin producción de micelio, mientras que en calabaza y pepino el crecimiento del hongo fue poco desarrollado (Fig. 10 a y b), al igual que en chile manzano, donde hubo mayormente ablandamiento en la lesión pero sin producción de micelio.

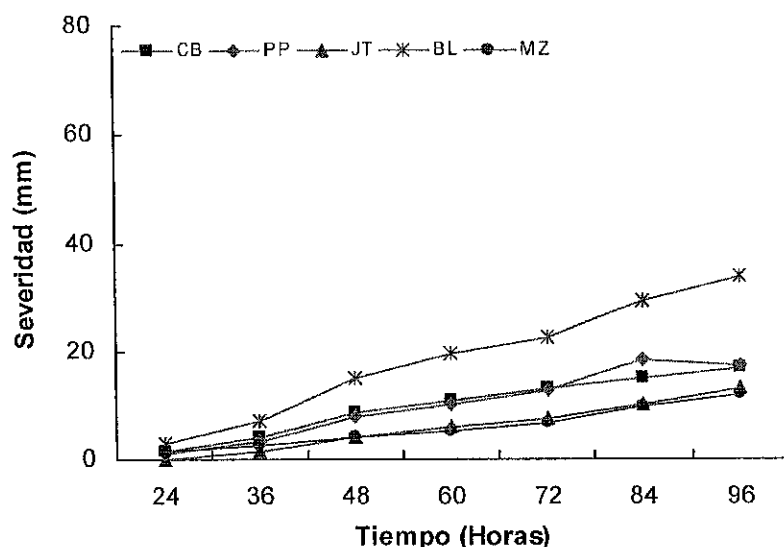


Figura 10. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de chile bell e inoculado en frutos de calabacita (CB), pepino (PP), jitomate (JT), chile bell (BL) y chile manzano (MZ).

Al obtener el promedio de la severidad causada por cada aislamiento, se observó que todos tuvieron un comportamiento diferente, sin marcar una tendencia entre los aislamientos de cucúrbitas y solanáceas ya que el aislamiento de chile bell fué el menos severo de todos, mientras que el de chile manzano mostró en promedio mayor severidad (Cuadro 4).

Tal comportamiento se puede explicar por la influencia de la recombinación genética, dada a través de la reproducción sexual del hongo *P. capsici*, la cual genera una segregación de genes alta, lo que pudo producir múltiples variantes en los descendientes, por lo tanto comportamiento diferente entre un aislamiento y otro (Goodwin, 1997). Dicha recombinación puede resultar en aislamientos con diferente grado de patogenicidad, la cual en una segunda recombinación o en otras especies inoculadas se expresaran desde unos pocos agresivos hasta otros de mayor agresividad que el mismo inóculo o aislamiento (Ristaino, 1990).

Cuadro 4. Severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por cinco aislamientos de *P. capsici* Leo., 96 horas después de su inoculación en cinco hortalizas de fruto.

FRUTOS INOCULADOS	AISLAMIENTOS DE <i>P. capsici</i>				
	CB ^y	PP	JT	BL	MZ
Calabaza	52.4a ^z	76.1a	42.08b	17.05a	43.15
Pepino	57.2a	67.59a	65.92a	17.37a	80.73
Jitomate	65.3a	64.49a	58.22a	13.13b	67.56
Ch. Bell	39.8a	28.31c	25.45c	23.98a	55.96
Manzano	54.7a	55.66b	40.16b	12.10b	52.99
Testigo	0.0b	0.0d	0.0d	0.0c	0.0
Promedio	53.89	58.42	46.36	16.72	60.07
CV	30.92	18.02	14.74	29.34	29.91
r ²	0.27	0.73	0.82	0.43	0.43
DMS	46.12	19.86	9.22	10.62	62.44

^yCB=calabaza, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

En el promedio de la severidad (diámetro de la lesión), para determinar que especie fué más susceptible a *P. capsici*, el análisis estadístico mostró que en los frutos de pepino y jitomate se desarrollaron las lesiones de tamaño mayor con 60.1 mm y 54.6 mm respectivamente, mientras que las lesiones de tamaño menor se presentaron en chile bell fue con 30.6 mm de diámetro de la lesión. En los frutos testigo, sin aislamientos de *P. capsici* inoculados, no presentaron incidencia de la pudrición y por tanto no se cuantificó severidad (Cuadro 5). Al encontrar comportamientos diferentes entre la incidencia y la severidad, se confirma que aunque ambos son parámetros de virulencia del patógeno, su comportamiento es independiente uno del otro (Pedroza, 1995).

Cuadro 5. Comparación de medias de severidad (mm) entre las especies de frutos a las 96 horas después de la inoculación.

FRUTOS INOCULADOS	MEDIAS DE SEVERIDAD
Calabaza	39.7b
Pepino	60.0a
Jitomate	54.6a
Chile Bell	30.6c
Chile manzano	43.9b
Testigo	0.0d
CV	29.86
R ²	0.65
DMS	10.12

^yCB=calabaza, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey (P≥0.05).

Siendo *P. capsici* una especie heterotálica, la producción de oosporas en medio de cultivo con agar esta restringida, sin embargo, cuando se aparean intra o interespecíficamente, se producen oosporas abundantemente, generando anteridios y por consiguiente la reproducción sexual, dando como resultado recombinación genética o hibridación, lo que permite al hongo tener mayor variabilidad y por consiguiente mejor adaptación a las condiciones en que se encuentre (Savage, *et al.*, 1968). La variabilidad de este hongo no solo se expresa en virulencia y patogenicidad, Tlapal (1995), en un estudio con treinta aislamientos de *P. capsici* obtenidos de chile, calabaza y pimienta negra, observo diferencias significativas en la morfología del hongo, así como en la esporulación y liberación de zoosporas, con lo que pudo discernir grupos con variabilidad patogénica.

5. CONCLUSIONES

Todos los aislamientos de *P. capsici*, mostraron un comportamiento diferente al inocularlos en los frutos de jitomate, calabaza, pepino, chile bell y chile manzano.

Se encontró cierta especificidad de los aislamientos al presentarse con un mayor porcentaje de incidencia y severidad al ser inoculados en frutos de la especie de donde se aislaron originalmente, excepto en calabaza donde tuvo la incidencia menor.

En promedio, el aislamiento que causó la incidencia mayor de la pudrición de frutos, fué el proveniente de chile bell y el que causó la incidencia menor fué el aislamiento de jitomate. Todos los frutos fueron igualmente susceptibles al patógeno, independientemente de que aislamiento se haya inoculado.

Los aislamientos que causaron la severidad mayor, expresada en diámetro de la lesión, fueron los provenientes de chile manzano, calabaza y pepino, mientras que el de chile bell causó las lesiones menores en promedio de todos los frutos.

Con respecto a la severidad, los frutos más susceptibles a *P. capsici* fueron los de jitomate y pepino, mientras que los más resistentes fueron los de chile bell.

6. LITERATURA CITADA

- Decoteau, R. D. 2000. Vegetable crops. Prentice-Hall Inc. New Jersey, United Status of America. 464 p.
- Gómez, J. R. 2004. Refrigeración, atmósferas modificadas y calidad del pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) en postcosecha. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 107 p.
- Goodwin, B. S. 1997. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology* 87(4):462-473.
- Hartman, G. L. 1993. Pathogenicity and virulence of *Phytophthora capsici* isolates from Taiwan on tomatoes and other selected hosts. *Plant Disease* 77(6):588-591.
- Hartman, G. L. and Huang Y. H. 1991. Characterization and pathogenicity of *Phytophthora capsici* on pepper and tomato. *Phytopathology* 81(10): 1233.
- Hausbeck, K. M. and Lamour, H. K. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetables crops: Research progress and management challenges. *Plant Disease* 88(12):1292-1302.
- Hernández-Arenas, M. y Acosta-Ramos, M. 2005. Patogenicidad de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian en hortalizas en postcosecha. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. S/P.
- Hornby, D. 1990. Biological control of soilborne plant pathogens. Ed. CAB International. Oxon, United Kingdom. 479 p.
- Fernández, H. E. 2006. Manejo químico de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici* Leo.) en condiciones de invernadero. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 102 p.

- Lewis, J. H. and Papavizas, G. C. 1991. Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. *Crop Protection* 10:95-105.
- Namesny, V. A. 1999. Postrecolección de hortalizas. Vol. III Hortalizas de fruto. Ediciones de Horticultura. Reus, España. 280 p.
- Pedroza, S. A. 1995. Epidemiología agrícola, principios y aplicaciones. URUZA. Universidad Autónoma Chapingo. Durango, México. 99 p.
- Polach F. J. and Webster, R.K. 1971. Identification of strains and inheritance of pathogenecy in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 62:20 – 26.
- Ramírez, S. J. 2005. Diferenciación de especies de *Phytophthora* mediante polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 103 p.
- Ramírez, V. J. y Romero, C. S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leonian agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia* 39: 9-18.
- Rangel-Jiménez, V. y Acosta-Ramos, M. 2005. Determinación de los agentes causales de la marchitez en *Capsicum pubescens*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. S/P.
- Ristaino, J. B. 1990. Intraespecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *Phytopathology* 80(11):1253-1258.
- Romero, C. S. 1988. Hongos fitopatógenos. Patronato universitario. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 347 p.
- Savage, E. J., Clayton, C. W., Hunter, J. H., Brenneman, J. A. Laviola, C. and Gallegly, M. E. 1968. Homothallism, heterothallism and interspecific hybridization in the genus *Phytophthora*. *Phytopathology* 58:1004-1021.

- Tamietti, G. and Valentino, D. 2001. Physiological characterization of a population of *Phytophthora capsici* Leo. from Northern Italy. J. Plant Pathology. 83:1101-1108.
- Tian, D. and Babadoost, M. 2004. Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. Plant Disease 88(5):485-489.
- Tlapal, B. B. 1995. Variabilidad de *Phytophthora capsici* Leo., en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, México. 85 p.
- Urrestarazu, G. M. 2000. Manual de cultivo sin suelo. Universidad de Almería. Mundi-Prensa. Almería, España. 648 p.

ANEXOS

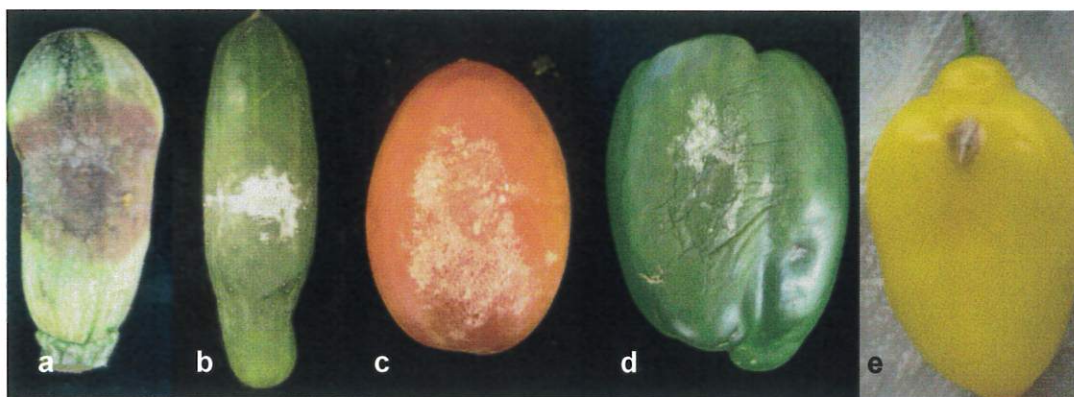


Fig. 6. Síntomas y severidad de la pudrición de frutos inducida por *Phytophthora capsici* Leo., aislado de calabacita e inoculado en frutos de calabacita (a), pepino (b), jitomate (c), chile bell (d) y chile manzano (e).

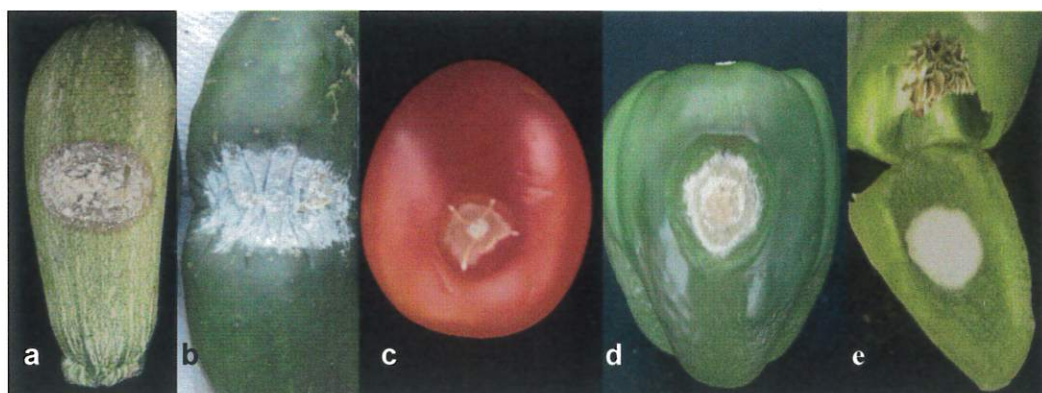


Fig. 7. Síntomas y severidad de la pudrición de frutos inducida por *Phytophthora capsici* Leo., aislado de pepino e inoculado en frutos de calabacita (a), pepino (b), jitomate (c), chile bell (d) y producción de micelio en el interior de chile bell (e).

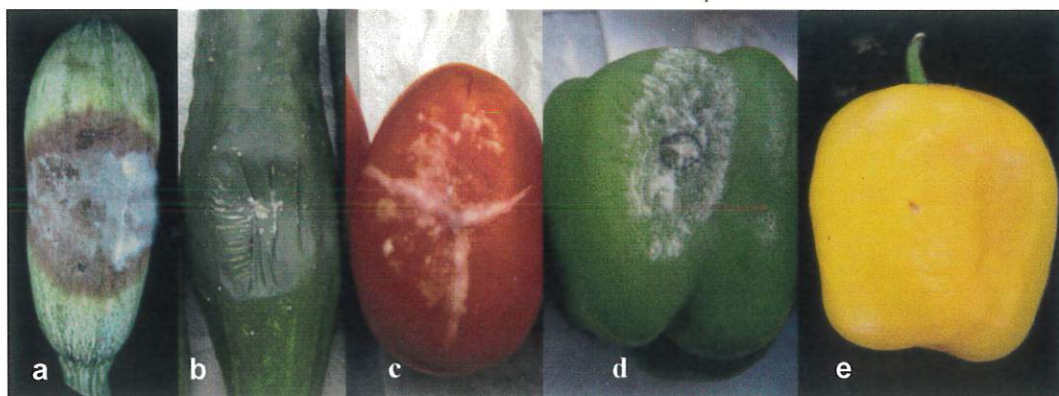


Fig. 8. Síntomas y severidad de la pudrición de frutos inducida por *Phytophthora capsici* Leo., aislado de jitomate e inoculado en frutos de calabacita (a), pepino (b), jitomate (c), chile bell (d) y chile manzano (e).

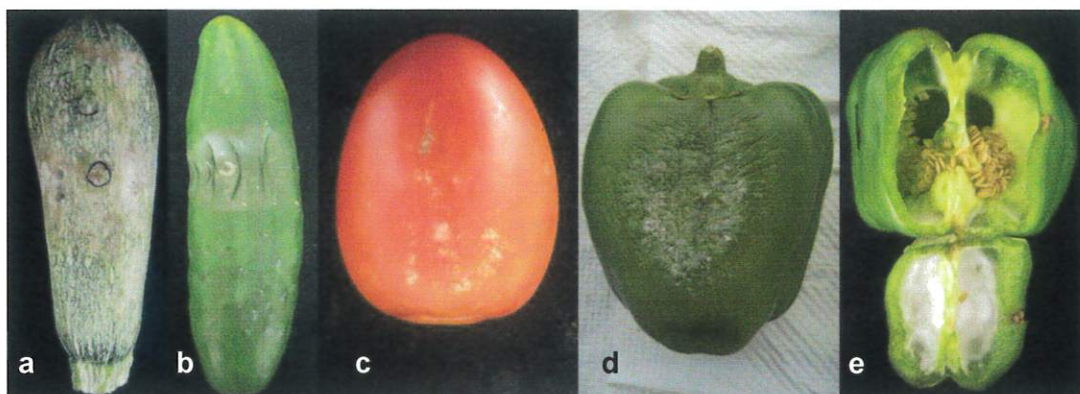


Fig. 9. Síntomas y severidad de la pudrición de frutos inducida por *Phytophthora capsici* Leo., aislado de chile manzano e inoculado en frutos de calabacita (a), pepino (b), jitomate (c), chile bell (d) y producción de micelio en el interior del fruto de chile bell (e)

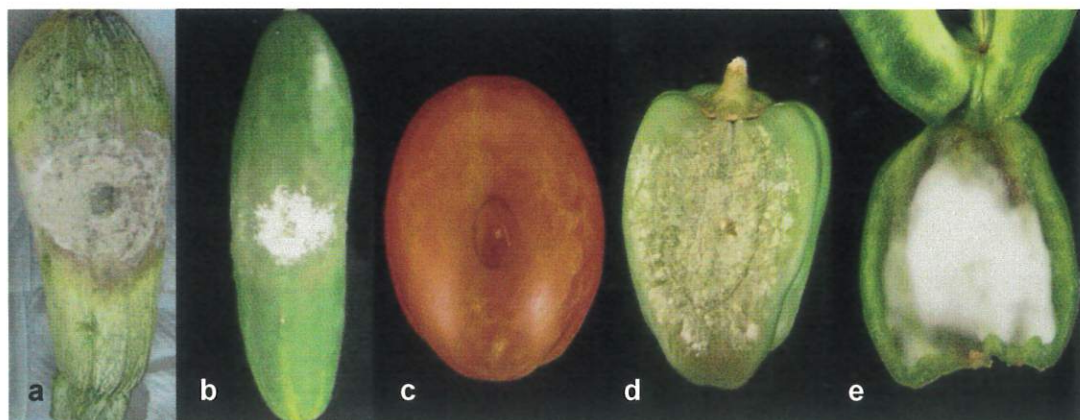


Fig. 10. Síntomas y severidad de la pudrición de frutos inducida por *Phytophthora capsici* Leo., aislado de chile bell e inoculado en frutos de calabacita (a), pepino (b), jitomate (c), chile bell (d) y producción de micelio en el interior de chile bell (e).

SEVERIDAD EN FRUTOS

ANEXO 1. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de calabacita e inoculado en cinco hortalizas.

Tratamiento	Horas Después de la Inoculación						
	24	36	48	60	72	84	96
Calabacita	3.4a	4.6a	23.6b	33.9a	48.4a	57.8a	62.4a
Pepino	1.5c	2.6b	12.6c	23.0b	41.6a	52.8a	57.2a
Jitomate	3.0a	5.1a	34.9a	39.8a	47.5a	62.4a	65.3a
Chie bell	1.9b	3.6a	19.7b	23.8b	38.9a	51.8a	39.8a
Chile manzano	0.0d	1.2c	3.9d	6.8c	21.9b	39.5b	54.8a
CV	59.21	40.46	41.38	40.49	35.7	32.0	30.93
r ²	0.55	0.55	0.67	0.58	0.32	0.18	0.27
DMS	1.40	1.66	9.44	12.53	18.36	21.8	46.12

Valores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey ($P \geq 0.05$); CV= Coeficiente de variación; DMS= Diferencia mínima significativa.

ANEXO 2. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de pepino e inoculado en cinco hortalizas.

Tratamiento	Horas Después de la Inoculación						
	24	36	48	60	72	84	96
Calabacita	2.6a	4.7a	10.5b	29.3a	47.6a	59.3a	76.1a
Pepino	2.0a	4.6a	15.2a	22.0a	37.2a	49.6a	67.6a
Jitomate	1.2b	3.2b	7.0b	21.0a	41.9a	55.4a	64.5a
Chie bell	0.9c	1.9c	3.8c	8.9c	14.9a	23.8c	28.3c
Chile manzano	0.6c	2.0c	4.3c	12.3b	23.8a	40.9b	55.7b
CV	49.17	29.24	43.30	47.77	29.55	25.61	18.02
r ²	0.53	0.62	0.60	0.42	0.58	0.52	0.74
DMS	0.85	1.13	4.15	10.89	13.09	16.64	19.86

Valores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey ($P \geq 0.05$); CV= Coeficiente de variación; DMS= Diferencia mínima significativa.

ANEXO 3. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de jitomate e inoculado en cinco hortalizas.

Tratamiento	Horas Después de la Inoculación						
	24	36	48	60	72	84	96
Calabacita	3.1a	5.3b	9.0c	16.1b	26.0b	35.0b	42.1b
Pepino	3.5a	7.5b	15.8b	32.7a	42.9a	53.7a	65.9a
Jitomate	3.8a	13.1a	22.7a	34.8a	45.0a	53.8a	58.2a
Chie bell	0.0b	2.7d	6.0c	10.1b	14.7c	19.1c	25.5c
Chile manzano	0.0b	3.0cd	6.6c	12.3b	22.2b	32.2b	40.2b
CV	40.24	28.75	32.11	25.02	19.10	14.93	14.74
r ²	0.79	0.82	0.75	0.80	0.81	0.85	0.83
DMS	1.11	2.43	5.07	6.81	7.35	7.51	9.22

Valores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey ($P \geq 0.05$); CV= Coeficiente de variación; DMS= Diferencia mínima significativa.

ANEXO 4. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de chile manzano e inoculado en cinco hortalizas.

Tratamiento	Tiempo (horas)						
	24	36	48	60	72	84	96
Calabacita	4.6a	11.6a	23.6a	33.82a	47.0a	53.6a	63.2a
Pepino	2.9b	7.7a	17.2a	34.44a	48.8a	60.6a	80.7a
Jitomate	3.1b	7.7a	17.4a	31.66a	41.6a	51.7a	67.6a
Chie bell	3.6a	6.5a	14.9a	25.11a	35.3a	55.8a	55.7a
Chile manzano	2.5b	5.7b	12.1b	20.22a	29.3a	48.7a	53.0a
CV	37.30	60.91	53.56	36.72	29.02	23.94	29.91
r ²	0.30	0.18	0.18	0.173	0.22	0.10	0.46
DMS	1.47	5.87	11.11	13.42	16.44	20.40	70.88

Valores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey ($P \geq 0.05$); CV= Coeficiente de variación; DMS= Diferencia mínima significativa.

ANEXO 5. Comportamiento temporal de la severidad de la pudrición de frutos (mm) inducida por *P. capsici* aislado de chile bell e inoculado cinco hortalizas.

Tratamiento	Horas Después de la Inoculación						
	24	36	48	60	72	84	96
Calabacita	1.7b	4.2b	8.8b	10.8b	13.0b	14.9b	17.1b
Pepino	1.3b	3.2b	8.0b	10.2b	12.9b	18.5b	17.4b
Jitomate	0.0c	1.3d	4.3c	5.9c	7.6c	10.0c	13.1b
Chie bell	2.9a	7.2a	15.1a	19.6a	22.6a	29.5a	34.0a
Chile manzano	1.6b	2.6c	4.1c	5.4c	6.9c	9.8c	12.1b
CV	38.61	34.76	33.20	35.20	35.71	31.28	29.34
r ²	0.72	0.70	0.61	0.51	0.47	0.46	0.44
DMS	0.64	1.40	2.69	3.59	4.54	5.45	10.62

Valores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey ($P \geq 0.05$); CV= Coeficiente de variación; DMS= Diferencia mínima significativa.

CAPITULO III.

VARIABILIDAD Y PATOGENICIDAD DE CINCO AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* Leo. EN HORTALIZAS

RESUMEN

Se evaluó la incidencia y porcentaje de infección, inducidos por cinco aislamientos de *P. capsici* (CB, PP, JT, BL Y MZ), inoculando 2 mL⁻¹ de solución de 1 x 10⁵ zoosporas·mL⁻¹, en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano en etapa de 3 – 4 hojas en invernadero. Las plantas de calabacita murieron 8 días después de la infección, las plantas de pepino, jitomate y chile bell a los 5 días y el chile manzano a los 4 días. Todos los aislamientos mostraron la incidencia y porcentaje de infección mayor (93.3 a 100%) cuando se inocularon en la especie donde se aislaron originalmente. El aislamiento CB tuvo la incidencia y porcentaje de infección menor en chile bell y chile manzano (80%). El aislamiento PP mostró incidencia de 53.3% en calabacita e infección del 60% en plantas de calabacita y jitomate. El aislamiento JT tuvo incidencia y porcentaje de infección del 53.3% en las plantas de calabacita. El aislamiento BL incidió un 60% en calabaza y tuvo un 66.67% de infección en plantas de calabaza y pepino. El aislamiento MZ presentó la incidencia menor (53.3%) en pepino y jitomate, mientras que mostró el porcentaje de infección menor (87.3%) en calabacita. Los cinco aislamientos de *P. capsici* indujeron lesiones en las plantas probadas, mostrando comportamiento diferente en cada especie, pero presentaron la incidencia y porcentaje de infección mayor cuando se inocularon en plantas donde se aislaron originalmente.

VARIABILITY AND PATHOGENICITY OF FIVE ISOLATIONS OF *Phytophthora capsici* Leo. IN VEGETABLES

ABSTRACT

In this work, was evaluated the incidence (%) and percentage of infection, induced by five isolations of *P. capsici* (CB, PP, JT, BL and MZ), inoculation with 2 mL⁻¹ of solution with 1 x 10⁵ zoospores·mL⁻¹, in plants of *zucchini* squash, cucumber, tomato, bell pepper and manzano chili pepper at 3-4 leaf stage. The test was conducted in the green house of the Department of Parasitology in the University Autonomous Chapingo. The *zucchini* squash plants died 8 days after the infection, the cucumber, tomato and bell pepper after 5 days, and manzano chili pepper after 4 days. Total isolations showed incidence and infection rate higher (93.3% - 100%) only when were inoculated in the original species. The isolation CB had less incidence and percentage of infection in bell pepper and manzano chili pepper (80%). The isolation PP showed 53.3% incidence in *zucchini* squash plants. The isolation JT had 53.33% incidence and percentage of infection in pumpkin plants. The isolation BL had 60% incidence in *zucchini* squash and 66.67% infection in *zucchini* squash and cucumber. The isolation MZ had the lower incidence (53.3%) in cucumber and tomato, while an infection of 87.3% was showing for *zucchini* squash. The five isolations of *P. capsici* involved injury to the plants in the test; showing a difference among each specie, but showing major incidence and infection when were inoculated on plants used for the isolations originally.

1. INTRODUCCION

Desde el descubrimiento de *Phytophthora capsici* Leo., en 1922, se le ha descrito como una especie causante de daños considerables en chile (*Capsicum* sp.), calabacita y pepino (Galindo, 1960). De acuerdo con Hausbeck y Lamour (2004), para 1940, se reportó en berenjena (*Solanum melongena* L.), melón (*Cucumis melo* L.), calabacita (*Cucurbita pepo* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). En México, fué encontrada por Galindo en 1956 afectando chile, después en calabacita, jitomate y fresa (Galindo, 1960). Este patógeno causa daños cercanos al 80% en las zonas dedicadas a la producción de chile y, en términos generales, aproximadamente el 40% de las plantas de chile en México mueren por esta enfermedad (Romero, 1988). Las pudriciones causadas por *Phytophthora capsici* Leo., se han convertido en uno de los problemas más serios en la producción de cucurbitáceas y solanáceas alrededor del mundo, causando pérdidas hasta del 100% en campos infestados (Tian y Babadoost, 2004). El patógeno infecta raíces, corona, tallo, hojas y frutos, además de causar daños en pre y postemergencia en un gran número de hospedantes (Blancard *et al.*, 2000).

En 1986, Redondo sugirió que la variación patogénica de *P. capsici* existente en México, es mayor que en otros países, y Ristaino (1990), consideró que existe una importante variación intraespecífica en las características morfológicas de aislamientos de *P. capsici*. Sin embargo, desde finales de 1980 a través de un estudio de fragmentos de restricción de polimorfismos largos (RFLP) y análisis mitocondriales y DNA, encontraron diferencias entre aislamientos de diferentes áreas geográficas, años de colecta y hospedantes localizados alrededor del mundo (Hausbeck y Lamour, 2004).

En México han sido pocas las investigaciones realizadas para estudiar la variabilidad de *P. capsici*, sin embargo, Romero (1962) mencionó la posible existencia de cierta especialización fisiológica al inocular diferentes selecciones de chile con una suspensión de zoosporas de 20 aislamientos de *P. capsici*,

provenientes de distintas áreas geográficas y Redondo al repetirlo en 1974 con 44 aislamientos procedentes de diferentes localidades, en mas de 100 materiales de chile, encontró variación en patogenicidad desde 0% hasta 76%. Sin embargo, estos trabajos se han señalado variando ya sea los aislamientos o las especies de plantas en que se inocularon.

Por otro lado, la ineficacia de algunos productos biológicos y químicos para el manejo y control de este patógeno, han orillado a emplear la rotación de cultivos como una práctica para tratar de disminuir el inóculo inicial de *P. capsici*, sin embargo, para establecer una efectiva rotación de cultivos, es necesario establecer el rango de hospedantes del hongo, considerar las especies que afecta, así como la posible variabilidad patogénica existente entre aislamientos (Tian y Babadoost, 2004). Debido a lo anterior, sería de importancia económica y fitopatológica realizar estudios de variabilidad y patogenicidad con diferentes aislamientos de *Phytophthora capsici*, procedentes de distintos hospedantes y regiones geográficas, con la finalidad de determinar el comportamiento patogénico de dichos aislamientos. En base a lo ya señalado, se realizó la presente investigación con el objetivo siguiente:

2. OBJETIVO

- Determinar la variabilidad y patogenicidad de cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano en condiciones de invernadero.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Material vegetal

Se emplearon plantas de (*Cucurbita pepo* L. cv. Zucchini), pepino (*Cucumis sativus* L.), jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), chile bell (*Capsicum annuum* L.) y chile manzano (*C. pubescens* Ruiz y Pavón), las cuales se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades (jitomate, chile bell y chile manzano) y en vasos de unicel No. 16 (calabacita y pepino), posteriormente se trasplantaron en macetas de 7". Estas se mantuvieron en el invernadero del Departamento de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Chapingo, donde se llevo a cabo el experimento.

3.2. Aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian

Se emplearon cinco aislamientos monozoospóricos de *Phytophthora capsici* Leo., aislados de jitomate en Texcoco, Edo de México (Fernández, 2006), chile bell en Culiacán, Sinaloa, calabaza y pepino en Morelos (Ramírez, 2005), y chile manzano en Coatepec de Harinas, Estado de México (Rangel-Jiménez y Acosta-Ramos, 2005), utilizados por Hernández-Arenas y Acosta-Ramos (2005) para determinar la patogenicidad y variabilidad en frutos de las mismas hortalizas.

3.3. Preparación y cuantificación del inóculo

Cada uno de los aislamientos, se sembró en cajas Petri con medio de cultivo jugo de tomate-agar para su incremento masivo; al cabo de 10 días, el micelio invadió por completo el medio de cultivo, del cual se tomaron 10 discos de 5 mm de diámetro y se colocaron en una caja Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada; estos se incubaron a 25°C para promover la formación de esporangios, los cuales se obtuvieron a los 3 días después de la siembra. Para la liberación de zoosporas, las cajas Petri con los discos del hongo se colocaron a 12°C durante 20 a 30 minutos (Ramírez y Romero, 1980) y con la ayuda de un hemacitómetro se cuantificó la solución madre, la cual se ajusto a una concentración de 1×10^5 zoosporas·mL⁻¹ (Hernández-Arenas y Acosta-Ramos, 2005).

3.4. Inoculación de los aislamientos de *P. capsici*

Se sembraron 450 plantas de hortalizas (calabaza, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano) en vasos de unicel No. 16 con tierra de monte esterilizada con bromuro de metilo. Las plantas se mantuvieron en invernadero a una temperatura de $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $80\pm 5\%$, aplicando riego diariamente. Un día después del trasplante, se inocularon las plantas con 2 mL^{-1} de una solución de zoosporas (1×10^5 zoosporas· mL^{-1}), de manera dirigida al cuello de las plantas y agua destilada esterilizada para las plantas testigo (Polach y Webster, 1972), de tal forma que cinco plantas de calabaza de un bloque estuvieron inoculadas con un aislamiento de calabaza, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano, y así respectivamente en cada hortaliza, después de la inoculación se aplicó riego pesado. Las plantas se consideraron enfermas cuando se hicieron visibles las primeras lesiones en el cuello del tallo.

3.5. Variables evaluadas

Se determinó la incidencia y severidad de la enfermedad (marchitez de las plantas). La incidencia se consideró como el número de plantas con síntomas de marchitez y/o ahorcamiento del cuello de la planta con respecto al número total de plantas; dicha variable se determinó diariamente durante los 10 días después de la inoculación (DDI) y se expresó en porcentaje (%). La severidad de la enfermedad se consideró como el grado de afectación por *Phytophthora capsici*, estimado de manera visual los 10 días después de la inoculación, mediante una escala de daño de: 0 (planta sana), 1 (planta con ligera marchitez), 2 (planta con marchitez moderada) y 3 (planta seca o muerta). Estos valores se transformaron en porcentajes de infección con la Fórmula de Townsed y Heuberger (1943):

$$\text{PI} = \frac{\sum_{i=1}^{n=5} (n * V)}{\text{Categoría mayor} * N} * 100$$

Donde:

PI = Porcentaje de infección.

n = número de plantas en cada categoría

v = Valor numérico de cada categoría

N = Número total de plantas en la repetición

3.6. Diseño del experimento

El experimento estuvo constituido por 25 tratamientos, conformados por la inoculación de los cinco aislamientos en las plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano, además de un testigo (sin aplicación del hongo) para cada hortaliza. La unidad experimental (U. E.) estuvo constituida por cinco plantas con tres repeticiones (Cuadro 1), empleando un diseño experimental completamente al azar.

Cuadro 1. Tratamientos, hortalizas, unidad experimental y repeticiones evaluados para determinar la variabilidad patogénica de *P. capsici* Leo. en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano.

Tratamiento	Hortalizas	Aislamientos	U. E.	Repeticiones
1	Calabacita	CB	5	3
2	Calabacita	PP	5	3
3	Calabacita	JT	5	3
4	Calabacita	BL	5	3
5	Calabacita	MZ	5	3
6	Pepino	CB	5	3
7	Pepino	PP	5	3
8	Pepino	JT	5	3
9	Pepino	BL	5	3
10	Pepino	MZ	5	3
11	Jitomate	CB	5	3
12	Jitomate	PP	5	3
13	Jitomate	JT	5	3
14	Jitomate	BL	5	3
15	Jitomate	MZ	5	3
16	Chile bell	CB	5	3
17	Chile bell	PP	5	3
18	Chile bell	JT	5	3
19	Chile bell	BL	5	3
20	Chile bell	MZ	5	3
21	Chile manzano	CB	5	3
22	Chile manzano	PP	5	3
23	Chile manzano	JT	5	3
24	Chile manzano	BL	5	3
25	Chile manzano	MZ	5	3

*Aislamientos procedentes de: CB:Calabacita; PP:Pepino; JT:Jitomate; BL:Chile bell; MZ:Chile manzano.

3.7. Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), con el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., 1998).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Respuesta de aislamientos de *P. capsici* Leo. en plantas de calabacita

Los aislamientos de cucúrbitas (CB y PP) y de solanáceas (JT, BL y MZ) fueron patogénicos sobre las plantas de calabacita, sin embargo, la incidencia y severidad de la enfermedad entre aislamientos tuvo un comportamiento diferente en el tiempo que duro el experimento. Al día 1 después de la inoculación (DDI), únicamente los aislamientos de chile bell (BL), pepino (PP) y calabaza (CB) produjeron síntomas en las plantas, siendo este último el que tuvo mayor incidencia; a los 8 DDI todos los aislamientos ya habían causado incidencia superior al 80% en las plantas inoculadas; el aislamiento CB indujo la mayor incidencia, sin encontrarse diferencias significativas con los aislamientos PP y JT, pero si con BL, MZ y el testigo sin inocular (Cuadro 1). Los aislamientos CB y PP, causaron el porcentaje mayor de infección 24 horas después de la inoculación, sin embargo a los 8 DDI no se observaron diferencias significativas con respecto a los demás aislamientos, por lo que se cree que hubo una relación más estrecha entre los aislamientos de cucúrbitas (calabacita y pepino) sobre las plantas probadas.

Cuadro 2. Incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez, inducidos por cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* en plantas de calabacita (*Cucurbita pepo* L.) a los 1 y 8 días después de la inoculación (DDI).

Aislamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	1 DDI ^w	8 DDI	1 DDI	8 DDI
CB ^y	80.0a	100.0a	26.7a	94.3a
PP	60.0b	86.7a	20.0a	94.3a
JT	0.0d	86.7a	0.0b	86.7a
BL	20.0c	80.0b	4.3b	80.0a
MZ	0.0d	80.0b	0.0b	80.0a
Testigo	0.0d	0.0c	0.0b	0.0b
DMS	0.0	18.27	9.27	22.04
r ²	1.0	0.97	0.93	0.96
CV	0.0	9.23	39.79	11.10

^yCB=calabacita, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey (P≥0.05). ^wDDI = Días después de la inoculación.

Las plantas enfermas exhibieron las lesiones típicas de ahorcamiento del tallo y pudrición de raíces, sin encontrarse una diferencia notoria en las causadas por cada uno de los aislamientos. El comportamiento observado durante el experimento coincide con la respuesta encontrada por Ristaino (1990), quien observó un cierto nivel de virulencia específica entre los aislamientos de algunas cucúrbitas inoculados en plantas de calabacita, al igual que aislamientos de pimiento inoculados en pimiento, sin embargo no considero esta patogenicidad específica como un eficaz criterio de diagnóstico por ser *P. capsici* un hongo con amplia variabilidad. Por otro lado, Tian y Babadoost (2004) encontraron que el porcentaje de plantas de calabacita muertas fue mayor en las que fueron inoculadas con aislamientos de *P. capsici* de cucurbitáceas que las inoculadas con aislamientos de pimiento. Además observaron que las cucúrbitas y pimientos son los hospedantes más susceptibles a *Phytophthora capsici* Leo.

La diferencia observada entre los aislamientos probados, se pudo deber a que *P. capsici* Leo. es una especie heterotálica capaz de tener reproducción sexual (compatibilidad A1 y A2) y por tanto variabilidad en su descendencia, siendo posible esta variabilidad entre plantas de un mismo predio y mayormente en distintas áreas geográficas (Kim y Hwang, 1992). Mediante análisis molecular de isoenzimas de más de cien aislamientos de *P. capsici* Leo., se han encontrado dos subgrupos diferenciados significativamente en su ontogenia y morfología, siendo mayor cuando provienen de diferentes hospedantes o áreas geográficas, indicando una diversidad nuclear muy grande (Hausbeck y Lamour, 2004).

Por otro lado, si ambos tipos de compatibilidad se localizan en un mismo predio, existe potencial para recombinación genética y con ello, desarrollo de variabilidad del hongo. Esta variabilidad se puede expresar en su fisiología, patogenicidad y respuesta a fungicidas, ocasionando un control más difícil y complicado (Beckman, 1987), lo cual se ha observado desde que se descubrió el patógeno *Phytophthora capsici*, pues hasta la fecha no se ha encontrado un método eficaz para su control, por lo que Babadoost e Islam (2003) propusieron un manejo integrado del patógeno, principalmente en el tratamiento a semillas y plántulas con Mefenoxam y Metalaxyl.

4.2. Respuesta de aislamientos de *P. capsici* Leo. en plantas de pepino

Todos los aislamientos de *P. capsici* Leo. produjeron daño en las plantas de pepino, sin embargo, se observaron diferencias significativas entre ellos durante los primeros tres días después de la inoculación, ya que el aislamiento de pepino (PP) fue el que causó los valores más altos en las variables porcentaje de incidencia de la enfermedad y porcentaje de infección (severidad) durante todo el experimento, seguido de los aislamientos de chile bell (BL) y chile manzano (MZ) a los 8 DDI. El aislamiento de pepino causó una infección significativamente mayor a la inducida por los aislamientos de calabacita, jitomate, chile bell y chile manzano, entre los cuales no se observó diferencias estadísticas a los ocho días después de la inoculación, periodo en el cual se observaron la mayor parte de las plantas muertas, mientras que el testigo se mantuvo sano (Cuadro 2). La susceptibilidad del pepino a *P. capsici* Leo. ya ha sido mencionada por Tian y Babadoost (2004), quienes encontraron que las Cucurbitáceas y Solanáceas fueron más susceptibles a la inoculación con aislamientos de *P. capsici* provenientes de diferentes áreas geográficas, desarrollando síntomas entre los 2 y 12 días después de la inoculación.

Cuadro 3. Incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez, inducidos por cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) a los días 3 y 8 después de la inoculación (DDI).

Aislamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	3 DDI ^w	8 DDI	3 DDI	8 DDI
CB ^y	46.7b	53.3b	15.7b	60.0b
PP	93.3a	93.3a	42.3a	93.3a
JT	53.3b	53.3b	17.7b	60.0b
BL	6.7c	66.7b	2.3c	66.7b
MZ	0.0c	66.7b	0.0c	66.7b
Testigo	0.0c	0.0c	0.0c	0.0c
DMS	25.84	28.89	7.45	19.38
r ²	0.95	0.91	0.97	0.95
CV	28.28	18.97	20.90	12.23

^yCB=calabacita, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey (P≥0.05).^wDías después de la inoculación.

Los resultados presentados muestran un comportamiento similar al observado por Lee, *et al.* (2001), quienes observaron diferencias significativas entre cultivares de calabacita y pepino al ser inoculados con cinco aislamientos de

P. capsici Leo. provenientes de cucúrbitas de distintas partes del mundo, donde hubo una correlación mayor entre los aislamientos probados con las plantas de calabacita que en las plantas de pimiento, siendo estas interacciones las responsables de un progreso de la enfermedad mayor.

La variabilidad entre aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. ya ha sido mencionada desde hace años, cuando Polach y Webster (1972) agruparon 23 aislamientos de *P. capsici* Leo. en catorce razas patogénicas, al probarlos en plantas de solanáceas y cucurbitáceas y señalaron que la patogenicidad a diferentes hospedantes esta dada por un gen o sistema de genes de cada hospedante. Por otro lado, Lee, *et al.* (2001) señalaron que dichos genes de resistencia o por el contrario, de susceptibilidad, están inherentes al hospedante, por lo que algunos pueden poseerlos o carecer de ellos; además mencionaron que la densidad del inóculo, así como la edad de la planta puede ser un factor determinante en la aparición y desarrollo de la enfermedad inducida por *P. capsici* Leo. Es por lo anterior que algunos autores (Islam *et al.*, 2002; Hausbeck y Lamour, 2004; Lee, *et al.*, 2001) han mencionado la resistencia natural de las plantas como una defensa biológica ideal contra *Phytophthora capsici*, sin embargo, también mencionaron que aún no existen variedades resistentes de calabaza y chile disponibles comercialmente ni aptas para todas las regiones.

Por otro lado, se ha observado que las oosporas de *P. capsici* son capaces de entrar en dormancia por un periodo hasta de cinco años, reactivándose en el momento que encuentran algún hospedante o las condiciones ambientales son las óptimas (Hausbeck y Lamour, 2004), de tal manera que se dificulta aún más el manejo del patógeno mediante la rotación de cultivos, por lo que se deben emplear métodos alternativos para el manejo del patógeno, donde el método de PCR, para detección de *P. capsici* Leo. en tejidos de plantas, es una herramienta eficaz y rápida para la detección del patógeno, particularmente en las etapas tempranas de infección (Ristaino *et al.*, 1998) favoreciendo así la detección pertinente del patógeno para su mejor manejo.

4.3. Respuesta de aislamientos de *P. capsici* Leo. en plantas de jitomate

Las plantas de jitomate desarrollaron síntomas de pudrición de raíces y ahogamiento 24 horas después de la inoculación con todos los aislamientos,, encontrándose diferencias significativas entre algunos de ellos. El aislamiento de jitomate (JT) presento la incidencia mayor y significativamente diferente a los demás aislamientos de *P. capsici* Leo., los cuales se mantuvieron en un rango de 53 a 73.3% de plantas con síntomas a los cinco días después de la inoculación. En el porcentaje de infección (severidad), el aislamiento de jitomate fué el que presentó el valor mayor desde el primer día después de la inoculación y hasta el término del experimento (5 DDI), cuando se presentó la mayor parte de las plantas muertas. Los aislamientos de calabacita, pepino, chile bell y chile manzano no tuvieron diferencias significativas entre ellos (Cuadro 3). Por otro lado, se observó un periodo de tiempo en el que murieron la mayoría de las plantas de jitomate más corto con respecto a las plantas de calabacita y pepino de los incisos anteriores. Dicho comportamiento coincide con lo observado por Hartman (1993), quien encontró que el desarrollo de la enfermedad fué mayor a los 5 días después de la inoculación de *P. capsici* Leo. en el cuello de plantas de tomate, debido probablemente a que esta especie es más susceptible al ataque de *P. capsici* Leo., o por que no poseé los genes que confieren algún tipo de resistencia al patógeno (Polach y Webster, 1972).

Cuadro 4. Incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez, inducidos por cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo., en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) a los 1 y 5 días después de la inoculación (DDI).

Aislamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	1 DDI ^w	5 DDI	1 DDI	5 DDI
CB ^y	6.7b	53.3b	15.4b	53.3b
PP	13.3b	73.3a	13.0b	66.7b
JT	73.3a	93.3a	23.3a	93.3a
BL	20.0b	66.7a	7.0c	66.7b
MZ	6.7b	70.0a	2.3c	60.0b
Testigo	0.0c	0.0c	0.0c	0.0c
DMS	25.84	25.84	6.39	32.30
r ²	0.91	0.93	0.94	0.90
CV	47.14	16.63	44.21	19.82

^yCB=calabaza, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey (P≥0.05). ^wDDI = Días después de la inoculación.

Se observó una diferencia significativa en la incidencia y porcentaje de infección causado por el aislamiento de jitomate en plantas de la misma especie, coincidiendo con Hartman (1993), quien observó que el aislamiento de *P. capsici* Leo. originario de campos de cultivo con tomate, fué más virulento en plantas de tomate que los aislamientos provenientes de pimiento y calabaza. Así mismo, en un estudio anterior, Hartman y Huang (1991), encontraron que al inocular aislamientos provenientes del follaje de tomate y chile en plantas de col, pepino, tabaco, chile y tomate, únicamente, las dos últimas desarrollaron síntomas, pero variando en su virulencia y sintomatología, así como en la morfología de los esporangios. La variabilidad observada en patogenicidad y virulencia se puede deber a que estas características se pueden heredar a través de la recombinación sexual, mediante la cual se pueden generar razas o subtipos con mayor o menor capacidad de virulencia que sus progenitores (Hausbeck y Lamour, 2004).

Por otro lado, la edad de las plantas de tomate es un factor importante en el desarrollo de la enfermedad y aparición de lesiones causadas por *P. capsici*, siendo que plántulas de 10 a 11 semanas de edad han mostrado síntomas ligeros y reducción de la mortalidad en contraste con plántulas de 6 a 8 semanas de edad (Roberts y McGovern, 2000). Sin embargo, dado que este hongo es de vida policíclica, produce múltiples ciclos de producción de inoculo permitiendo su dispersión y desarrollo de la epidemia, además, la densidad de propágulos en el suelo se incrementa, con lo que favorece el aumento de la incidencia de la enfermedad aún en plantas adultas (Sujkowski, *et al.*, 2000) y únicamente mediante monitoreos constantes puede detectarse el patógeno, sin embargo, en ocasiones de manera tardía pues ya está establecido en una mayor área, por lo que algunos métodos moleculares a base de DNA son ventajosos, ya que no requieren el aislamiento del patógeno, pues la amplificación de la reacción de la cadena polimerasa (PCR) permite la identificación del patógeno directamente del tejido infectado de la planta facilitando la identificación del patógeno y su rápido diagnóstico, para el manejo más apropiado (Ristaino, *et al.*, 1998) y en México ya existen metodologías para la detección de *P. capsici* directamente en las plantas enfermas, aunque estén en asociación con otros patógenos como *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp. (Rico, *et al.*, 2004).

4.4. Respuesta de aislamientos de *P. capsici* Leo. en plantas de chile bell

Todos los aislamientos inoculados fueron patogénicos en las plantas de chile bell, sin embargo, fueron los aislamientos de chile bell y chile manzano los que propiciaron la incidencia y porcentaje de infección mayor en las plantas, sin encontrarse diferencias significativas entre ellos, principalmente a los cinco días después de la inoculación, mientras que entre los aislamientos de calabaza, pepino y jitomate no se observaron diferencias significativas, a excepción del aislamiento JT (Cuadro 4). La variable severidad observada en el experimento coincide con el estudio de Ristaino (1990), quien observó que los aislamientos de cucúrbitas de *P. capsici* Leo. fueron patogénicas sobre chile, sin embargo, la virulencia de estos fué menor que los aislamientos de chile inoculadas en plantas de la misma especie.

Cuadro 5. Incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez, inducidos por cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* en plantas de chile bell (*Capsicum annuum* L.) a los 1 y 5 días después de la inoculación (DDI).

Aislamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	1 DDI ^w	5 DDI	1 DDI	5 DDI
CB ^y	60.0b	60.0b	16.6c	66.7c
PP	53.3b	66.7b	15.4c	66.7c
JT	26.7c	73.3b	10.3d	73.3b
BL	80.0a	100.0a	33.3a	93.3a
MZ	60.7b	78.5a	26.7b	88.7a
Testigo	0.0d	0.0c	0.0e	0.0d
DMS	12.92	25.84	4.83	9.90
r ²	0.98	0.92	0.97	0.98
CV	32.63	16.0	36.49	6.13

^yCB=calabaza, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey (P≥0.05). ^wDDI = Días después de la inoculación.

Por otro lado, se observó que el periodo de sobrevivencia de las plantas después de la inoculación con *P. capsici*, fue relativamente corto, comparado con las de calabacita y pepino, debido probablemente a que a pesar de tener la misma edad, las plantas de chile bell se desarrollan más lentamente y su sistema de raíces fué menor, al igual que su capacidad fotosintética por el tamaño pequeño de sus hojas, características que lo convirtieron en un hospedante más sensible al ataque del patógeno (Barksdale, *et al.*, 1984).

Debido al amplio rango de adaptación del hongo, Romero (1962) mencionó la posible existencia de cierta especialización fisiológica de *P. capsici* al inocular diferentes selecciones de chile con una suspensión de zoosporas de 20 aislamientos provenientes de distintas áreas geográficas y encontró que las plantas inoculadas con aislamientos del mismo sitio de origen tuvieron una incidencia y severidad mayor con respecto a las inoculadas con otros aislamientos, tal como lo demostró esta investigación. Por otro lado, una alternativa para el manejo eficaz de este hongo, es la búsqueda y comercialización de variedades resistentes, tal como lo hicieron Barksdale, *et al.* (1984), quienes al realizar cruza de plantas con menor porcentaje de daño y otras sanas, encontraron una tercera parte de la F₃ donde todos los individuos se enfermaron y una donde todas las plantas fueron completamente sanas o resistentes al patógeno, pues fueron asintomáticas, por lo que mencionaron que el carácter de resistencia esta dado por un solo gene dominante.

De manera semejante, Polach y Webster (1972), mencionaron que las características de virulencia y patogenicidad están dados por un solo gene o un sistema de genes propios del hospedante y de acuerdo a Islam, *et al.* (2002), la resistencia a *P. capsici* Leo. se puede incrementar o activar mediante la irradiación de luz roja en las semillas de las plantas, debido a que estimula la producción de fitoalexinas o sustancias antifungosas, las cuales protegieron a los hospedantes del patógeno, disminuyendo la incidencia de la pudrición de raíces y marchitez de las plantas en tomate, calabacita y chile, además de promover el crecimiento de las plántulas e incrementar el peso fresco y seco.

Por otro lado, la utilización de variedades resistentes al patógeno aún es difícil de realizar ya que a su vez, la progenie de las cruza entre un aislamiento A1 y A2 de *P. capsici* Leo. ha mostrado diferir de sus progenitores, patogénica y morfológicamente, generalmente incrementando la virulencia del patógeno, lo cual sugiere que la reproducción sexual puede llegar a incrementar la virulencia en campo (Hausbeck y Lamour, 2004), por lo que si bien se pueden encontrar o desarrollar plantas resistentes, también el hongo es capaz de tener descendencia más patogénica, además de que dichas variantes resistentes a *P. capsici*, también deben cumplir con buenas características agronómicas y adaptación a condiciones ambientales.

4.5. Respuesta de aislamientos de *P. capsici* Leo. en plantas de chile manzano

Los cinco aislamientos de *P. capsici* Leo. obtenidos de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano, fueron capaces de causar pudrición de raíces y ahorcamiento del tallo en las plantas de chile manzano, con porcentajes de incidencia elevados desde el primer día después de la inoculación. Sin embargo, solo se observaron diferencias significativas entre los aislamientos durante el primer día, siendo el aislamiento de chile manzano el que obtuvo el valor más alto en la incidencia de la enfermedad y el porcentaje de infección, seguido de los aislamientos de chile bell y jitomate, aunque a los 4 días después de la inoculación, se presentó la mortalidad mayor (severidad) y no hubo diferencias significativas entre los aislamientos, pues todos los aislamientos produjeron la muerte en las plantas donde se inocularon (Cuadro 5), mientras que en el testigo, no hubo incidencia y por tanto tampoco infección de las plantas.

Cuadro 6. Incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez, inducidos por cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* en plantas de chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruiz y Pavón) a los 1 y 4 días después de la inoculación (DDI).

Aislamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	1 DDI ^w	4 DDI	1 DDI	4 DDI
CB ^y	53.3b	60.0b	17.7b	87.3a
PP	20.0c	53.3b	7.0d	95.3a
JT	46.7b	53.3b	15.3c	95.3a
BL	53.3b	73.3b	20.0b	98.7a
MZ	10a	100.0a	53.0a	100a
Testigo	0.0c	0.0c	0.0e	0b
DMS	17.92	14.4	4.56	15.27
r ²	0.95	0.95	0.98	0.98
CV	22.38	22.38	10.75	7.28

^yCB=calabaza, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano.

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey (P≥0.05). ^wDDI = Días después de la inoculación.

Este comportamiento coincide con los reportado por Adorada, *et al.* (2000), ya que mencionaron que la enfermedad causada por *Phytophthora capsici* puede ocurrir desde etapas tempranas de germinación y plántula hasta

plantas adultas, con un sistema de raíces bien desarrollado, sin embargo, entre más jóvenes fueron las plantas, mostraron una menor resistencia al patógeno, sin importar el aislamiento del hongo inoculado. De igual manera, Kim, *et al.* (1989) mencionaron que, en plantas de chile de mayor edad (10 a 12 hojas) inoculadas con *P. capsici* Leo., los cultivares probados fueron más resistentes al hongo y el periodo de incubación fué mayor que en plantas jóvenes y susceptibles (4 a 6 hojas).

Al realizar el promedio de la incidencia (%) y severidad (porcentaje de infección) de la pudrición de raíces, inducida por los aislamientos en la fecha final de evaluación, observamos que no hubo diferencias significativas entre las especies inoculadas, sin embargo, la más susceptible al ataque de *P. capsici* Leo. fué la calabacita con una incidencia y porcentaje de infección superior al 70%, mientras que las plantas más tolerantes fueron pepino con una incidencia de 55.5% y 57.8 % de infección y jitomate con 59.4% de incidencia y 56.7% de severidad (Cuadro 7). Con este comportamiento se confirma que tanto solanáceas como cucurbitáceas son susceptibles al patógeno, por lo tanto no se recomendaría la rotación de cultivos con miembros de estas familias como una práctica para reducir el ataque por *Phytophthora capsici* Leo.

Cuadro 7. Promedio de la incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez, inducidos por *Phytophthora capsici* Leo. en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano en la fecha final* de evaluación de cada especie.

Especies inoculadas	Incidencia de la enfermedad (%)	Porcentaje de Infección (%)
Calabacita	72.2a ^z	72.5a
Pepino	55.5a	57.8a
Jitomate	59.4a	56.7a
Chile bell	63.0a	64.8a
Chile manzano	56.7a	79.4a
DMS	56.21	58.14
r ²	0.42	0.71
CV	53.1	51.76

^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05). *La fecha final de evaluación fue diferente para cada especie.

Por otro lado, al observar la diferencia en la incidencia y porcentaje de infección de la enfermedad, Fernández-Pavía, *et al.* (2004), encontraron los tipos de compatibilidad A₁ y A₂ en un mismo predio y solamente 7, de los 26 aislamientos de *P. capsici* estudiados, fueron patogénicos en pepino, 24 fueron virulentos en chile y no observaron una tendencia bien definida en jitomate, por lo que existe variabilidad patogénica entre aislamientos, incluso en los obtenidos de un mismo campo de cultivo. Dicha variabilidad esta directamente relacionada con la reproducción sexual y la recombinación genética que se da a través de ella (Polach y Webster, 1972). Razón por lo cual, se encontraron comportamientos tan heterogéneos en el presente trabajo.

En lo referente al grado de patogenicidad promedio expresada por cada aislamiento, no se encontraron diferencias significativas entre ellos, sin embargo, el aislamiento CB resultó ser el que tuvo incidencia menor y porcentaje de infección menor con 65 y 72.3% respectivamente, mientras que el más patogénico fue el aislamiento MZ, ya que mostró un 79 % de incidencia y severidad. Por otro lado, los aislamientos PP, JT y BL presentaron valores semejantes (Cuadro 8).

Cuadro 8. Promedio de la incidencia (%) y severidad (%) de la pudrición de raíz, cuello y marchitez final, inducidos por cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. en hortalizas.

Aislamientos	Incidencia de la enfermedad (%)	Porcentaje de Infección (%)
CB ^y	65.3a	72.3a
PP	74.7a	83.3a
JT	72.0a	81.7a
BL	77.3a	81.1a
MZ	79.0a	79.1a
DMS	30.0	29.85
r ²	0.09	0.07
CV	22.24	19.84

^yAislamientos: CB=calabacita, PP=pepino, JT=jitomate, BL=chile bell, MZ=chile manzano. ^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

En México, Redondo (1974) probó 44 aislamientos de *P. capsici* Leo. procedentes de diferentes áreas geográficas, en más de 100 materiales de Chile y encontró variación en patogenicidad desde 0% hasta 76%. Mientras que Ristaino (1990) además de observar variabilidad en patogenicidad y virulencia, encontró diferencias en caracteres morfológicos como tamaño y forma de esporangios, longitud del pedicelo, diámetro de oosporas, entre aislamientos de diferentes hospedantes. En el trabajo de Tlapal, *et al.* (1995) al estudiar 30 aislamientos de Chile, se encontraron variaciones su comportamiento fisiológico a diferentes temperaturas, forma de la colonia, tiempo de esporulación, así como de liberación de zoosporas.

La variabilidad genética encontrada en aislamientos de *Phytophthora capsici* dificulta enormemente el manejo y control de este patógeno, por lo que es necesario implementar estrategias combinadas para lograr disminuir, en lo posible, los ataques o pérdidas causadas por dicho hongo, sin embargo, la rotación de cultivos es una práctica que requiere un lapso de tiempo de al menos 4 a 5 años, intercalando con especies no susceptibles, aunque de valor económico menor, como soya, maíz y trigo, las cuales no fueron afectadas con *P. capsici* en un estudio realizado por Tian y Babadoost (2004). Otra alternativa que requiere un estudio mayor es la búsqueda de cultivares resistentes y con buenas características agronómicas (Babadoost e Islam, 2002; Barksdale, *et al.*, 1984), así como el cuidado sanitario de las plántulas mediante fungicidas aplicados de manera preventiva, ya que es en esta etapa cuando se observó la incidencia y porcentaje de severidad mayor, incrementando la mortalidad en etapas tempranas de los cultivos.

5. CONCLUSIONES

Los cinco aislamientos de *P. capsici* Leo. obtenidos de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano fueron patogénicos, ya que indujeron enfermedad en las plantas probadas, mostrando comportamiento diferente en cada especie.

Se encontró cierta especificidad de los aislamientos al desarrollar la incidencia y severidad (porcentaje de infección) mayor cuando se inocularon en plantas donde se aislaron originalmente.

Las plantas de calabacita y pepino tardaron más tiempo en morir (8 DDI), seguidas del jitomate y chile bell (5 DDI) y las menos tolerantes fueron las plantas de chile manzano pues murieron a los 4 DDI ubicándolo como la hortaliza más susceptible.

Las plantas de calabacita, jitomate, chile bell y chile manzano fueron afectadas desde el primer día después de la inoculación, mientras que el pepino mostró incidencia de la enfermedad más retrasada.

La calabacita fue la especie más susceptible por tener en promedio la incidencia y severidad de la enfermedad mayor, mientras que el pepino y jitomate mostraron mayor tolerancia a las inoculaciones con los diferentes aislamientos de *P. capsici* Leo.

El aislamiento más patogénico en cuanto incidencia y severidad fue el MZ, mientras que el de menor incidencia y porcentaje de infección fue el CB.

Existe variabilidad patogénica entre aislamientos de *P. capsici* Leo. obtenidos de distintos hospedantes y áreas geográficas, así como variabilidad de respuesta de las hortalizas inoculadas.

6. LITERATURA CITADA

- Adorada, D. L. Biles, C. L. Liddell, C. M., Fernández-Pavía, S., Waugh, K. O. and Waugh, M. E. 2000. Disease development and enhanced susceptibility of wounded pepper roots to *Phytophthora capsici*. Plant Pathology 49:719-726.
- Babadoost, M. and Islam, S. 2002. Bell peppers resistant to *Phytophthora* blight. Phytopathology 92(6):S5.
- Babadoost, M. and Islam, S. 2003. Fungicide seed treatment effects on seedling damping-off of pumpkin caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease 87:63-68.
- Barksdale, T. H., Papavizas, G. C. and Johnston, S. A. 1984. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease 68:506-509.
- Beckman, C. H. 1987. The Nature of Wild Diseases of Plants. The American Phytopathological Society. APS Press. Minnesota, United States of America. 175 p.
- Blancard, D., Lecoq, H. y Pitrat, M. 2000. Enfermedades de las Cucurbitáceas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 301 p.
- Fernández, H. E. 2006. Manejo químico de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici* Leo.) en condiciones de invernadero. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Edo. de México, México. 102 p.
- Fernández-Pavía, S., Biles, Ch., Waugh, M., Onsurez-Waugh, K., Rodríguez-Alvarado, G. and Liddell, C. 2001. Characterization of southern New Mexico

Phytophthora capsici Leonian isolates from pepper (*Capsicum annuum* L.).
Revista Mexicana de Fitopatología 22(1):82-88.

Galindo, A. J. 1960. Estudio preliminar sobre la marchitez de las plantas de chile en México y agente causal *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura. Estado de México, México. 42 p.

Hartman, G. L. 1993. Pathogenicity and virulence of *Phytophthora capsici* isolates from Taiwan on tomatoes and other selected hosts. Plant Disease 77:588-591.

Hartman, G. L. and Huang, Y. H. 1991. Characterization and pathogenicity of *Phytophthora capsici* on pepper and tomato. Phytopathology 81(10):1233.

Hausbeck, M. and Lamour, K. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. Plant Disease 88(12):1292-1302.

Hernández-Arenas, M. y Acosta-Ramos, M. 2005. Patogenicidad de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian en hortalizas en postcosecha. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. S/P.

Islam, S., Babadoost, M. and Honda, Y. 2002. Effect of red light treatment of seedlings of pepper, pumpkin and tomato on the occurrence of *Phytophthora damping-off*. HortScience 37(4):678-681.

Kim, Y. J., Hwang, B. K. and Park, K. W. 1989. Expression of age-related resistance in pepper plants infected with *Phytophthora capsici*. Plant Disease 73:745-747.

Polach F. J. and Webster, R. K. 1972. Identification of strains and inheritance of pathogenecy in *Phytophthora capsici*. Phytopathology 62:20-26.

- Ramírez, S. J. 2005. Diferenciación de especies de *Phytophthora* mediante polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Edo. de México, México. 103 p.
- Ramírez, V. J. y Romero, C. S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leonian agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia* 39: 9-18.
- Rangel-Jiménez, V. y Acosta-Ramos, M. 2005. Determinación de los agentes causales de la marchitez en *Capsicum pubescens*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. S/P.
- Redondo, J. E. 1974. Estudio preliminar en la obtención de posibles plantas diferenciales para agrupar las razas patogénicas de *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados. Estado de México, México. 52p.
- Redondo, J. E. 1986. Mecanismo de infección y patología de las plantas de chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Doctorado, Colegio de Postgraduados. Estado de México, México. 182 p.
- Rico, G. L., Medina, R. S., Muñoz, S. C., Guevara, O. L., Guevara, G. L., Guerrero, A. B., Torres, P. I., Rodríguez, G. R. y González, Ch. M. 2004. Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) mediante PCR. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22(1): 1-6.
- Ristaino, J. B. 1990. Intraespecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *Phytopathology* 80(11):1253-1258.
- Ristaino, J. B., Trout, C. L. and Gregory, P. 1998. PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora*. *Appl. Environmental Microbiology* 64:948-954.

- Roberts, R. and McGoven, R. 2000. Age and varietal response of tomato to infection by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 90(6):S65.
- Romero, C. S. 1962. Inoculación artificial de chile en campo con *Phytophthora capsici* Leo. *Agricultura Técnica en México* 2:79-80.
- Romero, C. S. 1988. Hongos fitopatógenos. Patronato Universitario. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México. 347 p.
- Sujkowski, L. S., Parra, G. R., Gumpertz, M. L. and Ristaino, J. B. 2000. Temporal dynamics of *Phytophthora* blight on bell pepper in relation to the mechanisms of dispersal of primary inoculum of *Phytophthora capsici* in soil. *Phytopathology* 90:148-156.
- Tian, D. and Babadoost, M. 2004. Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. *Plant Disease* 88(5):485-489.
- Tlapal, B., Osada, S., González, F. y Mendoza, C. 1995. Comportamiento fisiológico de 30 aislamientos de *Phytophthora capsici*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 13:41-51.
- Townsend, G. R. and Heuberger, J. W. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease* 27:340-343.

CAPITULO IV.

MANEJO BIOLOGICO DE *Phytophthora capsici* Leo. EN CINCO HORTALIZAS EN INVERNADERO

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fué evaluar la eficacia de los biocontroladores comerciales T22[®], Healthy Start[®] 3-4-3 y Bioraíz[®], en su aplicación individual y combinada, para el manejo de *Phytophthora capsici* en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano en condiciones de invernadero. Se empleó la dosis comercial, aplicando al momento de la siembra y un día antes del trasplante. Las plantas se mantuvieron en invernadero a una temperatura promedio de $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $80\pm 5\%$, aplicando riego diariamente. La aplicación de los biocontroladores, no redujo de manera significativa la incidencia o el porcentaje de infección causada por *P. capsici* en las plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano. Sin embargo, la aplicación de los productos combinados Bio+T22 y 343+T22 lograron reducir hasta un 20% la incidencia de la pudrición de raíces y disminuyeron hasta un 17% el porcentaje de infección.

BIOLOGICAL MANAGEMENT OF *Phytophthora capsici* IN FIVE VEGETABLES UNDER GREENHOUSE

ABSTRACT

The aim of this work, was evaluated the efficiency of commercial products T22[®], Healthy Start[®] 3-4-3 and Bioraíz[®], applied combined and alone for the management of *P. capsici* Leo. in plants of *zucchini* squash, cucumber, tomato, bell pepper and *manzano* chili pepper under greenhouse conditions. The doses commercial was used, one time in the sown and other one day before transplanting. The plants were maintaining under greenhouse at 25±5°C average temperature and 80±5% relatively humidity with irrigation every days. The application of biocontrol products did not significantly reduce the incidence of infection in plants of *zucchini* squash, cucumber, tomato, bell pepper and *manzano* chili pepper. However, on average, the application of combined products Bio+T22 and 343+T22 reduced the incidence of rot rotting and infection percentage to 20% and 17% respectively.

1. INTRODUCCION

Debido al uso, en ocasiones excesivo, de los productos químicos para el manejo y control de los fitopatógenos, se han buscado opciones nuevas y no agresivas al ambiente, que permitan el uso racional de los recursos, además de evitar o retrasar la obtención de resistencia de los patógenos. Sin embargo, se deben considerar aspectos como las interacciones entre la planta, patógeno, agente de biocontrol y condiciones ambientales para el resultado óptimo de los productos (Campbell y Benson, 1994). Así mismo, el conocimiento de la ecología y epidemiología es importante para determinar el momento y lugar oportuno para el manejo de las enfermedades en los cultivos (Pedroza, 1995).

Existen cuatro estrategias principales empleadas por los agentes de biocontrol: a) protección de la rizósfera del suelo, b) interferencia en el desarrollo del patógeno, c) competencia por nutrimentos, d) destrucción del inoculo, e) autodefensa de la planta y f) producción de metabolitos antifúngicos (Hornby, 1990; Campbell y Benson, 1994; Cook, 1985). Además, existen factores externos que permiten un método de control eficaz, por ejemplo, en algunos suelos llamados supresivos, el antagonismo microbial del patógeno es muy alto, favoreciendo el control de la enfermedad (Weller, 1988).

Los factores principales que han contribuido al uso cada vez mayor de los biocontroladores, son por la pérdida de registros de los productos químicos, poca tolerancia a residuos químicos, resistencia a plaguicidas, la contaminación del ambiente, el problema de salud y seguridad pública y seguridad del trabajador (Paulitz y Bélanger, 2001; Zavaleta, 1994).

La mayoría de los productos comerciales desarrollados para el biocontrol de fitopatógenos están diseñados para utilizar los antagonistas nativos de los patógenos y por el establecimiento de antagonistas introducidos (Zavaleta, 1994). Sin embargo, a pesar de que el desarrollo mayor de biocontroladores esta dirigido al manejo de fitopatógenos habitantes de la rizósfera del suelo,

tales como *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp., mediante bacterias promotoras del crecimiento como *Bacillus* sp. y hongos antagonistas como *Trichoderma* sp., su eficacia y confiabilidad es aún incierta debido a la poca credibilidad del control biológico (Cook, 1985; Hornby, 1990). Aunado a esto, son pocas las investigaciones desarrolladas en México para el manejo de *Phytophthora capsici* Leo. mediante el uso de biocontroladores, por lo anterior es importante realizar estudios que permitan evaluar a diferentes agentes de biocontrol para el manejo de *P. capsici* en diferentes hortalizas de fruto, siendo estas de gran importancia para México. Considerando estos aspectos, surge el presente trabajo de investigación, teniendo como objetivo el siguiente:

2. OBJETIVO

- Evaluar la eficacia de productos biológicos a base de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. para el manejo de cinco aislamientos de *Phytophthora capsici* en plantas de calabaza, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano en condiciones de invernadero.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Material vegetal

Se emplearon 90 plantas de calabacita (*Cucurbita pepo* L. cv. Zuchini), de pepino (*Cucumis sativus* L.), de jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.), de chile bell (*Capsicum annuum* L.) y 90 de chile manzano (*C. annuum* L.), las cuales se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades (jitomate, chile bell y chile manzano) y en vasos de unicel No. 16 (calabacita y pepino), posteriormente se trasplantaron en macetas de siete pulgadas que contenían tierra de monte esterilizada con bromuro de metilo. Estas se mantuvieron en el invernadero del Departamento de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Chapingo, donde se llevo a cabo el experimento.

3.2. Aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian

Se emplearon cinco aislamientos monozoospóricos de *Phytophthora capsici* Leonian, aislados de tomate en Texcoco, Edo de México (Fernández, 2006), chile bell en Sinaloa, calabaza y pepino en Morelos (Ramírez, 2005), y chile manzano en Coatepec de Harinas, Edo. de México (Rangel-Jiménez y Acosta-Ramos, 2005), los cuales se utilizaron en el trabajo realizado por Hernández-Arenas y Acosta-Ramos (2005), para determinar su patogenicidad en frutos de calabaza, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano.

3.3. Preparación y cuantificación del inóculo

Cada uno de los aislamientos, se sembró en cajas Petri con medio de cultivo jugo de tomate-agar para su incremento masivo; al cabo de 10 días, el micelio invadió por completo el medio de cultivo, del cual se tomaron 10 discos de 5 mm de diámetro y se colocaron en una caja Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada; estos se incubaron a 25°C para promover la formación de esporangios, los cuales se obtuvieron a los 3 días. Para la liberación de zoosporas, las cajas Petri con los discos se colocaron a 12°C durante 20 a 30

minutos (Ramírez y Romero, 1980) y con un hemacitómetro se cuantificó la solución madre, ajustándola a una concentración de 1×10^5 zoosporas·mL⁻¹ (Hernández-Arenas y Acosta-Ramos, 2005).

3.4. Aplicación de los biocontroladores

Se sembraron 450 plantas de hortalizas; 90 de calabaza, 90 de pepino, 90 de jitomate, 90 de chile bell y 90 de chile manzano para evaluar los productos comerciales T22[®], Healthy Start[®] 3-4-3 y Bioraíz[®] en su aplicación individual y combinada para el manejo biológico de *Phytophthora capsici*. Dichos productos se aplicaron de acuerdo a las especificaciones técnicas de Plant Health Care México, (2006a), Plant Health Care México (2006b) y Bayer Cropscience (2006): todos al momento de la siembra y un día antes del trasplante. Las plantas se mantuvieron en invernadero a una temperatura promedio de $25 \pm 5^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $80 \pm 5\%$, aplicando riego diariamente.

3.5. Inoculación de los aislamientos de *P. capsici*

Al día siguiente del trasplante y/o aplicación de los biocontroladores, se inocularon todas las plantas con 2 mL⁻¹ de una solución de zoosporas (concentración 1×10^5 zoosporas·mL⁻¹), del aislamiento de *Phytophthora capsici* correspondiente a cada hortaliza, de manera dirigida al cuello de las plantas (Polach y Webster, 1971). Las plantas se consideraron enfermas cuando se hicieron visibles las primeras lesiones en el cuello del tallo.

3.6. Variables evaluadas

Se determinó la incidencia y severidad de la enfermedad (marchitez de las plantas) inducida por *P. capsici*. La incidencia se consideró como el número de plantas que mostraron síntomas de marchitez y/o ahorcamiento del cuello de la planta con respecto al número total de plantas muestreadas para cada especie; dicha variable se determinó diariamente durante los 10 días después de la inoculación (DDI) o al tener mayoría de plantas muertas y los datos se

expresaron en porcentaje (%). La severidad de la enfermedad se consideró como el grado de afectación por *Phytophthora capsici*, estimado de manera visual de los 1 a 10 días después de la inoculación, mediante una escala de daño: 0 (planta sana), 1 (planta con ligera marchitez), 2 (planta con marchitez moderada) y 3 (planta seca o muerta). Dichos valores se transformaron a porcentajes de infección mediante la Fórmula de Townsed y Heuberger (1943) modificada para esta investigación:

$$PI = \frac{\sum_{i=1}^{n=5} (n * V)}{\text{Categoría mayor} * N} * 100$$

Donde:

- PI = Porcentaje de infección.
- n = número de plantas en cada categoría.
- v = Valor numérico de cada categoría.
- N = Número total de plantas en la repetición.

3.7. Diseño del experimento

El experimento estuvo constituido por 25 tratamientos, los cuales estuvieron conformados por la aplicación individual y combinada de los productos biológicos en plantas de calabaza, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano, además de un testigo (inoculación del patógeno sin biocontrolador) para cada hortaliza. La unidad experimental estuvo constituida por cinco plantas con tres repeticiones (Cuadro 1), empleando un diseño experimental completamente al azar.

3.8. Análisis estadístico

Todos los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), mediante el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., 1998).

Cuadro 1. Tratamientos, hortalizas, productos, repeticiones y número de plantas empleados para el manejo biológico de *P. capsici* en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano.

Tratamiento	Hortalizas	Productos *	U. E. **	Repeticiones
1	Calabacita	Bio	5	3
2	Calabacita	T22	5	3
3	Calabacita	343	5	3
4	Calabacita	Bio + T22	5	3
5	Calabacita	343 + T22	5	3
6	Pepino	Bio	5	3
7	Pepino	T22	5	3
8	Pepino	343	5	3
9	Pepino	Bio + T22	5	3
10	Pepino	343 + T22	5	3
11	Jitomate	Bio	5	3
12	Jitomate	T22	5	3
13	Jitomate	343	5	3
14	Jitomate	Bio + T22	5	3
15	Jitomate	343 + T22	5	3
16	Chile bell	Bio	5	3
17	Chile bell	T22	5	3
18	Chile bell	343	5	3
19	Chile bell	Bio + T22	5	3
20	Chile bell	343 + T22	5	3
21	Chile manzano	Bio	5	3
22	Chile manzano	T22	5	3
23	Chile manzano	343	5	3
24	Chile manzano	Bio + T22	5	3
25	Chile manzano	343 + T22	5	3
26	Testigo inoculado	Sin producto	5	3

* Producto comercial y dosis aplicada: Bio = Bio-Raíz® (2 g·L⁻¹); T22 = T-22® PH (3 g·L⁻¹); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (5 g·L⁻¹). Todos los biocontroladores aplicados al momento de la siembra y al momento del trasplante. **U. E. = Unidad experimental.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Manejo biológico de *P. capsici* Leo. en calabacita (*Cucurbita pepo* L.)

La aplicación de los productos biológicos comerciales Bio-Raíz[®], T-22[®] PH y Healthy Start[®] 3-4-3, en plantas de calabacita no proporcionaron el control eficaz de la pudrición de raíces y tallo inducida por *P. capsici* Leo., ya que las primeras plantas enfermas aparecieron a los 3 días después de la inoculación con el porcentaje de incidencia mayor en las plantas testigo y la menor en plantas tratadas con la mezcla Bio+T22, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Por otro lado, al cabo de nueve días, el porcentaje de incidencia de la enfermedad fué superior al 80% en las plantas tratadas con Bio+T22, lográndose la reducción de la enfermedad del 16% con respecto al testigo, donde la pérdida fue total, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por *Phytophthora capsici* Leo. en plantas de calabacita (*Cucurbita pepo* L.), tratadas con diferentes biocontroladores a los 3 y 9 días después de la inoculación (DDI).

Tratamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	3 DDI	9 DDI	3 DDI	9 DDI
Bio ^y	25.0a ^z	100.0a	13.3a	86.7a
T22	16.7a	100.0a	6.7a	86.7a
343	16.7a	100.0a	10.0a	93.3a
Bio + T22	8.3a	91.6a	10.0a	83.3a
343 + T22	16.7a	83.3a	10.0a	86.7a
Testigo inoculado	48.7a	100.0a	10.0a	100.0a
DMS	63.24	13.74	23.04	23.04
r ²	0.48	0.26	0.06	0.38
CV	36.11	36.11	88.71	13.51

^yProducto comercial y dosis aplicada: Bio = Bio-Raíz[®] (2 g·L⁻¹); T22 = T-22[®] PH (3 g·L⁻¹); 343 = Healthy Start[®] 3-4-3 (5 g·L⁻¹). ^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

El comportamiento del patógeno concuerda con lo observado en el estudio de Tian y Babadoost (2004), quienes encontraron infección de raíces, cuello de la planta y tallo y finalmente muerte de plantas de calabaza jóvenes en una proporción mayor que en las plantas adultas. Además, mencionaron que las plantas de chile y calabaza fueron las más susceptibles a *P. capsici* Leo., ya que tuvieron una incidencia de pudrición del 50 al 95% a los 12 días después de la inoculación. Por otro lado, aunque la raza T-22 de *Trichoderma harzianum* ha sido probada en ensayos de campo e invernadero y se ha documentado que es capaz de colonizar el sistema de raíces de las plantas y competir por espacio con los patógenos (Paulitz y Bélanger, 2001), no logró impedir o disminuir el porcentaje de infección por *P. capsici* Leo., probablemente por que el patógeno es más agresivo y al momento de inocularlo en un suelo sin más competidores, tuvo las condiciones necesarias para su proliferación. Es por ello que McSpadden y Driks (2004) sugieren nuevos y más estudios detallados con otras especies y razas de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp., así como la utilización de su genoma en el mejoramiento de las ya existentes. Otra razón por la que los productos biocontroladores no dieron el resultado esperado, podría ser que la estrategia empleada fue mediante la introducción de antagonistas, cuyo establecimiento es generalmente difícil, pues se trató de emplear un microorganismo extraño en un ambiente poco favorable para su desarrollo y colonización de las raíces de las plantas (Zavaleta, 1994).

4.2. Manejo biológico de *P. capsici* Leo. en pepino (*Cucumis sativus* L.)

Al igual que en las plantas de calabacita, la aplicación de los biocontroladores en plantas de pepino no proporcionaron un control eficaz de la pudrición de raíces y cuello de la planta inducido por *P. capsici* Leo. Sin embargo, mantuvo los porcentajes menores de incidencia de la enfermedad (observados a los 3 DDI) en las plantas tratadas con respecto al testigo, aunque no de manera significativa, ya que a los 10 DDI los tratamientos Bio y 343 redujeron la incidencia en un 17% respecto al testigo, mientras que en su aplicación individual y combinados cada uno con T22, disminuyeron el porcentaje de infección cerca del 10% con respecto a las plantas testigo

(Cuadro 3). Aunque los productos empleados no tuvieron diferencias significativas respecto a las plantas sin tratar, en un estudio similar, Khan *et al.*, (2004), encontraron que *Trichoderma hamatum* 382 (raza T382), aplicada con una mezcla de composta en plantas de pepino al momento del trasplante, redujo en un 50% la pudrición de raíz y tallo por *P. capsici*, por lo que sería recomendable estudiar la especificidad de los antagonistas tanto a los patógenos como a las plantas en que se utilizarán.

Cuadro 3. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por *Phytophthora capsici* Leo. en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) tratadas con diferentes biocontroladores a los 3 y 10 días después de la inoculación (DDI).

Tratamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	3 DDI	10 DDI	3 DDI	10 DDI
Bio ^y	25.0a ^z	83.3a	10.0a	96.7a
T22	33.3a	100.0a	13.3a	100.0a
343	25.0a	83.3a	13.3a	93.3a
Bio + T22	25.0a	100.0a	10.0a	90.0a
343 + T22	33.3a	100.0a	6.7a	96.7a
Testigo	41.6a	100.0a	10.0a	100.0a
DMS	33.4	8.82	16.83	11.90
r ²	0.35	0.57	0.08	0.33
CV	27.97	22.84	81.53	6.30

^yProducto comercial y dosis aplicada: Bio = Bio-Raíz® (2 g·L⁻¹); T22 = T-22® PH (3 g·L⁻¹); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (5 g·L⁻¹). ^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

Por otro lado, en algunas investigaciones (Nemec, *et al.*, 1996; Weller, 1988; Hornby, 1990), se mencionó la capacidad *Bacillus* sp. para inhibir al patógeno, mediante un efecto antagónico, además de promover el crecimiento de la planta. Sin embargo, en este experimento no se observó esta respuesta, probablemente por que las bacterias se afectaron por el almacenamiento, a que no produjo los niveles óptimos de productos antifúngicos, e incluso las condiciones de temperatura y humedad no fueron las apropiadas para el desarrollo y distribución del bacilo en las raíces de la planta (Zavaleta, 1994; Paulitz y Bélanger, 2001; Schisler, *et al.*, 2004). Finalmente, de las razas de *Bacillus subtilis* probadas en pepino y tomate para el control de *Pythium aphanidermatum* y *Phytophthora nicotianae* en invernadero, las razas FZB 13

y FZB 44, dieron mejor resultado (Weller, 1988), de igual forma presentaron antagonismo a hongos y bacterias en pepino, disminuyendo el daño inducido por *P. aphanidermatum* (Smith *et al.*, 1993), por lo que deben estudiarse a detalle otras razas de *Bacillus* sp., para el control de *P. capsici* Leo.

4.3. Manejo biológico de *P. capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

La aplicación de Bio-Raíz® y Healthy Start® 3-4-3 en su mezcla con T-22® PH indujeron la incidencia menor de la pudrición de raíces, sin embargo, no tuvieron efecto en alargar el periodo de incubación del inóculo, ya que a diferencia de la calabaza y pepino, los síntomas en tomate aparecieron a los 2 DDI con una incidencia de 16.7% hasta un 41.7% y a los 8 DDI ya se tenía una incidencia del 90 al 100% para todos los tratamientos. Por otro lado, a los 8 DDI, la severidad expresada en porcentaje de infección, disminuyó significativamente (17%) respecto al testigo cuando se aplicó la mezcla Bio + T22, mientras que en los demás tratamientos no se obtuvo mejoría, teniendo niveles de infección del 93 al 100% (Cuadro 4).

Cuadro 4. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por *Phytophthora capsici* Leo. en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tratadas con diferentes biocontroladores a los 2 y 8 días después de la inoculación (DDI).

Tratamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	2 DDI	8 DDI	2 DDI	8 DDI
Bio ^y	33.3a ^z	100.0a	3.3b	93.3a
T22	41.7a	100.0a	18.2a	100.0a
343	41.7a	100.0a	13.3a	96.7a
Bio + T22	16.7b	91.7a	6.7b	83.3b
343 + T22	25.0b	100.0a	13.3a	93.3a
Testigo	66.7a	100.0a	26.7a	100.0a
DMS	35.13	5.97	18.81	9.41
r ²	0.68	0.29	0.45	0.66
CV	36.11	16.15	72.16	5.03

^yProducto comercial y dosis aplicada: Bio = Bio-Raíz® (2 g·L⁻¹); T22 = T-22® PH (3 g·L⁻¹); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (5 g·L⁻¹). ^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

El comportamiento observado coincide con el trabajo de Lagunas (2000), quien no encontró diferencia significativa al aplicar *Bacillus* contra *P. capsici* Leo. en jitomate, sin embargo señala que la menor severidad y menor número de plantas muertas correspondió a los tratamientos realizados en suelo no pasteurizado, contrario al empleado en este trabajo, pues se utilizó suelo bromurado. Lo anterior se debió probablemente a que la bacteria en el suelo no produjo suficientes antifúngicas o que éstas se produjeron pero fueron degradadas o adsorbidas en las partículas del suelo (Smith, *et al.*, 1993). Asimismo, Fernández (2006), mencionó que la aplicación de Bio-Raíz® y Healthy Start® 3-4-3 no protegió a las plantas de jitomate de la infección inducida por *P. capsici* Leo.

En pruebas realizadas *in vitro* (Lagunas, 2000), se encontraron tres cepas de *Bacillus* que redujeron de manera significativa el crecimiento de *P. capsici* Leo., desde un 33 a 44%, además de promover el crecimiento de jitomate hasta en un 84%. Por otro lado, a pesar de que *Trichoderma*, ha sido estudiado como promotor de la germinación y crecimiento de flores y hortalizas (Chang, *et al.*, 1986), como micoparásito de *Pythium*, *Sclerotium* y *Rhizoctonia*, además de su resistencia y compatibilidad con fungicidas (Hornby, 1990; Papavizas y Lewis, 1983), en esta investigación solo proporcionó una disminución en el porcentaje de infección cuando se aplicó en mezcla con *Bacillus* (Bio-Raíz®), probablemente por que se amplió el rango de microorganismos benéficos en el suelo, sumando sus propiedades antagónicas y con ello disminuyendo la acción del patógeno (Weller, 1988; Cook, 1985; Zavaleta, 1994). Por otro lado, Strashnov *et al.* (1985) citados por Hornby (1990) mencionaron que *T. harzianum* aplicado de manera individual redujo la incidencia de *Rhizoctonia solani* en plantas de jitomate en un 43% bajo condiciones de laboratorio, además de reducir la densidad de inóculo en 85%, estos resultados contradictorios solo indican que deben estudiarse las características fisiológicas y capacidad de biocontrol de las razas o variantes de los organismos benéficos, así como su estabilidad después de su formulación (Zavaleta, 1994; Papavizas y Lewis, 1983).

4.4. Manejo biológico de *P. capsici* Leo. en chile bell (*Capsicum annuum* L.)

El manejo biológico de *P. capsici* Leo. en chile bell no tuvo un efecto positivo significativamente con respecto a las plantas testigo, ya que las primeras plantas enfermas aparecieron a los 2 días después de la inoculación (DDI), alcanzando una incidencia de la enfermedad superior al 6.5% en todos los tratamientos, sin embargo, las plantas testigo tuvieron el porcentaje mayor con 18.3%, el cual se incrementó exponencialmente a los 8 DDI. De igual manera, el porcentaje de infección en todos los tratamientos fué superior al 10% a los 2 DDI y finalmente las aplicaciones de los biocontroladores de forma individual suprimieron la enfermedad en un 5%, mientras que en forma combinada disminuyeron el porcentaje de infección en cerca del 15% con respecto al testigo, aunque estadísticamente no se consideraron como diferentes (Cuadro 5).

Cuadro 5. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por *Phytophthora capsici* Leo. en plantas de chile bell (*Capsicum annuum* L.) tratadas con diferentes biocontroladores a los 2 y 8 días después de la inoculación (DDI).

Tratamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	2 DDI	8 DDI	2 DDI	8 DDI
Bio ^y	8.3a ^z	96.7a	15.4a	98.7a
T22	11.1a	93.3a	16.7a	96.3a
343	7.8a	88.3a	13.3a	97.8a
Bio + T22	8.3a	81.7a	13.3a	86.6a
343 + T22	6.7a	80.0a	11.1a	83.8a
Testigo	18.3a	96.7a	26.7a	100.0a
DMS	14.2	27.27	21.54	28.82
r ²	0.407	0.49	0.37	0.27
CV	32.30	45.68	47.13	18.20

^y Producto comercial y dosis aplicada: Bio = Bio-Raíz® (2 g·L⁻¹); T22 = T-22® PH (3 g·L⁻¹); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (5 g·L⁻¹). ^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

La aplicación de los biocontroladores en forma conjunta tuvo mejor efecto, probablemente, debido a que hubo mayor producción de sustancias antibióticas que inhibieron el crecimiento y desarrollo del patógeno, sin embargo, el resultado general indica que no existió mejoría significativa con

respecto a las plantas testigo, por lo que se debieran realizar otras estrategias para el manejo eficaz de *P. capsici* Leo., como labores culturales, mejoramiento genético, medidas preventivas, rotación de cultivos, aplicación de fungicidas, entre otras (Namesny, 1996; Hausbeck y Lamour, 2004).

Si bien algunos autores han hecho referencia a la actividad antagónica y supresora de especies de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp., sobre patógenos de las raíces, su capacidad como promotores de la germinación y crecimiento en árboles, flores y hortalizas alrededor del mundo (Lifshitz, et al., 1986; Sid, et al., 1999; Berger, et al., 1996; Roiger y Jeffers, 1991), la mayoría de los estudios están fundamentados principalmente en estudios *in vitro*, los cuales al ejecutarlos *in vivo* dan como resultado comportamiento diferente al esperado. En un estudio realizado por Roiger y Jeffers (1991) con 223 aislamientos de *Trichoderma* para el control de *Phytophthora* en árboles de manzano, únicamente cinco de ellos tuvieron un buen resultado al aplicarlos *in vivo* a pesar de que las pruebas *in vitro* mostraron al menos 20 aislamientos promisorios.

En estudios similares para el manejo de *P. capsici* Leo., mediante *T. harzianum* (Sid, et al., 1999) sugieren que la presencia de *Trichoderma* en el sustrato reduce de manera significativa la pudrición de raíces en plantas de chile, al parecer por alteraciones producidas por el biocontrolador en las hifas del patógeno, sin embargo hacen énfasis en la importancia del contenido de la materia orgánica, así como de la edad y método de preparación del inóculo usado. Por su parte, Guigón-López y González-González (2003), encontraron tres cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de chile jalapeño, durazno y menta en Chihuahua, las cuales mostraron alta actividad micoparásita *in vitro* sobre *P. capsici* Leo., mientras que en invernadero mejoraron significativamente el desarrollo de las plantas.

Estos resultados contradictorios también se han presentado al emplear bacterias de *Pseudomonas* y *Bacillus*, encontrando que su aplicación en algunas flores tuvo pobre actividad biocontroladora sobre *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp. (Berger, et al., 1996). Sin embargo, existen registros de la

actividad de estas bacterias como promotoras de la resistencia sistémica inducida en las plantas donde se les administre, provocando una reducción significativa en la incidencia o severidad de varias enfermedades sobre numerosos hospedantes, principalmente sobre tomate, pimiento, melón, calabaza, pepino, tabaco, entre otros, adjudicando este comportamiento a cambios infraestructurales en las plantas durante el ataque del patógeno, así como alteraciones citoquímicas (Kloepper, *et al.*, 2004).

4.5. Manejo biológico de *P. capsici* Leo. en chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruiz y Pavón)

El periodo de incubación de *P. capsici* Leo. en plantas de chile manzano duró el mismo tiempo que el observado en chile bell (2 días), así como el tiempo transcurrido antes de su muerte (8 días después de la incubación), sin embargo se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de incidencia y el porcentaje de infección entre ambos hospedantes, a pesar de pertenecer a la misma familia y estar relacionados estrechamente, lo que coincide con lo mencionado por Hornby (1990), cuando menciona que un mismo biocontrolador puede actuar de manera diferente en el mismo patógeno sobre el mismo hospedante y viceversa. Las variables evaluadas tuvieron valores menores en chile bell con respecto al chile manzano en ambos periodos, por lo que se deduce que este último es más susceptible a *Phytophthora capsici* Leo. entre todas las hortalizas estudiadas, o en dado caso, que los biocontroladores aplicados surtieron un efecto menor en chile manzano que en calabaza, pepino, jitomate y chile bell. La incidencia de la enfermedad tuvo del 25 al 41% en las plantas de chile manzano a los 2 DDI, mientras que a los 8 DDI fué superior al 90%, teniendo la reducción más alta (12%) de la enfermedad cuando se aplicó el tratamiento de Bio + T22 así como 343 + T22 (Cuadro 6), debido probablemente a que se incrementó la actividad antifúngica de *Trichoderma* y *Bacillus*, incluyendo antibióticos, compuestos como enzimas líticas que degradan las membranas fungosas, competencia por nutrientes, entre otras, las cuales inhibieron o retardaron en cierta medida el desarrollo del patógeno (Ait-Lahsen, *et al.*, 2001; De la Cruz, *et al.*, 1995).

Cuadro 6. Incidencia de la enfermedad (%) y porcentaje de infección (%) inducidos por *Phytophthora capsici* en plantas de chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruiz y Pavón) tratadas con diferentes biocontroladores a los 2 y 8 días después de la inoculación (DDI).

Tratamiento	Incidencia de la enfermedad (%)		Porcentaje de Infección (%)	
	2 DDI	8 DDI	2 DDI	8 DDI
Bio ^y	33.3a ^z	100.0a	11.1a	100.0a
T22	41.7a	91.7b	27.7a	100.0a
343	41.7a	100.0a	16.7a	100.0a
Bio + T22	33.3a	100.0a	11.1a	88.9a
343 + T22	25.0a	100.0a	5.5b	94.4a
Testigo	41.7a	100.0a	16.7a	100.0a
DMS	16.48	5.97	21.53	18.65
r ²	0.25	0.29	0.53	0.35
CV	36.11	16.15	33.03	7.06

^yProducto comercial y dosis aplicada: Bio = Bio-Raíz[®] (2 g·L⁻¹); T22 = T-22[®] PH (3 g·L⁻¹); 343 = Healthy Start[®] 3-4-3 (5 g·L⁻¹). ^zValores con la misma letra dentro de la columna son estadísticamente iguales con la prueba de Tukey (P≥0.05).

También se debe considerar que en ciertos estudios donde se introdujeron el patógeno y el biocontrolador en suelos previamente bromurados o esterilizados, como el empleado en este trabajo, no se presentó un control eficaz del fitopatógeno, pues el biocontrolador no logró colonizar las raíces de las plantas, debido a las interacciones con la microflora de los sustratos (Chao, *et al.*, 1986; Hadar, *et al.*, 1984; Weidong, *et al.*, 1988).

Por otro lado, la etapa o fase de germinación, plántula para trasplante y planta con 3 a 4 hojas, como las empleadas en esta investigación, son especialmente susceptibles a la mayoría de patógenos habitantes del suelo (Paulitz y Bélanger, 2001), entre los que se encuentra *Phytophthora capsici* Leo. En lo referente a productos comerciales, se ha demostrado que el uso de cepas formuladas, presentan dificultades de colonización en el suelo, debido a factores como la genética de los aislamientos, las condiciones del medio ambiente y otras, por lo que la selección de aislamientos nativos, mejor adaptados a las condiciones edafoclimáticas de la zona específica donde serán aplicados, pueden tener un mejor comportamiento que las cepas introducidas (Guigón-López y González-González, 2004), debido a que estas han pasado por un proceso de formulación donde su biomasa puede secarse o molerse

antes de incorporarlas en polvos, pastillas, polvos humectables, gránulos o líquidos emulsificantes y en ocasiones no cumplen con las características básicas de fácil preparación y aplicación, estabilidad durante el transporte y almacenaje, abundantes propágulos viables, buena vida de anaquel, así como mercado potencial y costos aceptables (Schisler, *et al.*, 2004; Zavaleta, 1994; Cook, 1985).

Los resultados obtenidos muestran que, aunque la mayoría de productos de control biológico han sido desarrollados para el manejo de patógenos de la rizósfera del suelo, como *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Phytophthora* sp. (Paulitz y Bélanger, 2001), su aplicación para el manejo de *P. capsici* es aún poco productiva, ya que en ninguna de las hortalizas probadas se obtuvo un buen control. Finalmente, Li *et al.* (1998) ya han mencionado que microorganismos que presentan antibiosis *in vitro* no necesariamente presentan estas características al aplicarlas *in vivo*. Aunado a lo anterior, Zavaleta (1994) mencionó que los agentes de biocontrol requieren de un manejo especializado, pueden perder su eficacia en cualquier momento debido a mutaciones, interacción con la planta y el patógeno, así como condiciones ambientales. Además, de acuerdo a estudios realizados en numerosos hospedantes contra varios patógenos, sugieren que al utilizar organismos vivos para el control de patógenos, existen factores genéticos, edáficos y ambientales que propician el cambio inesperado de los biocontroladores e incluso del patógeno, por lo que resultan poco estables y difíciles de manejar a diferencia de los productos químicos, por lo que siguen siendo estos últimos los empleados mayormente.

5. CONCLUSIONES

La aplicación de biocontroladores formulados a base de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus* sp., no redujo de manera significativa la incidencia o el porcentaje de infección causada por *Phytophthora capsici* en plantas de calabacita, pepino, jitomate, chile bell y chile manzano.

El hongo *P. capsici* Leo. inoculado en calabacita y pepino mostró el periodo menor de incubación (2 DDI) que en las plantas de jitomate, chile bell y chile manzano (3 DDI). Sin embargo, en estos últimos el periodo de vida de las plantas fue menor (8 días) con respecto a las plantas de calabacita y pepino (9 días).

La aplicación de los biocontroladores en forma combinada 3-4-3+T22 y Bio+T22 logró disminuir la incidencia de la enfermedad y el porcentaje de infección de un 10 a 17% en todas las plantas inoculadas.

El uso de biocontroladores puede ser eficaz, si se aplican principalmente como promotores del crecimiento de las plantas y en conjunto con otras estrategias de manejo.

6. LITERATURA CITADA

- Ait-Lahsen, H., Soler, A., Rey, M., De la Cruz, J., Monte, E. and Llobell, A. 2001. An antifungal Exo- α -1,3-glucanase from the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 67:5833-5839.
- Bayer Cropscience. 2006. Bio-Raíz® Biofertilizante para plantas y árboles. (www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/).
- Berger, F. H., White, D. Frazer, R. and Leifert, C. 1996. Effect of pathogen inoculum, antagonist density, and plant species on biological control of *Phytophthora* and *Pythium* damping-off by *Bacillus subtilis* Cot1 in high-humidity fogging glasshouses. Phytopathology 86:428-433.
- Campbell, C. L. and Benson, D. M. 1994. Epidemiology and management of root diseases. Ed. Springer-Verlag. Berlin, Germany. 344 p.
- Cook, J. R. 1985. Biological control of plant pathogens: Theory to application. Phytopathology 75 (1):25-29.
- Chang, Y. and Baker, R. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease 70:145-148.
- Chao, W., Nelson, E., and Hartman, G. 1986. Colonization of the rizosphere by biological control agents applied to seeds. Phytopathology 76:60-65.
- De la Cruz, J., Pintor, J., Benítez, T. and Llobel, A. 1995. Purificación and characterization o fan endo- β -1,6-glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism. Journal of Bacteriology 177:1864-1871.

- Fernández, H. E. 2006. Manejo químico de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici* Leo.) en condiciones de invernadero. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Edo. de México, México. 102 p.
- Guigón-López, C. y González-Gonzalez, P. 2004. Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras del crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annuum*). Revista Mexicana de Fitopatología 22(1):117-123.
- Hadar, Y., Hartman, G. and Taylor, A. 1984. Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T. harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp. Phytopathology 74:106-110.
- Hernández-Arenas, M. y Acosta-Ramos, M. 2005. Patogenicidad de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leonian en hortalizas en postcosecha. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. S/P.
- Hornby, D. 1990. Biological control of soilborne plant pathogens. Ed. CAB International. Oxon, United Kingdom. 479 p.
- Khan, J., Ooka, J., Miller, S., Madden, L. and Hoitink, H. 2004. Systemic resistance induced by *Trichoderma hamatum* 382 in cucumber against *Phytophthora* crown rot and leaf blight. Plant Disease 88(3):280-286.
- Kloepper, J. Choong-Min, R. and Shouan, Z. 2004. Induced systemic resistance and promotion growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94:1259-1266.
- Lagunas, L. J. 2000. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Edo. de México, México. 69 p.
- Lifshitz, R., Windham, M and Baker, R. 1986. Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. Phytopathology 76:720-725.

- Li, H., White, D., Lamza, K., Berger, F. and Leifert, C. 1998. Biological control of *Botrytis*, *Phytophthora* and *Pythium* by *Bacillus subtilis* Cot1 and C127 of micropropagated plants in glasshouses. *Plant Cell, Tissue Organ.* 52:109-112.
- McSpadden, G., B. and Driks, A. 2004. Overview of the nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94(11):244.
- Nemec, S., Datnoff, L. and Strandeberg, J. 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root rot. *Crop Protection* 15:735-742.
- Papavizas, G. C. and Lewis, J. A. 1983. Physiological and biocontrol characteristics of stable mutants of *Trichoderma viride* resistant to MBC fungicides. *Phytopathology* Vol. 73(3):407-411.
- Paulitz, T. C. and Bélanger, R. R. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology* 39:103-133.
- Pedroza, S. A. 1995. Epidemiología agrícola, principios y aplicaciones. URUZA. Universidad Autónoma Chapingo. Durango, México. 99 p.
- Plant Health Care México. 2006a. PHC T-22 Fungicida biológico para la raíz y follaje. (www.phcmexico.com.mx/pdfs/biopesticidas/t22.pdf).
- Plant Health Care México. 2006b. PHC Healthy Start Biofertilizante para plantas (<http://www.phcmexico.com.mx/pdfs/bioestimulantes/hs343.pdf>).
- Polach F. J. and Webster, R.K. 1971. Identification of strains and inheritance of pathogenecy in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 62:20-26.
- Ramírez, S. J. 2005. Diferenciación de especies de *Phytophthora* mediante polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Edo. de México, México. 103 p.

- Ramírez, V. J. y Romero, C. S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leonian agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia* 39: 9-18.
- Rangel-Jiménez, V. y Acosta-Ramos, M. 2005. Determinación de agentes causales de la marchitez en *Capsicum pubescens*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. S/P.
- Roiger, D. J. and Jeffers, S. N. 1991. Evaluation of *Trichoderma* for biological control of crown and root rot of apple seedlings. *Phytopathology* 81:910-917.
- Schisler, D. A., Slininger, R. W. and Jackson, M. 2004. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. *Phytopathology* 94(11):1267-1270.
- Sid, A. A., Pérez, S. C., Egea, C. and Candela, M. E. 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. *Plant Pathology* 48:58-65.
- Smith, K. P., Havey, M. J. and Handelsman, J. J. 1993. Suppression of cottony leak of cucumber with *Bacillus cereus* strain UW85. *Plant Disease* 77:139-142.
- Tian, D. and Babadoost, M. 2004. Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. *Plant Disease* 88(5):485-489.
- Townsend, G. R. and Heuberger, J. W. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease* 27:340-343.
- Weidong, Ch., Hoitink, H., Fritz, A. and Tuovinen, O. 1988. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78:314-322.

Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathology* Vol.26:379-407.

Zavaleta, M. E. 1994. Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 12(1)107-111.