



# Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Mexico. November 10 – 12, 2002

## PATÓGENOS INVOLUCRADOS EN LA MARCHITEZ DEL CHILE

Mario Martín González-Chavira<sup>2</sup>, Irineo Torres -Pacheco<sup>1</sup>, Horacio Guzmán Maldonado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Investigadores de la Unidad de Biotecnología del CE-Bajío INIFAP. Apdo. Postal 112, Celaya Gto. México; <sup>2</sup> Responsable del Trabajo [mqchavira@excite.com](mailto:mqchavira@excite.com)

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad conocida como “marchitez del chile” provoca una muerte prematura de la planta. La infección ocurre en las raíces o en la base del tallo, especialmente, en campos irrigados. El primer síntoma, que generalmente se observa, es un marchitamiento de las hojas sin cambios en su color, las cuales finalmente quedan colgadas de los pecíolos. En la base del tallo aparece una mancha marrón verdusca, que se ennegrece de acuerdo con el grado de necrosis de los tejidos y lignificación de la planta. Las raíces y tallos afectados muestran una pudrición suave, acuosa e inodora. Los frutos anticipan su cambio a color rojo y se arrugan. Los tallos continúan erguidos con las hojas colgantes y los frutos secos y arrugados. El síndrome se origina por la obstrucción de los haces vasculares. (Avelar y Marbán, 1989). En campo además de estos síntomas se puede observar en el mismo lote manchones de plantas con amarillamiento, defoliación, caída de flores y finalmente muerte de la planta. Los tejidos internos de la raíz y el tallo son pardo oscuros y las lesiones externas corresponden a cánceres hundidos que estrangulan el tallo en forma gradual. También el síndrome está asociado con la obstrucción de haces vasculares (González, 2001).

Esta enfermedad se encuentra presente en todo el mundo. En México se le considera la enfermedad más importante de este cultivo causada por hongos, se ha reportado su presencia en todos los estados productores de chile donde las condiciones ambientales favorecen su desarrollo, particularmente en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Sinaloa, Sonora Chihuahua, Querétaro, Hidalgo y Michoacán (Redondo, 1974; García y col, 2000; Guigon y González, 2001). En condiciones favorables puede causar pérdidas económicas devastadoras al afectar del 60 al 100% de la superficie cultivada. Actualmente existen en México regiones en donde se tienen pérdidas hasta del 80% y Estados como Aguascalientes y San Luis Potosí donde la superficie de siembra de chile se ha reducido un 60% por causa de este problema (SAGAR, 1999).

La primera noticia de la enfermedad fue dada por Leonina (1922) en Nuevo México estableciendo como agente causal a *Phytophthora capsici*. En nuestro país, fue reportada su presencia por primera vez en 1944 por el Servicio de Cuarentenas de los EEUU, al detectar el patógeno en chiles procedentes de México. Galindo en 1960, confirma la presencia de esta enfermedad y señala que es causada por *Phytophthora capsici*. En los últimos años existen varios reportes que coinciden con trabajos realizados en nuestro grupo, que señalan a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia* spp. como patógenos asociados con el síndrome (Duran-Ortiz y col. 2001; Espinoza-López y col. 2001; Velázquez, 2001; Rico-Guerrero y col. col. 2001; Guerrero-Aguilar y col. 2001, López-vasquez y col. 2002), los cuales hay que considerar ya que ambos patógenos están asociados con daños a la raíz en diferentes cultivos. Los resultados obtenidos hasta ahora, sugieren que *Phytophthora* y *Fusarium* son los principales causantes del daño y *Rhizoctonia solani* solo es un hongo oportunista que se alimenta del tejido muerto. Una de las hipótesis que se está manejando es que *Phytophthora* es el patógeno que entra primero a la planta y facilita la entrada a los otros dos y que es probable que para obtener una variedad tolerante a este síndrome será necesario

conjuntar en ella resistencia a *Phytophthora capsici* y *Fusarium* sp., pero esto hay que corroborarlos con muestreos anivel nacional y trabajos adicionales (González y col. 2001).

Desde el descubrimiento de esta enfermedad los trabajos para controlarla se han enfocado contra *Phytophthora*, se han hecho numerosos trabajos tanto en el extranjero como en México: sobre control químico (Pérez y col, 1990; Parra and Ristaino, 1998), biológico y cultural (Hoitink y Fahy, 1986; Casarrubias y Frías 1992; Chávez et al 1995; Nemeć et al 1996; Ahmed et al. 1996; Yáñez, 1997). Desde 1966 se han desarrollando en este país variedades resistentes a *Phytophthora capsici* (Heredia, 1966). En la década de los 80's resurgió fuertemente esta idea con el descubrimiento de 19 criollos resistentes a *P. capsici* originarios del Estado de Morelos. Entre ellos sobresalía el “Criollo de Morelos-334” (CM-334) porque exhibía consistentemente un alto grado de resistencia al patógeno (Guerrero-Moreno and Laborde, 1980; Gil Ortega et al., 1991), estos materiales junto con algunos introducidos de otros países como ‘línea 29’, ‘USDA PI201232’, ‘USDA PI201234 fueron usados ampliamente en Méxicoy en el mundo para generar variedades resistentes (Smith et al 1967; Redondo, 1974; Bosland and Lindsey, 1991; Mercado y Bustamante 1993; Lefebvre and Palloix, 1995, 1996; Tamietti et al. 1998; Walke and Bosland. 1999; Thabuis, 2001). Desafortunadamente, no se ha alcanzado el éxito esperado y la enfermedad sigue causando grandes pérdidas en el país. El Sistema de Investigación Regional Miguel Hidalgo del CONACYT (SIHGO), en un diagnóstico de este problema en la región centro de México, concluye que son varias las causas por las que no se ha podido controlar éste problema, entre las que destacan: a) Desconocimiento del patosistema en el sentido de que exista algún elemento no considerado hasta ahora, como podrían ser: otros patógenos (*Fusarium* spp y *Rhizoctonia* spp.) involucrados en el.-b) Gran variabilidad del o los patógeno(s).-c) Deficiente manejo del cultivo.-y d) Falta de información técnica (SIHGO, 2000). Una de las mejores alternativas para el control de la marchitez del chile y con más posibilidades de adopción en México es el germoplasma resistente

Bajo esta perspectiva, si queremos resolver este problema es necesario conocer la presencia, distribución y variabilidad del o los patógenos involucrados en el problema. Además, se debe establecer un programa de mejoramiento efectivo, basado en la búsqueda de resistencia natural, implementando estrategias que permitan coleccionar, conservar, caracterizar y aprovechar fuentes de resistencia genética presentes en la gran diversidad de chiles que posee México, principalmente en sus materiales criollos y silvestres, ya que basándonos en que la relación entre hospedero y el organismo asociado (patógeno) está controlada por genes en ambos como se puede ver quizás mas claramente en la teoría de la relación gen-por-gen de Flor (1947). Por lo tanto cambios genéticos en el genoma del hospedero van a provocar cambios en el genoma del patógeno y viceversa, lo que sugiere que la evolución de un organismo va a estar ligada con la evolución del otro organismo, esto es a lo que llamamos coevolución; éste fenómeno se observa mas frecuentemente en los centros de origen del hospedero. Por lo tanto siendo México centro de origen del chile es factible que las fuentes de resistencia a esta enfermedad se encuentren en los materiales de chile que están en contacto con ella, principalmente aquellos que han sido poco o nada manipulados por el hombre (González, 1999).

Es por esto que el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha implementado una propuesta, que busca por un lado determinar los patógenos relacionados con la sintomatología de la marchitez, evaluar la diversidad genética y patogénica existente en las poblaciones de patógenos



# Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Mexico. November 10 – 12, 2002

involucrados en este síndrome en México y por otro lado, busca detectar nuevas fuentes de resistencia en los materiales criollos y silvestres principalmente y reevaluar bajo la perspectiva actual, las fuentes de resistencia ya detectadas como los criollos de Morelos, con el fin de incorporarlos a sus programas de mejoramiento apoyados por metodologías como la selección asistida por marcadores. Además se integraran a esquemas de biología molecular que permita la identificación, manejo y aislamiento de los genes involucrados.

## AVANCES

En esta investigación se colectaron en siete de los Estados mas afectados por este problema en México materiales criollos y silvestres, además de plantas de Chile con síntomas de marchitez. En el 65% de las colectas se encontró *Fusarium* spp., en un 33% *Rhizoctonia solani* y en 33% *Phytophthora capsici*. Los aislamientos se hicieron sembrando trozos de raíces y tallos dañados de las plantas colectadas en medios de cultivo (PDA y V8). En el caso de *Phytophthora capsici*, fue necesario utilizar técnicas serológicas (ELISA) y moleculares (PCR) para su detección. Con respecto a esta última técnica se amplificó específicamente un fragmento del gen de cutinasa de *Phytophthora capsici*. Adicionalmente, se obtuvieron cultivos genéticamente puros de cada patógeno para realizar la caracterización genética. Se extrajo el ADN de cada aislado puro. Se seleccionaron oligonucleótidos que detectan alta variabilidad lo que permitirá posteriormente evaluar la diversidad existente en las poblaciones de los hongos involucrados mediante análisis RAPD's (ADN polimórfico amplificado al azar) además de los AFLP's (Amplificación de fragmentos de longitud polimórfica). Con estos aislados puros se hicieron pruebas con el fin de seleccionar los más patogénicos para posteriores experimentos.

Cuando lo que se busca es resistencia genética es indispensable conocer sin ambigüedades los agentes causales, al encontrar esta proporción de patógenos nos propusimos establecer su función en el patosistema de cada uno de ellos. Para esto se utilizó la variedad Sonora Anaheim un Chile tipo dulce susceptible a la enfermedad, se inocularon 20 plantas por unidad experimental con 3 repeticiones bajo un diseño completamente al azar. El factor a evaluar fue patógeno(s) inoculado(s) (Cada uno de los patógenos por separado y todas las posibles mezclas entre ellos) y la variable medida fue daño (muerte o sobrevivencia de la planta) a los 30 días. Posteriormente fuera de diseño se mantuvieron bajo observación las plantas sobrevivientes del experimento. La inoculación se realizó con trozos de micelio, todas se inocularon en una etapa fenológica de 4-8 hojas verdaderas y se mantuvieron en cámara de crecimiento en condiciones ideales de temperatura para el desarrollo de la enfermedad. Los resultados obtenidos fueron que las plantas inoculadas con *Phytophthora capsici* ya sea solo o en mezclas mueren en promedio a los 10 días, en cambio las inoculadas con *Fusarium* y *Rhizoctonia* juntos o separados presentan solo un amarillamiento en los 30 días que duro el experimento. Ya fuera de diseño algunas de las plantas inoculadas con *Fusarium* solo o junto con *Rhizoctonia* mueren a los 60 días por un marchitamiento provocado por *Fusarium*.

Adicionalmente se hicieron inoculaciones *in vitro*, donde se pudo observar un severo daño causado a las raíces seminales por *Phytophthora* y *Fusarium* en contraste con *Rhizoctonia* que no causo ningún daño a las plántulas de Chile. Este experimento nos permitió obtener datos importantes sobre el comportamiento de este patosistema lo cual nos facilitó el diseño de un sistema de evaluación masiva de la resistencia a los tres patógenos encontrados, en donde hasta ahora se han evaluado 3000 plantas de Chile, detectándose dos criollos UBIBA 33 (Zacatecas) y UBIBA

64 (Durango) ambos tipo mirasol, con una alta resistencia a la mezcla de patógenos, las cuales ya están en las siguientes etapas del proyecto.

## CONCLUSIONES

Como conclusiones preliminares podemos señalar que los resultados obtenidos hasta ahora, sugieren que *Phytophthora* y *Fusarium* son los principales causantes del daño y *Rhizoctonia solani* solo es un hongo oportunista que se alimenta del tejido muerto.

Las plantas susceptibles a *Phytophthora capsici* bajo nuestras condiciones de evaluación mueren rápidamente, mientras que las susceptibles a *Fusarium* sp. presentan amarillamiento, defoliación, caída de flores y finalmente mueren a los 60 días.

Una de las hipótesis que estamos manejando es que *Phytophthora* es el patógeno que entra primero a la planta y facilita la entrada a los otros dos y que es probable que para obtener una variedad tolerante a este síndrome será necesario conjuntar en ella resistencia a *Phytophthora capsici* y *Fusarium* sp.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed A.S., C. Pérez- Sanchez, C. Egea y M.E. Candela. 1996. Evaluación de la inducción de resistencia de pimientos a *Phytophthora capsici* mediante el tratamiento con *Trichoderma harzianum*. *Physiologia Plantarum* 98: 737-742
- Alcantara, T.P. and P.W. Bosland. 1994. An inexpensive disease screening technique for foliar blight of Chile pepper seedlings. *HortScience* 29:1182-1183.
- Anónimo. 1994. Service and Regulatory announcements, list of intercepted plant pests. 1943. S.R.A., B.E.P.Q., U.S. Dep. Agric. 35 pp.
- Avelar, M.J. y Marban, M. 1989. Intentos de control de la marchitez del Chile ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo. Pue. Memorias XVI Congreso Nacional de Fitopatología, Montecillos Mex.
- Bartual, R., A. Lacasa, J.I. Marsal, and J.C. Tello. 1994. Epistasis in the resistance of pepper to phytophthora stem blight (*Phytophthora capsici* L.) and its significance in the prediction of double cross performances. *Euphytica* 72:149-152.
- Bosland, P.W. and D.L. Lindsey. 1991. A seedling screen for phytophthora root rot of pepper, *Capsicum annum*. *Plant Dis.* 75:1048-1050.
- Casarrubias, U. y G. Frías A. 1992. Evaluación de la eficacia de *Bacillus subtilis* para el control de la marchitez del Chile en condiciones de invernadero. pp. 165. In: Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Chávez, J.J.; Zabaleta, E.; Teliz, D. 1995. Control integrado de la marchitez del Chile (*Capsicum annum* L.) ocasionado por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo, Puebla, México. *Fitopatología* 30(1):47-55.
- Espinoza-López L.L., C. Mendoza-Zamora. 2001. Etiología, de la pudrición de raíz y cuello del Chile el Valle del Mezquital, México. XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. p. F-157. Querétaro, Qro.
- Duran-Ortiz L.J., L. Pérez-Moreno, J.R. Sánchez-Pale. 20001. Identificación de los hongos que ocasionan la marchitez del Chile



# Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Mexico. November 10 – 12, 2002

- en la región del bajo. XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. p. F-13. Querétaro, Qro.
- Flor H. H. 1947. Host -parasite interaction in flax rust. Its genetics and other implications. *Phytopathology* 45:680-685.
- Galindo, J.A. 1960. La marchitez de las plantas de Chile en México y su agente causal *Phytophthora capsici* Leo. (Inédito).
- García R. S., Juárez C., Carrillo J.A., Allende R. Marquéz I. y Mui-Rangel M.D. 2000. Marchitez Bacteriana en Chile Bell Causada por *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 18(2): 120-124.
- Gil Ortega, R., C.P. Espanol, and J.C. Zueco. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SCM-334'. *Plant Breeding* 107:50-55.
- González, C.M., 1999. Caracterización de aislados Mexicanos de *Colletotricum lindemuthianum* Usando Marcadores Moleculares de ADN y Variedades Diferenciales y Búsqueda de Resistencia en Variedades Mexicanas. Tesis Doctoral. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del I.P.N. Unidad Irapuato. Irapuato, Gto. México
- González, C. M.M., I. Torres, R. Guevara. 2001. 2º Informe de actividades del proyecto "Búsqueda de resistencia natural contra patógenos de raíz (*Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum*) en colectas de Chile".
- Guerrero-Aguilar B.Z., Sánchez-Delgadillo F., Guevara-Olvera L., Guevara-González R.G., Torres-Pacheco I. y González-Chavira M.M. 2001. Caracterización de aislados mexicanos de *Rhizoctonia solani* (Kühn). XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. p. F 136. Querétaro, Qro
- Guerrero-Moreno, A. and J.A. Laborde. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. Synopses of the IVth Meeting of the Capsicum Working Group of Eucarpia. I.V.T., Wageningen, The Netherlands. p 52-56.
- Guigón C. y González P.A. 2001. Estudio Regional de la Enfermedades del Chile (*Capsicum annuum* L.) y su Comportamiento Temporal en el Sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19 (1): 49 –56
- Heredia Z.A. 1966. Herencia de la Resistencia del Chile (*Capsicum annuum* L.) al Ataque del Hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis Profesional E.N.A., Chapingo, Mex. pp.. 40
- Hoitink, H.A.J.; Fahy, P. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. *Ann. Rev. Phytopathology* 24:93-114.
- Lefebvre, V. and Palloix, A. 1995. Mapping QTL's affecting the resistance *Phytophthora capsici* in pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Genome III Conference*. Town & Country Conference Center, San Diego, CA.
- Lefebvre, V. and Palloix, A. 1996. Both epistatic and additive effects of QLTs are involved in polygenic induced resistance to disease. A case study, the interaction pepper – *Phytophthora capsici* Leonian. *Theoretical and applied genetics*. 93(4) : 503-511.
- Leonian, L.H. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 12:401-408.
- López-Vásquez M. A., M. M. González-Chavira, I. Torres-Pacheco, F. Delgadillo-Sánchez, R. G. Guevara-González,. 2002. Patógenos involucrados en la pudrición de raíz del Chile. XXIX Congreso Internacional de Fitopatología. p. F-155. Monterrey, N.L.
- Mercado, J. y Bustamante, E. 1993. Evaluación de resistencia de cultivares criollos de Chile dulce (*Capsicum annuum*) a *Phytophthora capsici*. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) no. 27:5-10.
- Nemec, S.; Datnoff, L.E.; Strandberg, J. 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. *Crop Protection* 15(8):735-742.
- Parra, G. and Ristaino, J. 1998. Insensitivity to Ridomil Gold (mefenoxam) among field isolates of *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight on bell peppers in North Carolina and New Jersey. *Plant Dis.* 82:711.
- Pérez, M. L., Salinas, G. J. G. y Medina, L. J. O. 1990. control genético y químico de la marchitez del Chile *Capsicum annuum*. causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 8(1):71-76.
- Redondo, E. 1974. Estudio Preliminar en la Obtención de Posibles Plantas Diferenciales Para Agrupar Las Razas Patogénicas del Hongo *Phytophthora capsici* Leonian. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- SAGAR. 1999. Anuario estadístico.
- Rico-Guerrero L., Guerrero-Aguilar B.Z., López-Vazquez A., Muñoz-Sánchez C.I., Guevara-Olvera L., Guevara-González R.G., Torres-Pacheco I. y González-Chavira M.M. 2001. Búsqueda de resistencia natural en plantas de Chile (*Capsicum* spp.) contra aislados del complejo fúngico que causa pudrición de raíz. XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. p. F-134. Querétaro, Qro.
- SHIGO. 2000. Foros de Planeación 2000. Cuaderno de Trabajo. Temática de Alimentos y Recursos Naturales. Morelia, Mich. México.
- Smith, P.G. y Kimble, R.G. Grogan and Millet A.H. 1967. Resistace of Strains of California Wonder Pepper to *Phytophthora* root rot *Plant Dis.* Rept. 35:509
- Tamietti G., G. Nervo e D. Valentino, 1998. Genetic improvement of pepper for the resistance to *Phytophthora capsici* Leon.: status and perspectives. *Journal of Plant Pathology*, 80, 264 (Abstract)
- Thabuis A., V. Lefebvre, A.M. Daubèze, P. Signoret, T. Phaly, G. Nemouchi, A. Blattes, A. Palloix. 2001. Introgression of a partial resistance to *phytophthora capsici* Leon. into a pepper elite line by marker assisted backcrosses. *Acta Hort.* (ISHS) 546:645-650.
- Velásquez R. 2001. Informe de actividades del Programa de Chile del Campo Experimental de Zacatecas.
- Walke S. J. and P.W. Bosland. 1999. Inheritance of Phytophthora Root Rot and Foliar Blight Resistance in Pepper J. AMER . SOC. HORT . SCI . 124(1):14-18.
- Yáñez J., M.A. 1997. Manejo de la marchitez (*Phytophthora capsici* Leo), agallamiento radical (*Nacobbus aberrans* Thorne y Allen) y virosis del Chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.