

SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE AISLADOS DEL HONGO *PHYTOPHTHORA CAPSICI* A FUNGUICIDAS.

Luis Pérez-Moreno^{1*}, Luisa Josefina Durán-Ortiz¹, Rafael Ramírez-Malagón¹ y Jesús Ricardo Sánchez-Pale¹, Víctor Olalde-Portugal².

*Autor responsable: luispm@dulcinea.ugto.mx.

RESUMEN

En el cultivo de chile, la incidencia de la enfermedad marchitez del chile causada por el hongo oomyceto *Phytophthora capsici* Leo., constituye a nivel nacional, uno de los principales problemas que afectan la productividad del cultivo. El presente estudio tuvo como objetivo: conocer la respuesta de 14 aislados de *Phytophthora capsici* a diferentes fungicidas. Los fungicidas utilizados fueron azoxystrobin, metalaxyl, propamocarb clorhidrato y 2tiocianometiltiobenzotiasol a diferentes concentraciones. Se observaron diferencias altamente significativas para aislamientos del hongo, tratamientos de fungicidas y para la interacción de aislamientos por fungicidas. Se concluye que Existe variabilidad en cuanto a su reacción a los diferentes fungicidas en los aislamientos de *Phytophthora capsici* en las áreas productoras de chile del Estado de Guanajuato, México. Se presentaron tres patrones de susceptibilidad resistencia a los fungicidas utilizados. Se tiene un riesgo potencial con el uso de los fungicidas actuales en México, para el control de la marchitez del chile.

Palabras clave: *Phytophthora capsici*, variabilidad genética, chile, *Capsicum annuum*.

INTRODUCCIÓN

En el cultivo de chile, la incidencia de la enfermedad marchitez del chile causada por el hongo oomyceto *Phytophthora capsici* Leo., constituye a nivel nacional, uno de los principales problemas que afectan la productividad del cultivo; se estima que el efecto de esta enfermedad sobre la disminución de la densidad de plantación es del 10 a 60 % (Pérez *et al.*, 1990) y en zonas como el Bajío y Puebla, hasta un 100% de mortalidad (Chávez *et al.*, 1994). El agente causal se aisló por primera vez en Nuevo México, EUA, en pimiento (Leonian, 1922); después en otros hospedantes como berenjena, calabacita, melón, jitomate, cacao, macadamia, fresa, pepino y sandía (Romero, 1988; Tlapal *et al.*, 1995).

El patógeno habita en el suelo y afecta principalmente las raíces y la base del tallo de la planta, aunque también puede atacar las partes aéreas. Los síntomas iniciales son necrosamiento y pudrición de raíces secundarias y terciarias que son las que se encargan de la absorción de agua, luego se presenta la marchitez de plantas y posteriormente pudrición de frutos, la muerte de la planta es ocasionada por avance del hongo a través

¹ Universidad de Guanajuato, Instituto de Ciencias Agrícolas

² CINVESTAV-Unidad Irapuato, Departamento de Biotecnología y Bioquímica

del pedúnculo del fruto, ramas y tallo.

Bajo condiciones favorables de temperatura (25 a 28°C) y alta humedad del suelo, *P. capsici* es sumamente agresivo, capaz de destruir campos enteros de los hospedantes mencionados en corto tiempo (Romero, 1988). Este hongo sobrevive de un ciclo a otro en el suelo en forma de oosporas, las cuales se producen cuando en un mismo campo se encuentran los tipos de compatibilidad: A1 y A2. El control de esta enfermedad ha sido tradicionalmente difícil, no habiendo hasta la fecha un manejo integral de la misma; pues por una parte no se tienen materiales comerciales resistentes, el control cultural no es totalmente efectivo, ya que muchos productores no siguen las recomendaciones de usar semilla sana, evitar encharcamientos de agua, hacer surcos altos y con alta pendiente, eliminar plantas enfermas y hacer rotación de cultivos, y finalmente, el control químico es deficiente, debido principalmente a las interacciones con organismos que lesionan la raíz, además que el hongo tiene una respuesta variable a los fungicidas empleados y puede desarrollar resistencia a los mismos.

De esto último, se deduce la importancia de conocer las interacciones de *P. capsici* con otros organismos que cohabitan la rizósfera, asimismo para realizar estudios sobre la compatibilidad fisiológica y la sensibilidad de *P. capsici* a los principales fungicidas que se usan en su control, ya que 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. En base a lo anterior, se propuso realizar el presente estudio cuyo objetivo fue: Conocer la respuesta de aislados de *Phytophthora capsici* del estado de Guanajuato a diferentes fungicidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento. El presente estudio se realizó en el laboratorio de Fitopatología-Investigación del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato, localizado en la Ex-Hacienda El Copal, Municipio de Irapuato, Guanajuato.

Colecta de material de chile infectado por *P. capsici*. Durante los meses de mayo y junio de 1999 se colectaron raíces de plantas de chile con síntomas de marchitez en varios municipios productores de chile del estado de Guanajuato (Cuadro 1); las muestras se cultivaron en el laboratorio y con cada aislamiento se realizaron pruebas de patogenicidad inoculando 10 plantas de la variedad de chile ancho Criollo Salvatierra, con el fin de verificar que el patógeno causante de las lesiones observadas fuese *P. capsici*; Los aislamientos confirmados como el hongo en cuestión y utilizados en el estudio pertenecen a 3 localidades del municipio de Salvatierra y una más de Silao; se incluyeron asimismo 6 aislamientos procedentes de los estados de Guerrero, Edo. de México, Querétaro y Zacatecas, siendo así 14 los aislamientos empleados en la investigación (Cuadro 1).

Cuadro 1. Identificación y sitios de procedencia de aislamientos de *Phytophthora capsici*.

Identificación	Aislamientos	
	Sitio de origen	
8A	Santa Rosa, Salvatierra, Guanajuato.	
8B	Santa Rosa, Salvatierra, Guanajuato.	
8E	Santa Rosa, Salvatierra, Guanajuato.	
7B	La Faja, Salvatierra, Guanajuato.	
6A	San Nicolás, Salvatierra, Guanajuato.	
6G	San Nicolás, Salvatierra, Guanajuato.	
15C	San Miguel, Silao, Guanajuato.	
6511	Chapingo, Edo. de México.	
Pc19	Zacatecas, Zacatecas.	
Pc24	Chapingo, Edo. de México.	
Pc11	Querétaro, Querétaro.	
Pc29	Cuautla, Morelos.	
Pc22	Nepantla, Edo. de México.	
Pc30	Iguala, Guerrero.	

Obtención de los aislamientos. El aislamiento de *P. capsici* se realizó cortando secciones de raíz de una sola planta, las cuales inmediatamente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% por 120 segundos y se transfirieron a cajas Petri con medio de cultivo jugo de tomate-agar con los antibióticos cefotaxima sódica 500 mg l⁻¹ + rifampicina 25 mg l⁻¹, bajo condiciones asépticas. Las condiciones de incubación fueron luz continua y temperatura ambiente por 12 a 15 días, siendo en este período cuando se notó claramente el crecimiento característico del hongo; entonces, se realizaron cultivos puros en medio harina de maíz-agar, ya que en este medio el hongo creció más rápido. Los aislamientos se mantuvieron en tubos con este medio con aceite mineral esterilizado para transferencias a largo plazo.

Sensibilidad a fungicidas. Se tomaron discos de agar con micelio de 10 mm de diámetro, cortados del margen de avance de crecimiento activo de cultivos de 8 a 10 días de edad. Se colocó un disco de agar en el centro de cada caja Petri que contenía el medio de cultivo jugo de tomate-agar más cada uno de los fungicidas. Se incubaron las cajas inoculadas a temperatura ambiente de laboratorio y se evaluó el crecimiento radial del micelio a los 4, 7, 14 y 21 días después de la inoculación.

Fungicidas usados. Los fungicidas utilizados en este estudio se presentan en el Cuadro 2. Todos los aislamientos se tamizaron para azoxystrobin, metalaxyl, propamocarb clorhidrato y 2tiocianometiltiobenzotiasol, a concentraciones de 2.0, 2.5, 2.75 y 4.0 g.i.a./litro, respectivamente. Se efectuaron 3 repeticiones de las pruebas de cada uno de los fungicidas con cada aislamiento.

Cuadro 2. Fungicidas evaluados.

Producto	Nombre comercial	Compañía
Azoxystrobin	Amistar, 50% wg	Syngenta, S.A. de C.V.
Metalaxyl	Ridomil 2E, 25.1% ec	Syngenta, S.A. de C.V.
Propamocarb Clorhidrato	Previcur N, 64% as	Aventis Cropscience de México S.A. de C.V.
2tiocianometilbenzotiazol	Busan 30W, 30% ec	Buckman Laboratories

Diseño experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial, con tres repeticiones. El factor A le correspondió a aislamientos del hongo (el cual tuvo 14 niveles) y el factor B se le asignó a los fungicidas (con cinco niveles). La comparación múltiple de medias se hizo con la prueba de Tukey $P < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias altamente significativas para aislamientos del hongo, tratamientos de fungicidas y para la interacción de aislamientos por fungicidas, con coeficientes de variación de 12, 12, 9 y 8% en las variables de crecimiento radial micelial a las 96, 168, 336 y 504 horas, respectivamente (Cuadro 3); la alta significancia para los factores aislamientos del hongo y tratamientos de fungicidas significa que tanto los aislamientos de *P. capsici* evaluados como los tratamientos de fungicidas usados propiciaron diferente crecimiento radial del micelio; asimismo, la alta significancia para la interacción de ambos factores significa que hubo un comportamiento relativo diferencial, esto es que al menos uno de los aislamientos de *P. capsici* usados tuvo un crecimiento radial micelial diferente del resto de los aislamientos, dependiendo del tratamiento de fungicida usado.

Cuadro 3. Resultados de los análisis de varianza para las variables analizadas

Variables Crecimiento radial micelial (cm) a las	Fc Aisl.	Fc Fung.	Fc Inter.	C. V. (en %)
96 h	**	**	**	12
168 h	**	**	**	12
336 h	**	**	**	9
504 h	**	**	**	8

Aisl.: aislamientos; Fung.: fungicidas; Inter.: interacción.

** altamente significativo; F.c.: F calculada; C.V.: coeficiente de variación.

El Cuadro 4 muestra que los aislamientos que desarrollaron más rápido fueron el 6A de San Nicolás, Salvatierra, Gto. y el Pc11 originario de Querétaro. Por otra parte, se encontró

que el 2tocianometilbenzotiasol (TCMTB) fue el fungicida que inhibió a todos los aislamientos, debido probablemente a que tiene efecto directo sobre la fisiología del hongo; mientras que metalaxyl, azoxystrobin y propamocarb redujeron el crecimiento en diferente intensidad del crecimiento radial, debido probablemente a que el efecto de estos es indirecto pues tienen que reaccionar con compuestos de la planta para actuar (Cuadro 5).

Cuadro 4. Crecimiento radial micelial en diferentes intervalos de tiempo de 14 aislamientos de *Phytophthora capsici*.

		Crecimiento radial micelial (cm) ^y			
Aislamientos		96 h	168 h	336 h	504 h
6A	San Nicolás, Salvatierra, Gto.	3.15 a ^z	4.59 a	5.88 a	6.89 a
Pc11	Querétaro, Qro.	2.94 a	3.94 b	4.35 bc	4.68 bc
Pc22	Nepantla, Edo. de México	2.51 b	3.47 bcde	4.42 bc	4.85 b
8E	Santa Rosa, Salvatierra, Gto.	2.48 b	3.68 bc	4.59 b	4.78 b
Pc30	Iguala, Gro.	2.37 bc	3.37 cde	4.39 bc	4.79 b
8A	Santa Rosa, Salvatierra, Gto.	2.32 bcd	3.52 bcde	4.19 b-e	4.58 bc
6G	San Nicolás, Salvatierra, Gto.	2.32 bcd	3.61 bcd	4.26 bcd	4.39 bcd
8B	Santa Rosa, Salvatierra, Gto.	2.18 bcd	3.47 bcde	4.10 c-f	4.63 bc
Pc29	Cuautla, Mor.	2.12 cd	3.16 de	3.81 def	3.81 ef
7B	La Faja, Salvatierra, Gto.	2.09 cd	3.21 cde	3.96 c-f	4.28 cde
15C	San Miguel, Silao, Gto.	2.06 cd	3.36 cde	4.01 c-f	4.54 bc
Pc24	Chapingo, Edo. de México	2.04 cd	3.03 d	3.71 f	3.78 f
Pc19	Zacatecas, Zac.	2.03 d	3.30 cde	3.79 ef	4.00 def
6511	Chapingo, Edo. de México	0.59 e	1.00 e	2.44 g	2.91 g

^yCada cifra representa el crecimiento promedio radial del micelio del aislamiento en cinco tratamientos.

^zLas cifras en cada columna con letras diferentes, son diferentes estadísticamente.

Comparación Múltiple de Medias DSH (Diferencia Significativa Honesta) Tukey P < 0.05.

Se pudo observar también que nueve de los aislamientos fueron insensibles a metalaxyl, 13 a azoxystrobin y todos a propamocarb (Cuadro 6); asimismo, los aislamientos se pueden ordenar en tres grupos dependiendo de la susceptibilidad y grado de tolerancia a los diferentes fungicidas.

El primero comprende nueve aislamientos que presentaron insensibilidad a todos los tratamientos, excepto a TCMTB, estos aislados fueron 8A, 8B, 8E, 6A, 6G, 15C, Pc11, Pc22 y Pc 30 (Cuadro 6). En el segundo grupo se encuentran los que registraron sensibilidad a Metalaxyl y TCMTB, comprendiendo cuatro aislamientos: 7B, Pc19, Pc24 y Pc29 (Cuadro 6). Finalmente, el tercer grupo estuvo conformado por un sólo aislado, el 6511, el cual registró sensibilidad a tres de los cuatro fungicidas, siendo insensible únicamente al fungicida Propamocarb (Cuadro 6).

El presente trabajo muestra la existencia de una población de *Phytophthora capsici* muy heterogénea en las regiones productoras de Chile del estado de Guanajuato.

Los individuos en estudio mostraron comportamientos muy diferentes en sensibilidad a funguicidas a las 96, 168, 336 y 504 horas, esto es que algunos de los aislamientos de *P. capsici* usados tuvieron un crecimiento micelial diferente del resto de los aislamientos, dependiendo del tratamiento de funguicida usado; por lo cual se pudieron incluir en al menos tres grupos de tolerancia-susceptibilidad a los diferentes funguicidas evaluados. Esta gran variabilidad en los individuos ya se percibía en los trabajos de otros investigadores (Erwin, 1983; Tlapal *et al.*, 1995) sus datos muestran que cuando compararon las características morfológicas, fisiológicas, patogénicas y de sensibilidad a funguicidas de diferentes aislamientos de *P. capsici*, existe una gran gama de comportamientos.

Cuadro 5. Crecimiento radial micelial en diferentes intervalos de tiempo con cinco tratamientos de funguicidas.

Funguicidas	Crecimiento radial micelial ^y (cm)			
	96 h	168 h	336 h	504 h
Azoxystrobin	1.27 c ^z	1.75 c	2.84 c	3.84 c
Metalaxyl	0.20 d	0.33 d	0.98 d	1.41 d
Propamocarb	4.06 b	6.27 b	7.83 b	8.02 b
2tiocianometiltiobenzotiazol	0.00 e	0.00	0.00 e	0.00 e
Testigo	5.61 a	8.34 a	9.03 a	9.2 a

^yCada cifra representa el crecimiento radial promedio de 14 aislamientos.

^zLas cifras en cada columna con letras diferentes, son diferentes estadísticamente. Comparación Múltiple de Medias DSH Tukey P < 0.05.

Cuadro 6. Grupos de sensibilidad a funguicidas de los aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo.

Grupos ^x	Funguicidas					NACCTR ^y
	Azoxystro	Metalax	Propamo	TCMTB	Testigo	
I	+ ^z	+	+	-	+	9
II	+	-	+	-	+	4
III	-	-	+	-	+	1

^xGrupo I: aislamientos 8A, 8B, 8E, 6A, 6G, 15C, Pc11, Pc22, Pc30; Grupo II: aislamientos 7B, Pc19, Pc24, Pc29; Grupo III: 6511.

^yNACCTR = Número de aislamientos con cada tipo de respuesta.

^zCrecieron = +; No crecieron = -.

La gran variabilidad observada en el comportamiento del patógeno a los diferentes químicos utilizados en el control es un reflejo del comportamiento que en campo se observa al aplicar las medidas de control.

Los resultados de este trabajo sugieren que el diagnóstico del agente etiológico, el uso racional de los fungicidas, la rotación de cultivos y en general un manejo integrado de la enfermedad serán fundamentales para continuar con la siembra de chile en el Estado de Guanajuato.

CONCLUSIONES

1. Existe variabilidad en los aislamientos de *Phytophthora capsici* en las áreas productoras de chile del Estado de Guanajuato, México.
2. Se presentaron tres patrones de susceptibilidad resistencia a los fungicidas utilizados.
3. Se tiene un riesgo potencial con el uso de los fungicidas actuales en México, para el control de la marchitez del chile.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chávez, A.J.J., Zavaleta, M.E., Téliz, O.D. y Juárez, P.C. 1994. Control integrado de la marchitez del chile (*Capsicum annuum*) ocasionada por *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo, Puebla. En: Memorias del XXI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Cuernavaca, Morelos. p. 26.
2. Erwin, D.C. 1983. Variability within and among species of *Phytophthora*. In: D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia and P.H. Tsao (eds.). *Phytophthora*. Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 392 p.
3. Leonian, L.H. 1922. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology* 12:401-408.
4. Pérez, M.L., Medina, L.O. y Salinas, G.J.G. 1990. Control genético y químico de la marchitez del chile *Capsicum annuum* L. causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo. en la región de Irapuato, Gto., México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 8:71-76.
5. Romero, C.S. 1988. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. México, D.F., México. 347 p.
6. Tlapal, B.B., Osaka, K.S., González, C.F. y Mendoza, Z.C. 1995. Comportamiento fisiológico de 30 aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 13:41-51.