



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR Y FACULTAD DE
CIENCIAS EXPERIMENTALES

INGENIERO AGRÓNOMO

**BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A *PHYTOPHTHORA*
CAPSICI Y *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EN
CULTIVARES COMERCIALES DE PIMIENTO**

El Alumno:

Francisco Doñas Uclés

Almería Julio 2014

Director(es):

Dr. D. Julio César Tello Marquina

Da. Amalia Boix Ruiz

Agradecimientos:

En primer lugar a Javier Tello, por su forma de exponer su conocimiento, atrayendo el interés de los estudiantes y logrando así hacer una encomiable labor en el desarrollo de la agricultura integrada en esta tierra, además de por haberme dado la oportunidad de trabajar a su lado, dándome la oportunidad de crecer no solo en el aspecto académico, pero sobre todo en el aspecto personal.

A Amalia Boix, por su impagable ayuda, atención y humildad. Una amiga que siempre ha encontrado tiempo para ayudarme a costa del suyo propio, no rebajando ni un segundo su amabilidad y simpatía.

A mi padre y a mi madre, porque ellos son los que me han inculcado siempre su amor y respeto por la vida y en especial por el campo, brindándome la oportunidad que ellos no tuvieron. Recordar a mi padre que no ha tenido la oportunidad de ver la persona que soy hoy gracias a sus consejos, esfuerzo y buen hacer. A mis hermanas porque gracias a su cariño y apoyo ellas son también responsables en gran parte de la persona que soy. Siempre me siento bien a vuestro lado!!.

A Blanca, una de las personas más importantes en mi vida en los últimos años, por su cariño, comprensión y paciencia. Y no solo por eso, sino por recibir el gran apoyo día a día, y hacerme sentir importante, al tener al lado una gran y buenísima persona que me complementa en muchos momentos.

Y por último agradecerles a mis amigos y amigas, ya que al igual que mi familia, no en pocos momentos han recibido la respuesta de “Hoy no puedo..., tengo que estudiar...”

¡A todos mil gracias!

ÍNDICE GENERAL

1.- INTERÉS Y OBJETIVOS.....	05
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	08
2.1. APROXIMACIÓN AL CONOCIMIENTO DE LAS ESPECIES DE LAS POBLACIONES NATURALES DE PHYTOPHTHORA	08
2.1.1 Género <i>Phytophthora</i>	08
2.1.1.1 Taxonomía	08
2.1.1.2. Morfología	11
2.1.1.2.1. Los esporangios	11
2.1.1.2.2. Las zoosporas	12
2.1.1.2.3 Las clamidosporas y los hinchamientos hifales (<i>hyphal swellings</i>)	12
2.1.1.2.4 Las estructuras sexuales	13
2.1.1.3. <i>P. nicotianae</i> Breda de Haan (1896) = <i>P. parasitica</i> Dastur (1913)	16
2.1.1.3.1. Morfología.....	19
2.1.1.3.2 Características	21
2.1.1.4 <i>Phytophthora capsici</i> McHau y Coffey (1995)	23
2.1.1.4.1. Morfología	22
2.1.1.4.2. Características	25
2.1.1.5. Especificidad parasitaria de <i>P. capsici</i> y <i>P. parasitica</i>	26
2.1.1.6. Síndromes de <i>Phytophthora</i> en pimiento	30
2.2. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A <i>PHYTOPHTHORA</i> EN PIMIENTO.....	31
2.2.1. Generalidades	31

2.2.2. Herencia de la resistencia a <i>Phytophthora</i> en Pimiento	35
2.2.3. Resistencia asociada al síndrome	39
2.2.4. Resistencia asociada a las razas fisiológicas	40
3.-MATERIAL Y MÉTODOS	43
3.1.-Diseño experimental	43
3.2. Origen de los aislados	43
3.3. Medios de cultivo; Preparación del inoculo	44
3.4.-Material vegetal	45
3.5. Técnica de inoculación	49
3.6. Reaislamiento de <i>Phytophthora</i>	50
3.7. Análisis de datos	51
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
4.1.1. Evaluación de la resistencia a <i>P. capsici</i> (Root rot); Evaluación en cámara de ambiente controlado (a los 30 días tras inoculación)	51
4.2.1. Evaluación de la resistencia a <i>P. parasitica</i> ; Evaluación en cámara de ambiente controlado (30 días tras inoculación)	54
4.3. Comparación de la resistencia de los porta-injertos a <i>P. capsici</i> y <i>P. parasitica</i>	59
5.- CONCLUSIONES.....	60
6.- BIBLIOGRAFÍA	61

ÍNDICE de CUADROS

Cuadro 1: Origen de los aislados utilizados en la evaluación de resistencia	44
Cuadro 2: Descripción del material vegetal empleado en el experimento.....	46
Cuadro 3: Incidencia de <i>P. capsici</i> e Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE).....	52
Cuadro 4: Incidencia de <i>P. parasitica</i> e Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE).....	55
Cuadro 5: Comparación de los resultados en la evaluación de los síndromes en <i>P. capsici</i> . y en <i>P. parasitica</i>	59

INDICE de FIGURAS

Figura 1: Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> (Erwin y Ribeiro, 1996).....	11
Figura 2. Sexualidad relativa de las cepas de <i>Phytophthora infestans</i>	14
Figura 3. Morfología de <i>Phytophthora parasitica</i>	20
Figura 4. Morfología de los tipos de esporas de <i>Phytophthora capsici</i>	23
Figura 5. Morfología de <i>Phytophthora capsici</i> (sensu Tsao1991).....	25
Figura 6: ISE del material vegetal evaluado por su resistencia a <i>P. capsici</i>	54
Figura 7: ISE del material vegetal evaluado por su resistencia a <i>P. parasitica</i>	57

INDICE de GRAFICAS

Gráfica 1: Curva de desarrollo de <i>P. capsici</i> para los cultivares evaluados (Grupo 1)	53
Gráfica 2: Curva de desarrollo de <i>P. capsici</i> para los cultivares evaluados (Grupo 2).....	53
Gráfica 3: Curva de desarrollo de <i>P. parasitica</i> para los cultivares evaluados (Grupo 3).....	56
Gráfica 4: Curva de desarrollo de <i>P. parasitica</i> para los cultivares evaluados (Grupo 4).....	56

INDICE de FOTOS:

Fotos A, B, C y D: Proceso de extracción de zoosporas.....45

Foto E:Detalle de ensayo en cámara de cultivo.....48

Foto F:Proceso de inoculación.....49

Fotos G H: Trampas de pétalos de clavel,a la derecha se aprecia el micelio de *Phytophthora*50

Fotos I:Detalle de la raíz de “SCM” tras 30 días después de inoculación con *P. parasitica*.57

Fotos J: Detalle de los síntomas mostrados en la raíz de “Celaya” y “Dicaprio” tras 30 días después de inoculación con *P. parasitica*.....57

Fotos K: Comparativa de la ausencia de síntomas mostrados en la raíz de “SCM” tras 30 días después de inoculación con *P. parasitica* y *P. capsici*.....60

1.-INTERÈS Y OBJETIVOS.

La demanda de frutas y hortalizas se ha visto aumentada significativamente en los últimos años, siendo el pimiento dulce una de las hortalizas que se encuentran en esta situación de privilegio debido a sus sanos atributos bien demostrados. Una de las principales áreas de producción de pimiento dulce, está concentrada en la costa del Sureste de España (López-Marín *et al.*, 2013), donde alrededor de 7000 ha de pimiento dulce, son producidas anualmente en la provincia de Almería (Cajamar, 2010), y unas 1900 ha bajo las condiciones de invernadero en la provincia de Murcia y Sur de Alicante (López-Marín *et al.*, 2009). Se considera que en el área de producción de la provincia de Almería, el pimiento dulce en todos sus tipos y formatos, es uno de los ocho cultivos clave producidos en condiciones de monocultivo bajo invernadero sin calefacción junto con el tomate, pepino, calabacín, sandía, melón, berenjena y judía verde (Tecnova, 2009).

Una de las consecuencias de esta demanda, es la presencia de una industria madura creada en esta área y que está fuertemente vinculada a la producción y comercialización de vegetales en el área más importante de producción de la Unión Europea (EU). España es considerada como el quinto país productor de pimiento con 1.057.500 t en 2007 y el tercer exportador detrás de México y Holanda. Turquía debido a la coincidencia en el calendario de producción es el principal país competidor de España, (MARM, 2009). El cultivo de pimiento en Almería representa un elemento muy importante en la producción agrícola total, y por ende a la economía de la zona. El valor de la producción total de pimiento en esta región durante la campaña 2011-2012 fue alrededor de 421 Millones de Euros (M€), lo que la posiciona como la principal área de producción de la UE de este cultivo, representando el 38.5% de la producción total. No obstante esta producción ha permanecido estable durante los últimos 5 años, aumentando un 9.1 % en la campaña 2011-12 con respecto a la anterior (Cajamar, 2012).

Como resultado de la intensificación de los sistemas de cultivo y la falta de rotación, no son pocos los problemas fitosanitarios asociados que han aparecido. Es bien sabido, que el monocultivo acarrea consigo una serie de problemas de fatiga del suelo y aparición de enfermedades, cuyo efecto influye directamente en el rendimiento y crecimiento del cultivo (Lacasa *et al.*, 2002). La fatiga del suelo se ha convertido en un serio problema en los campos de cultivo de pimiento, causando pérdidas drásticas si no se han tomado las precauciones oportunas.

En las plantaciones de pimiento bajo invernadero, del litoral Mediterráneo de España, se asoció desde finales de los 70 hasta mediados de los 80 a *Phytophthora capsici* (*P. capsici*) con la muerte masiva de plantas de pimiento afectadas por la enfermedad conocida como “seca” o “tristeza” del pimiento (Tello y García 1977; Tello y Lacasa, 2004), enfermedad limitante para el cultivo. Los síntomas que ocasiona en las plantas son: Podredumbre de la raíz principal y del cuello de la planta que ocasiona una marchitez irreversible y que finaliza con la muerte de aquella; sin embargo, desde hace más de cinco años, se ha encontrado con mucha frecuencia a *Phytophthora nicotianae* var. *Parasitica* (*P. parasitica*) asociada a plantas con síntomas de tristeza. La podredumbre de las raíces del cuello del tomate y del pimiento causada por (*P. parasitica*) es un problema poco estudiado en el caso del pimiento en invernaderos (Pérez Vargas, 2011). Hasta la publicación de los trabajos de Bonnet *et al.* (1978), quienes realizaron un estudio sobre el poder patógeno de *P. parasitica* e introdujeron la noción de especialización parasitaria, la especificidad parasitaria de *Phytophthora* había sido un tema poco tratado en bibliografía, lo que supuso de forma genérica que la seca o tristeza del pimiento se asociaba con *P. capsici*, mientras que la podredumbre del cuello y las raíces se asociaba con *P. parasitica*. Ambas especies del género *Phytophthora* presentan características morfológicas parecidas, sin embargo su habilidad parasitaria se presenta como distinta según la bibliografía de Erwin y Ribeiro (1996).

Por otra parte, el Bromuro de metilo (MeBr) ha sido usado tradicionalmente como fumigante del suelo para solucionar estos problemas, pero tras la prohibición de su uso, el injerto se ha convertido gradualmente en la técnica más común y forma más efectiva para el control de las enfermedades del suelo, tales como *Phytophthora spp.* y *Meloidogyne spp.* (López-Marín *et al.*, 2009).

El mejor fumigante del suelo conocido hasta ahora, usado como procedimiento de control para conseguir una desinfección del suelo, es el Bromuro de metilo (MeBr), el cual ha sido declarado como sustancia desintegradora de la capa de ozono en el 4th Meeting del Protocolo de Montreal en Copenhague en Noviembre de 1992 (Rodríguez-Kábana, 1997), motivo por el cual su uso ha sido prohibido. El fumigante está prohibido en la actualidad en la Unión Europea y finalizará su uso en todo el mundo en el año 2015, según el citado protocolo de Montreal que entiende sobre los contaminantes ambientales que destruye la capa de ozono de la estratosfera.

Otros fumigantes designados para sustituir al (MeBr) con una eficiencia comparable también han sido prohibidos o están en camino de serlo en los próximos años. Por otro lado, los tratamientos anti fúngicos en las fases tanto de establecimiento del cultivo, como una vez

establecido éste, son completamente ineficientes. El MeBr, ha sido usado tradicionalmente en esta área como fumigante del suelo para solucionar los problemas ocasionados por *Phytophthora spp.* y *Meloidogyne spp.* (López-Marín *et al.*, 2009), entre otros, pero tras la prohibición de su uso otras técnicas de control están tomando mayor relevancia. Además, existen estudios que indican que los medios basados exclusivamente en la lucha química son insuficientes para contralar dicha enfermedad (Tuset, 1973; García *et al.*, 1981 y Palazón *et al.*, 1981; citado por Bartual *et al.*, 1984).

Bartual *et al.* (1991) se comenta que la sanidad de los semilleros, la eliminación del inóculo en el suelo antes de plantar, los tratamientos a las plantas con fungicidas generales y específicos de acuerdo con un calendario ajustado a la epidemiología del patógeno en la zona y, sobre todo, el control del agua de riego gracias a las nuevas técnicas de irrigación, hicieron de *P. capsici* un problema soportable pero no resuelto, más aun si tenemos en cuenta que una variedad resistente es el medio de lucha menos contaminante del ambiente y el más económico normalmente.

En esta situación y buscando alternativas las cuales permitan al menos mantener los parámetros de rendimiento estándar más allá de un coste asumible por los agricultores, la búsqueda de resistencia parcial o total tanto a *P. capsici* como *P. parasitica*, en el material vegetal existente, se está convirtiendo en un desafío para científicos y políticos, aunque según citó Gisbert, *et al.* (2010), solamente resistencias parciales en algunas de los cultivares comerciales están disponibles.

Cuando se pretende realizar una evaluación de este tipo, es necesario afrontar el problema de la resistencia a enfermedades, siendo en este punto por tanto necesario tener presente la existencia de dos frentes distintos (Parásito y Huesped).

En este contexto, resulta conveniente realizar un resumen de los distintos mecanismos genéticos que intervienen en la resistencia a enfermedades, para así poder identificarlos convenientemente en las distintas variedades comerciales que resulten ser sensibles. Las siguientes ideas básicas, pueden ayudarnos a la comprensión de la genética de la resistencia a enfermedades en general.

En la actualidad, resulta obvia la existencia de una dinámica de la relación huésped-parásito, dicha obviedad resulta de la frecuencia con que distintos parásitos superan las resistencias introducidas en los diversos cultivos hortícolas. Lo que ahora resulta obvio, dio lugar a mucha controversia en sus primeros años de estudio.

OBJETIVO

El objetivo del proyecto consiste en evaluar la resistencia tanto a *P.capsici*, como a *P. parasitica* de una colección de cultivares de pimiento bajo condiciones controladas. Al mismo tiempo, y en el caso de que exista, se describirá que tipo de resistencia gobierna dicho material.

2.-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. APROXIMACIÓN AL CONOCIMIENTO DE LAS ESPECIES DE LAS POBLACIONES NATURALES DE PHYTOPHTHORA.

2.1.1 GÉNERO *PHYTOPHTHORA*

El nombre del género *Phytophthora* proviene del griego *phyto* (planta) y *-phthora* (destructor).

El primer gran desastre descrito debido a *Phytophthora* fue el mildiu de la patata, acaecido en el norte de Estados Unidos en 1843, y en Europa en 1845. El género *Phytophthora* entonces empezó a ser mundialmente conocido por las grandes epidemias que producía. En la época todavía no se conocía cual era el misterioso hongo, que fue identificado posteriormente como *Phytophthora infestans* (Mont.) por de Bary en 1876(citado por Tucker, 1931). Debido al desconocimiento del agente causal antes de 1876, hubo una gran controversia sobre cuál era la causa del desastre, culpando a las abundantes lluvias y a la contaminación de las industrias. La enfermedad del tizón tardío o gangrena de la patata, como también se conoce al mildiu, causó en Irlanda una hambruna entre los años 1845 y 1846, haciendo emigrar a la cuarta parte de 8 millones de habitantes hacia los Estados Unidos, mientras más de un millón de personas perecieron por la hambruna.

El género *Phytophthora*, creado en el año 1876, engloba a más de 90 especies, un gran número de ellas patógenas, causando grandes pérdidas en la producción mundial y por ende con una repercusión en pérdidas económicas. Estas especies son responsables de distintas enfermedades devastadoras, entre ellas mildius, podredumbres de tallos, raíces y frutos, en un amplio rango de plantas, desde plántulas de vegetales anuales o perennes, pasando por ornamentales, hasta árboles frutales y forestales (AGRIOS, 2005). Su grado de

especialización es variable. Algunas especies están asociadas a un único hospedante, mientras que la mayoría son capaces de parasitar un amplio abanico de plantas adultas.

2.1.1.1 Taxonomía

La taxonomía del género *Phytophthora* ha cambiado notablemente en los diez últimos años. La expresión del cambio puede cifrarse de la siguiente manera: a principios de 1990 se habían descrito unas 50 especies desde 1870. En el año 2010 dicha cifra superaba el centenar (Kroon *et al.*, 2012). Este espectacular aumento se ha debido a las técnicas basadas en la secuenciación del ADN, que ha motivado y sostenido un concepto de especie filogenética. De esta manera los grupos morfológicos propuestos por Waterhouse y mantenidos durante más de 30 años (Erwin y Ribero, 1996) se han trastocado para formar los denominados clados, donde los caracteres morfológicos que permitieron a Waterhouse formar sus 6 grupos, han dejado de tener el valor fundamental que en su día tuvieron. Este autor (citado por Erwin y Ribero, 1996) dividió a *Phytophthora* en grupos atendiendo tanto a la disposición del anteridio: paragino (si está sujeto a cualquier punto del oogonio) o anfigino (si rodea al pedúnculo del oogonio), como a la estructura del ápice de los esporangios: papila muy diferenciada (simple espesamiento apical) o poco diferenciada.

En clasificaciones más antiguas, en las cuales había sólo dos reinos (vegetal y animal), *Phytophthora* fue introducido en el reino vegetal. En 1970 los organismos vivos se dividieron en eucariotas y procariotas, incluyéndose en el primero, aunque fue separado del reino de los vegetales, y designado como *Myceteeae*. Tradicionalmente el reino Fungi ha sido ordenado en Ascomicetos, Basidiomicetos, Deuteromicetos (hongo imperfectos sin fase sexual conocida) y Ficomicetos. Los Ficomicetos incluyen dos subclases: zigomicetos y oomicetos, de las cuales el género *Phytophthora* fue incluido en la segunda. Sin embargo, la única característica que tienen ambas subclases en común es la carencia de septos en el micelio, lo que ha hecho que los Ficomicetos no sean muy aceptados como clase taxonómica. Posteriormente, se trasladó del reino *Myceteeae* al reino *Chromista*, siendo propiciado este cambio por autores como Sparrow (1973), Parker (1982) o Marguliset *al.* (1990) (citado por Erwin y Ribero, 1996).

El reino Chromista incluye las algas pardas y todos los protistas que tienen algún mastigonema ciliar tubular (fibras secundarias), retículo endoplásmico y/o cloroplastidial. Estas características son consideradas como originadas a partir de un ancestro. Uno de los tres “phyllas” es Heterocontophyta, bajo la cual, está la clase Pseudofungi incluida. Esta clase contiene oomicetos, dentro de la cual está clasificado el género *Phytophthora*.

Estos hongos, contrariamente a lo que ocurre con la familia de las Peronosporáceas, no son parásitos estrictos. Los oomicetos fueron trasladados al reino Protista (Dick, 1990 citado por Erwin y Ribeiro, 1996). Dicho autor declaró: “Fisiológicamente y morfológicamente los oomicetos son “hongos”, y estos son heterótrofos, uninucleados o con protoplasmas cenocíticos, los cuales están limitados por paredes celulares en un estado vegetativo, aunque estos no tienen una relación filogenética con los hongos verdaderos (i.e. Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina)”. La diferencia más importante que presentan los oomicetos es la reproducción sexual mediante la producción de oosporas de la unión de dos gametangios (anteridio – masculino- y oogonio –femenino-), los cuales sufren una meiosis anterior a la fecundación (Sansome, 1965 citado por Erwin y Ribeiro, 1996). La totalidad del talo es diploide a lo largo de todo su ciclo vital.

Concluyendo, en la actualidad el género *Phytophthora* no está incluido dentro de la clasificación de los hongos verdaderos. Conforman con otros antiguos hongos el reino Protista y pertenece a la familia *Pythiaceae*, como también lo hace *Pythium*. Estos dos géneros que pueden confundirse pero que se distinguen principalmente por las siguientes características:

- En *Phytophthora* las zoosporas se diferencian en el interior de los esporangios, mientras que en *Pythium* el contenido del esporangio es expulsado al exterior bajo la forma de una vesícula, a partir de la cual se diferencian las zoosporas.

- Las especies del género *Phytophthora* son resistentes al himexazol, producto ante el que se muestra muy sensible *Pythium* (medio a 25-50 mg · L⁻¹).

- Por lo general, el crecimiento de *Phytophthora* es bastante lento en medio selectivo y su micelio adquiere un aspecto coraloide o sinuoso, mientras que el de *Pythium* es muy rápido, frecuentemente de 1 a 3 cm*día⁻¹.

- La presencia de papilas en los esporangios es un factor importante a la hora de diferenciar *Phytophthora* de *Pythium*.

Además, podemos distinguir *Phytophthora* de los demás hongos porque presenta un micelio cenocítico; son hongos diploides, mientras que la mayoría de los hongos son haploides; sus paredes están compuestas de celulosa y β-glucanos; producen esporangios o zoosporangios en el agua, cuyas zoosporas contenidas en el interior son biflageladas; no sintetizan esteroides, requiriendo una fuente externa para poder esporular y porque gran parte de su éxito como patógeno vegetal es debido a su gran capacidad para producir esporangios y zoosporas en un periodo de tiempo corto (Erwin y Ribeiro, 1996).

2.1.1.2. Morfología

Hay una descripción realizada por Blackwell (1949), la cual se relata a continuación: “El talo del hongo es llamado micelio, el cual consiste en un largo número de ramificaciones, estructuras tubulares, denominadas hifas. Estos filamentos tubulares varían en diámetros de entre 5 y 8 micras, pudiendo observarse mediante un microscopio óptico de baja potencia. Cuando el micelio está puro en un medio conveniente y crece en la zona exterior del tejido bajo condiciones de humedad, no presenta pigmentación. Cuando se observa en un microscopio a 100 aumentos, el micelio joven es hialino (casi transparente) y cenocítico, aunque a lo largo de los días puede aparecer algún tabique. La hifa puede ser lisa, hinchada, nodulosa o tuberculada. El crecimiento se inicia en las puntas de cada hifa.

Phytophthora produce esporas asexuales en condiciones favorables, y exhiben una transición de un crecimiento vegetativo rápido a temperaturas óptimas y en medios relativamente ricos, para reducir su crecimiento bajo condiciones de nutrientes limitadas (Erwin y Ribeiro, 1996). En la imagen se observan las fases sexual y asexual de *Phytophthora* (Figura 1).

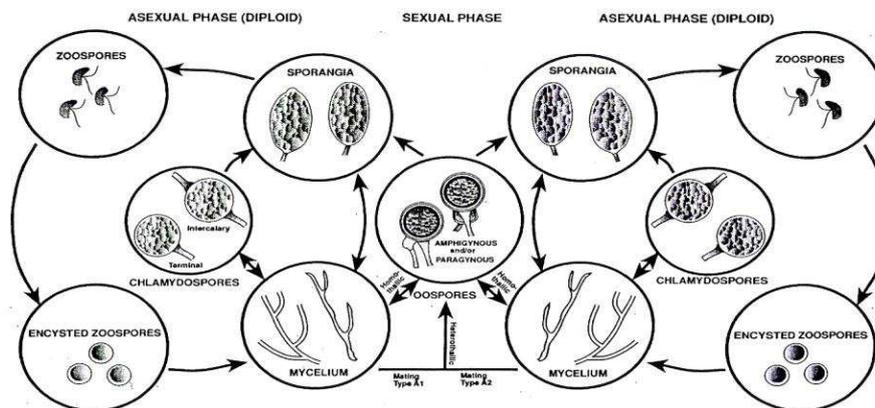


Figura 1: Ciclo de vida de *Phytophthora* (Erwin y Ribeiro, 1996).

2.1.1.2.1. Los esporangios

La característica más común de las esporas asexuales son los esporangios, o con mayor precisión, zoosporangios, los cuales son vesículas que se llenan de zoosporas. Los esporangios se forman en los esporangióforos, con un diámetro similar al de una hifa. Algunos esporangios pueden nacer desde la base de un esporangio ya maduro, produciendo más esporangios sucesivamente (Erwin y Ribeiro, 1996). Son los denominados esporangios proliferantes.

El tamaño de los esporangios es variable, pudiéndose encontrar formas distintivas para cada especie. Las formas pueden variar, habiendo esféricas, subsféricas, ovoides, elipsoides,

limoniformes, piriformes, obpiriformes, turbinadas u obturadas, entre otras. Los esporangios presentan un color amarillento al microscopio. El esporangio puede tener una yema denominada papila. Esta papila es definida como un tapón, el cual está compuesto por un material hidratado con un índice de refracción diferente al material de la pared celular de la hifa (Blackwell, 1949) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996). El material de la papila se descompone antes de la emergencia de las zoosporas (Erwin y Ribeiro, 1996).

2.1.1.2.2. Las zoosporas

Las zoosporas emergen del esporangio nadando libremente. Este fenómeno tiene lugar debido a la diferencia en el potencial hídrico existente entre el interior y el exterior del esporangio. Dentro del esporangio podemos encontrarnos con potenciales de hasta 6 bares, mientras que normalmente en el exterior, el potencial del agua es de 0,0 ó 0,1 bar (Erwin y Ribeiro, 1996).

Las zoosporas son flageladas, y el género *Phytophthora* se caracteriza por tener un flagelo más largo que el otro. Las zoosporas son consideradas el propágulo por excelencia para infectar plantas sensibles.

El espectro luminoso más favorable para la esporulación de *Phytophthora* es el comprendido entre los 320-400 μm (Erwin y Ribeiro, 1996).

2.1.1.2.3 Las clamidosporas y los hinchamientos hifales (*hyphal swellings*)

Las clamidosporas son esféricas u ovales. Éstas pueden ser hialinas o de un marrón oscuro, y tienen una pared celular gruesa (sobre 0,5 y 1,5 micras). Esta pared no suele ser tan gruesa como la de una oospora (más de 3 micras) y se pueden formar terminalmente en todos los tipos de hifas o bien puede estar intercalada entre la zona basal y apical de la hifa. Estas estructuras pueden ser diferenciadas de los *hyphal swellings*, ya que estos últimos no están delimitados en el micelio por septación. Los *hyphal swellings* son globosos e irregulares en forma, y usualmente hialinos, terminales o intercalados, y a menudo en agrupaciones (cluster), no estando limitados por septos (salvo en el género *Pythium*, que sí están delimitados por septos). Estas estructuras suelen ser comunes en las especies *P. cinnamomi*, *P. criptogea*, *P. drechsleri*, *P. megasperma* y *P. parasitica*, siendo en alguno de los casos rasgos característicos para diferenciar especies. El grosor de las paredes suelen ser de menos de 5 micras, siendo similar al grosor de las paredes del micelio (Erwin y Ribeiro, 1996).

2.1.1.2.4 Las estructuras sexuales

Las estructuras sexuales de *Phytophthora* están compuestas por el anteridio y el oogonio, siendo el anteridio designado como el componente masculino y el oogonio el componente femenino. El oogonio normalmente es globoso o casi globoso, pero en ocasiones puede ser piriforme. Normalmente son hialinos, aunque en algunos casos puede estar pigmentada la pared del oogonio, siendo en este caso de un color amarillento a marrón. El oogonio va a estar separado de la hifa mediante un septo (Erwin y Ribeiro, 1996).

El anteridio empieza delimitado por un septo, y puede unirse a la base del oogonio, abrazándola. Este tipo de anteridio se denomina anfigino, mientras que en otras especies el anteridio se une al oogonio por cualquier parte externa de la pared del oogonio, denominándose en este caso paragino.

La reducción cromosómica para pasar de la dotación cromosómica diploide a haploide tanto en los anteridios como en los oogonios se realiza cuando estos aún son cenocíticos (las células o núcleos no están separados por las paredes celulares), así como por el fallo en la formación de los gametos mononucleados. Estas son unas de las diferencias por las cuales podemos diferenciar al género *Phytophthora* y otros oomicetos de los hongos verdaderos.

El tubo de fertilización del anteridio rompe la pared original del oogonio depositando el núcleo anteridial. Los núcleos se fusionarán y quedarán solos en el citoplasma del oogonio. La oospora simple, se forma dentro del oogonio, presentando un aspecto globoso y característico, desarrollando una gruesa pared interna (0,5-6,0 micras).

Anterior a la germinación de la oospora, los núcleos haploides del anteridio y del oogonio se fusionan para formar un núcleo diploide. La oospora diploide germinará bajo condiciones favorables, y formará uno o múltiples tubos de germinación y de los cuales podrían o no formarse esporangios.

Galindo y Gallegly (1960) dieron el primer paso en el conocimiento de la sexualidad de las especies del género, que agruparon como:

- Especies homotáticas: aquellas en las que un mismo micelio forma, a la vez, órganos sexuales masculinos y femeninos autofértiles.

- Especies heterotáticas: aquellas que exigen la confrontación de dos tipos conyugales compatibles (“matting types”), pudiendo pertenecer los micelios enfrentados a diferentes especies. Las especies heterotáticas presentaban 2 clases de compatibilidad, y que todo cruzamiento inter o intraespecífico es posible bajo condiciones en que las 2 cepas, puestas en confrontación, pertenecen a “matting types” o complementarios que, arbitrariamente, los autores denominaron A1 y A2.

Los mencionados autores lograron la demostración de lo dicho a partir de aislamientos de *P. infestans* procedentes de USA y México. Posteriormente han sido numerosas las especies donde se ha comprobado que en el interior de cada una existen los dos “matting types” A1 y A2. Galindo y Gallegly (1960) aclararon que se trataba de tipos de compatibilidad y no tipos de sexo morfológico distinto: cada aislamiento dentro de la especie sería hermafrodita, pero incompatible consigo mismo (autoestéril), al contrario de lo que ocurre con las especies homotálicas.

Se comprobó cómo algunos aislamientos de cada tipo compatible pueden actuar únicamente como “machos” y otros solo como “hembras”, mientras que otras cepas se comportan como machos o como hembras, según si la cepa compatible con la cual se confrontan sea más macho o más hembra que las demás. Existen, entonces, grados de masculinidad o femineidad entre cepas de una misma especie (Figura 2). De forma gráfica vemos que del centro de la línea hacia la izquierda, el carácter “macho” en las cepas se acentúa. Mientras que el comportamiento como hembra va del centro a la derecha (Galindo y Gallegly, 1960).

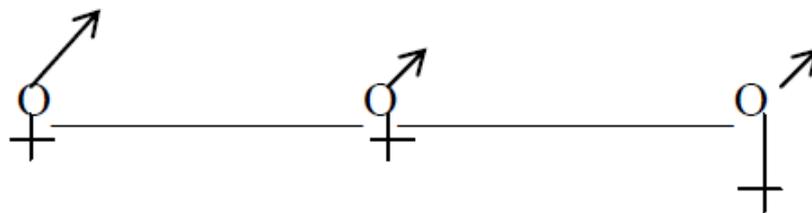


Figura 2: Sexualidad relativa de las cepas de *P. infestans*.

Dichos autores estudiaron el sentido del cruzamiento determinando que en las especies heterotálicas, la hifa gametangial macho provendría de la cepa tipo A1, por ejemplo, mientras que la hifa hembra sería aportada por la cepa tipo A2. Después de la fecundación sería establecida una verdadera hibridación. Esto no está claramente demostrado, de la misma manera que se desconoce el grado de fecundación inducido en las confrontaciones entre cepas de tipos complementarios.

Fueron Savageet *al.* (1968) los que trabajando con 30 especies y variedades de *Phytophthora*, estudiaron el fenómeno sexual, poniendo de manifiesto que los enfrentamientos complementarios entre especies (interespecíficos) heterotálicas eran posibles. De esta manera, 29 especies quedaron agrupadas así:

- Homotáticas:

a) Con anteridio predominantemente paragino:

P. cactorum, *P. citricola*, *P. lateralis*, *P. megasperma*, *P. porri*, *P. sojiae*, *P. syringae*.

b) Con anteridio predominantemente anfigino:

P. boemeriae, *P. erythroseptica*, *P. fragariae*, *P. heveae*, *P. hibernalis*, *P. ilicis*, *P. phaseoli*, *P. richardiae*.

- Heterotáticas:

Con anteridio siempre anfigino:

P. arecae, *P. cambivora*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. colocasiae*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. infestans*, *P. meadii*, *P. mexicana*, *P. palmivora*, *P. parasitica*, *P. parasitica* var. *nicotianae*.

Algunas especies de *Phytophthora* son homotáticas mientras otras pueden ser heterotáticas, pudiendo encontrarse cepas tipo A1 y A2. Cuando tenemos tipo A1 y A2 pueden cruzarse, pudiendo aparecer en este caso nuevos biotipos. Por esta razón, cuando coexistan ambas cepas en la naturaleza, la recombinación genética puede dar lugar a nuevos biotipos más o menos virulentos que los existentes.

Este trabajo, está referido a dos especies de *Phytophthora* muy similares morfológicamente, *P. parasitica* y *P. capsici* (Erwin y Ribeiro, 1996). *Phytophthora capsici*: También conocida como *P. hydrophila* (Curzi, 1927 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. parasitica* var. *capsici* (Leonian), (Sarejanni, 1936 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), y *P. palmivora* MF4 (Griffin and Jones, 1977 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), fue descrita por primera vez por Leonian, (1934) como el agente causal de mildiu en *Capsicum annum* L. (pimiento) en Nuevo México, Estados Unidos. En un principio fue considerada como específica del hospedador, años después se observó que la especificidad parasitaria no podría usarse como criterio taxonómico ya que *P. capsici* es capaz de infectar a un importante número de especies de plantas, incluyendo otras hortícolas de interés como la berenjena (Katsura y Tokura, 1955 citado por Erwin y Ribeiro, 1996) y el tomate (Jones *et al.*, 1991 citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

- Descripción de *P. capsici*:

Las micosis causadas por este hongo incluyen podredumbre foliares, de frutos, raíces y tallos (Erwin y Ribeiro, 1996), además de por una llamativa marchitez de los hospedadores, que es completamente irreversible después de las primeras epinastias (Bartual *et al.*, 1991).

La temperatura mínima para su crecimiento es de 10 °C, el óptimo se estima en 28 °C y el máximo supera los 35 °C (Stamps, 1985 citado por Erwin y Ribeiro, 1996). *P. capsici* es un organismo heterotálico, por lo que cuando ambos tipos de compatibilidad genética (A1 y A2) están presentes, puede originar diversidad genética. La recombinación genética puede ocasionar la aparición de nuevas razas con bastante facilidad (Monroy y Bostland, 2008).

Entre las enfermedades causadas por este patógeno, cabe destacar las que afectan a tomate y pimiento, conocidas “la podredumbre del cuello y de las raíces” y “la podredumbre del fruto” en pimiento, que puede ocurrir en los climas tropicales y muy lluviosos.

- Descripción de *P. parasitica*:

Además de *P. parasitica*, se utilizan otras denominaciones. Así, *P. nicotianae* var. *parasitica* fue propuesto por Waterhouse y Waterson (1964), sin embargo la mayoría de los autores utilizan *P. parasitica*, que será usado en el texto. Las temperaturas mínimas para su crecimiento varían entre 5 y 7 °C en diferentes aislados; el óptimo de temperatura se encuentra entre 27 y 32 °C; y el máximo a los 37 °C.

Los síntomas más comunes de esta especie son podredumbres de cuello y raíces, sin embargo, también infecta flores, frutos y hojas. Diferentes aislados de *P. parasitica* son causantes de podredumbres de cuello y raíces de numerosos cultivos. Las descripciones de Erwin y Ribeiro (1996), insisten en la relación estrecha existente entre el exceso de agua en el suelo y la gravedad de la micosis, hecho que demostraron Ristantino *et al.* (1988) y Ristantino y Duniway (1989) citados por Ribero, (1990) al comprobar cómo el ajuste del agua de riego, reduce la gravedad de la enfermedad.

2.1.1.3. *P. nicotianae* Breda de Haan (1896) = *P. parasitica* Dastur (1913)

Entre sus sinónimos se incluye *P. melongenae* (Sawada, 1915 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. allii* (Sawada, 1915 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. terrestris* (*P. terrestris*) (Sherbakoff, 1917 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *Blephaspora terrestris* (Peyronel, 1920 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. parasitica* var. *rhei* (Godfrey, 1923 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. jatrophae* (Jesen, 1923 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. tabaci* (Sawada, 1927 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. parasitica* var. *pipereina* (Dastur, 1913 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. formosana* (Sawada, 1942 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. lycopersici* (Sawada, 1942 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), *P. ricini* (Sawada, 1942 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), y *P. parasitica* var.

sesami (Kale y Prasad, 1957 citado por Erwin y Ribeiro, 1996). (Waterhouse, 1963 y 1974 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) y, (Waterhouse y Waterston, 1964 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) describen las variedades *nicotianae* y *parasitica* de *P. nicotianae*; sin embargo, éstas no están ampliamente aceptadas.

Hasta 1963, el nombre *P. parasitica* (Dastur, 1913 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), causante de una podredumbre de las plántulas de ricino (*Ricinus communis* L.), era aceptado mundialmente frente a *P. nicotianae* como nombre propio de estas especies, porque la última fue inadecuadamente descrita por Breda de Haan (1896) (citado por Tucker, 1931). Por otro lado, Ashby (1928) (citado por Tucker, 1931) observó que los anteridios paraginos dibujados por Breda de Haan (1896) (citado por Tucker, 1931) eran erróneos porque los anteridios de los aislados de *Phytophthora* de tabaco y otros hospedadores habían sido descritos como anfiginos. Esto indicó que el cultivo en agua de las raíces de Breda de Haan (1896) (citado por Tucker, 1931) estaba contaminado con alguna especie de *Pythium* y no se trataba de un cultivo puro de *Phytophthora*. Ashby (1928) propuso que el nombre *P. nicotianae* fuera “eliminado” y que el nombre de todos los aislados de este patógeno procedentes de tabaco y otros hospedantes se describieran como *P. parasitica* Dastur (1913) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996). Posteriormente, Rosembau (1917), Tucker (1931), Leonian (1934) y Meurs (1934) (citados por Erwin y Ribeiro, 1996) confirmaron esta propuesta. (Erwin y Ribeiro (1996) consideran *P. parasitica* como el nombre más apropiado pero el código internacional de nomenclatura botánica difiere en esto.

Waterhouse (1963) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996) sustituyó el nombre *P. parasitica* por *P. nicotianae* propuesto por Breda de Haan (1896) (citado por Tucker, 1931). Este cambio no ha sido aceptado universalmente. La mayoría de las publicaciones en los Estados Unidos continúan empleando el nombre *P. parasitica*. En Francia, se han publicado varios artículos bajo el nombre *P. parasitica*. Incluso, el compuesto elicitante producido por *P. parasitica* que elicitaba la producción de una reacción de resistencia en plantas de tabaco se ha denominado “parasitina”. Una revisión infográfica de Agrícola Abstracts (1970-1994) (Erwin y Ribeiro, 1996), mostró que existían 1907 referencias referidas a *P. parasitica* y 536 a *P. nicotianae*.

A pesar de que Ho y Jongs (1989a), citados por Erwin y Ribeiro, 1996), también preferían el nombre de *P. parasitica*, concluyen que el mandato del reglamento actual del Código Internacional de Nomenclatura Botánica deberá ser mantenido “a pesar de la ambigüedad de la configuración del anteridio de *P. nicotianae*”. Estos autores discuten que si la nomenclatura de especies de *Phytophthora* está sujeta al Código Internacional de

Nomenclatura Botánica, el nombre *P. nicotianae* debería ser válido desde un punto de vista legal.

Probablemente se continúen usando ambos nombres, si nos atenemos a lo sucedido durante los últimos 30 años.

La separación de Waterhouse (1963,1974) (citados por Erwin y Ribeiro, 1996) de *P. nicotianae* var. *parasitica* de *P. nicotianae* var. *nicotianae* se basó en pequeñas diferencias morfológicas, no en su patogenicidad para el tabaco. Luego, *P. nicotianae* var. *nicotianae* no es necesariamente un sinónimo del epíteto tabaco, pues *P. parasitica* var. *nicotianae* sensu (Tucker, 1931 citado por Erwin y Ribeiro, 1996) podía serlo también.

P. nicotianae var. *parasitica* (Waterhouse, 1963 y 1974 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) y, (Waterhouse y Waterston, 1964 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) fue caracterizada por la producción de oogonios esféricos (de 16 a 31 μm , mayormente de 24 a 26, de diámetro) en cultivo monoesporangial o cuando se realizan cruzamientos entre grupos de compatibilidad sexual opuestos; oosporas esféricas con un diámetro medio de 20 μm (máximo 26 μm); anteridios anfiginos ovalados o esféricos; hifas de un diámetro mayor a 9 μm , sin “*hyphal swellings*”; esporangios papilados de forma ovoide o elipsoide tirando a esférica formados sobre esporangióforos en ramificaciones irregulares en simpodio y esporangios esféricos o elipsoides de forma ocasional con pedicelos cortos caducos; y por la formación de clamidosporas tardíamente (10 a 14 días) inusualmente de diámetro 22 a 30 μm con paredes más gruesas (de 3 a 4 μm) que las de *P. nicotianae* var. *nicotianae*. A pesar del empleo de estos dos epítetos varietales desde 1963, varios estudios muestran que estas diferencias no se pueden confirmar. Los patrones proteínicos de aislados de *P. nicotianae* de tomate, clavel y cítricos resultaron idénticos a los aislados de *P. nicotianae* f. sp. *nicotianae* de tabaco de los Estados Unidos. Algunas otras comparaciones bioquímicas de aislados de tabaco designados *P. parasitica* var. *nicotianae* sensu (Tucker, 1931 citado por Erwin y Ribeiro, 1996) con aislados de otros cultivos denominados *P. parasitica* también mostraron que variedad *nicotianae* y var. *parasitica* eran indistinguibles. Análisis serológicos mostraron que aislados de tabaco y los procedentes de otros cultivos eran similares. Análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) de ocho aislados de tabaco, dos de clavel y dos de cítricos fueron similares. Patrones de RFLP-DNA de aislado de *P. parasitica* procedentes de tabaco de Estados Unidos, Sudáfrica y un amplio rango de otros hospedadores fue similar.

La denominación de Tucker (1931) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996) *P. parasitica* var. *nicotianae* para aislados de tabaco se basaba solamente en la especificidad patogénica de los aislados. Este autor añadió junto a Tisdale (1922) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996) que

los aislados de *P. parasitica* procedentes de varios hospedantes eran similares a aquellos asignados como causantes del tallo negro del tabaco. La elección de Tucker del nombre *P. parasitica* var. *nicotianae* para aislados de tabaco fue desafortunada y errónea pues esto condujo a rebajar el epíteto *nicotianae*, formalmente empleado para denominar especies al rango de variedad; además la especificidad para el hospedante no había sido antes usada como carácter básico de una variedad, porque el estatus de variedad deberá estar basado en criterios morfológicos CINB (Código Internacional de Nomenclatura Botánica). Sería más correcto utilizar la denominación de f. sp. (*forma specialis*), que el término “var.”, para los aislados del tabaco. Tal designación podría ser útil para facilitar la comunicación; sin embargo, Hoo y Jong (1989) (Citados por Erwin y Ribeiro, 1996) y Brassier (1983) (citados por Erwin y Ribeiro, 1996) prefieren ser cautos.

(Lucas, 1975, citado por Erwin y Ribeiro, 1996) mantiene que el tabaco es el único hospedante natural de *P. parasitica* var. *nicotianae* sensu Tucker (1931) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996), y se apoya en la observación de que el pimiento, tomate, berenjena, ricino y patata crecieron sin pérdida alguna en campos de California del Norte en los que la enfermedad del tallo negro se manifestaba en plantas de tabaco. Si bien la inoculación artificial con los aislados de tabaco sobre otros hospedantes diferentes al tabaco indujo la enfermedad en un gran número de hospedantes (manzana, tomate, frutos de berenjena, algodón, tubérculos de patata, tallos de papaya y plántulas de berenjena), y sólo fueron ligeramente patógenos para tallos de ricino (el hospedante en el que fue descrita originalmente *P. parasitica* por Dastur (1913) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996) pie del cacao y plántulas de tomate.

2.1.1.3.1. Morfología

P. parasitica se clasifica dentro del grupo II (Stampset *al.*, 1990) y está redescrita Hall (1993) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

-Micelio

Colonias densas o con forma de roseta, o sin patrón de crecimiento y micelio aéreo con forma de cúpula o poco voluminoso y extendido. Ratio de crecimiento radial en medio V8 a 25°C (3)-6,0 ± 1,57-(9,5) mm día⁻¹, “hyphal swellings” presentes, con paredes continuas con el micelio somático formadas a los 5-14 días en agua en un 75% de las cepas. Crecimiento o

parada del crecimiento a 5°C, buen crecimiento a 35°C, el 50% de las cepas muestran parada del crecimiento a 40°C.

- Esporangios

Producidos abundantemente bajo la luz o sin ella, muy raramente sobre medio sólido (cuando lo hace es débilmente) tanto con luz como en oscuridad; la forma varía desde elipsoide, ovoide, piriforme, obpiriforme a esférica, con una prominente papila. Ocasionalmente aparecen dos papilas en un sólo esporangio. Los esporangios no son caducos. Los esporangios papilados aparecen solitarios o en un simpodio aislado con largos esporangióforos de 100 a 595 micras de longitud (valor medio de 375 micras) en algunos aislados (Thonsom y Hine, 1972); los esporangios miden entre 11 y 60 micrómetros de largo x 20 a 45 micras de ancho (valores medios 40,18 x 28,52 micras) con un índice longitud/anchura de 1,1 a 1,7 (valor medio 1,34) (Erwin y Ribeiro, 1996). Los esporangios aparecen ramificados irregularmente o simpodialmente. Waterhouse (1974) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996) indicó que los esporangios de la variedad parasitica eran caducos con cortos esporangióforos (2,0 micras) pero los esporangios de la variedad nicotianae no los presentaban; sin embargo, esto no ha sido confirmado por estudios posteriores de otros autores. En éstos los esporangios de ambas variedades permanecían en el esporangióforo (no caducos). Hall (1993), observó que algunos esporangios se desprendían del esporangióforo. Pero no existía septo en el punto de ruptura, por lo que concluyó que los esporangios son no caducos.

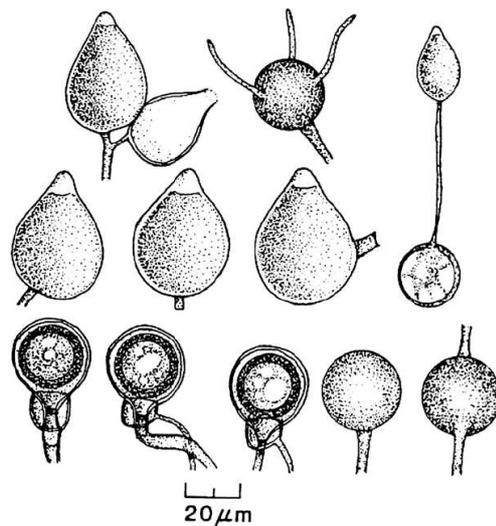


Figura 3: Morfología de *Phytophthora parasitica*. Arriba y en el centro esporangios papilados, y clamidosporas germinando. Abajo oogonios con anteridios anfiginos y conteniendo las oosporas (fotografiado por A. Vaziri). (Erwin y Ribeiro, 1996).

- Clamidosporas

Las clamidosporas son usualmente abundantes. Pese a ello, Hall (1993), escribió que sólo el 50% de 81 aislados que estudió las producían abundantemente. Las clamidosporas son terminales o intercalares y con un diámetro medio de 28 micras, que puede oscilar entre 13 y 60 micras. Dastur (1913) estudió un rango de 20 a 60 micras.

Esféricos, $(16)-26 \pm 3,2-(36)$ μm de diámetro ($n = 1720$), pared gruesa de 1-2 μm , de contenido homogéneo, delimitados por un septo de la hifa somática.

- Hyphal Swellings

Fueron observados *Hyphal swellings* con paredes finas por (Hall, 1993).

- Órganos sexuales

La mayoría de los aislados son heterotálicos, pero algunos aislados forman oogonios y oosporas en cultivo puro cuando el inóculo se ha tomado de cepas viejas (Brassier, 1972; Tsaoet *al.*, 1980). Los aislados de *Catharanthus roseus*, fueron homotálicos (Schubert y Leahy, 1989 citados por Erwin y Ribeiro, 1996). Se encontraron oosporas en tejidos de la estela de raíces de naranjos del cultivar Washintgon Navel en California (Lutz y Menge, 1991 citados por Erwin y Ribeiro, 1996). Los anteridios son anfiginos y esféricos u ovoides; los oogonios son lisos y esféricos, con un diámetro medio de 26,8 micras (de 15 a 64 micras de rango). Las oosporas son apeleróticas Dastur (1913 citados por Erwin y Ribeiro, 1996), describe un diámetro de 13 a 24 micras. Es común encontrar oosporas de 13 a 35 micras de diámetro con un diámetro medio de 22,6 micras.

2.1.1.3.2 Características

- Temperatura de crecimiento

La temperatura mínima de crecimiento varía de 5 a 7°C dependiendo de los aislados: el óptimo está entre 27 y 32°C; y el máximo es 37°C. (Hall, 1993) afirma que la mayoría de los aislados detienen su crecimiento a 5 y 35°C, además, sobre la mitad de los cultivos murieron a 40°C.

- Características distintivas

Las colonias de algunos aislados en PDA son típicamente aracnoides, pero en agar V8 las colonias son más mullidas. En PDA, una hifa progresa aproximadamente de 1,0 a 1,5 cm·día⁻¹ y parece proliferar mientras otras hifas progresan radialmente y se repite el progreso. Ya que en PDA el crecimiento de la colonia de *P. parasitica* en forma petaloide no tiene lugar, se puede diferenciar rápidamente de *P. citrophthora*. Sobre agar harina de maíz, las formas de la colonia fueron roseta (72,9%), estelada (11,1%), lanosa (2,4%), e indeterminada (forma intermedia entre roseta y lanosa, 13,5%) (Hall, 1993).

2.1.1.4 *Phytophthora capsici* McHau y Coffey (1995)

P. capsici se describió por primera vez afectando al pimiento en 1918, procedente de Méjico (Leonian, 1922).

2.1.1.4.1. Morfología

- Esporangios

Son mayoritariamente papilados pero en algunos casos parecen ser semipapilados. Ocasionalmente tienen dos o tres vértices. Las formas de los esporangios puede verse influenciada por varias condiciones como la luz (Tsao y Alizadeh, 1988; Tsao, 1991 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) y van desde subesféricos, ovoides, obovoides, elipsoides, piriformes hasta formas distorsionadas. Los esporangios son predominantemente cónicos en la base y son caducos con largos pedicelos, que varían en longitud con el tiempo desde 35 hasta 138 μm (McHau y Coffey, 1995 citados por Erwin y Ribeiro, 1996). El cociente longitud/anchura varía según autores: 1,70:1 (Frezzi, 1950 citado por Erwin y Ribeiro, 1996); 1,72:1 (Ershad, 1971 citado por Erwin y Ribeiro, 1996); 1,57 a 2,19, con media 1,76:1 en agar y 1.52 a 2.10, con media 1,73:1 en el agua (Kröber, 1985 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), a la luz; 1,73 y en la oscuridad 1.27 (Tsao y Alizadeh, 1988 citados por Erwin y Ribeiro, 1996); y de 1,4 a 1,8 (rango de 24 aislados se incuban en el agua bajo la luz) (Ristaino, 1990 citado por Erwin y Ribeiro, 1996). (McHau y Coffey, 1995 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) informan que los esporangios son extremadamente variables en forma: elipsoides, esféricos, subesféricos, ampliamente ovoides, obturbados, obovoides, fusiformes, y piriformes. Las dimensiones longitud x anchura varían desde 32,8 - 65,8 x 17,4 - 38,7 μm . La relación entre la

longitud y la anchura varía de 1,3:1 a 2,1:1. Los esporangióforos que se forman bajo la luz son irregularmente ramificados, y forman simpodios sólo en el agua. Los esporangios caducos con tallos largos se muestran en la siguiente figura:

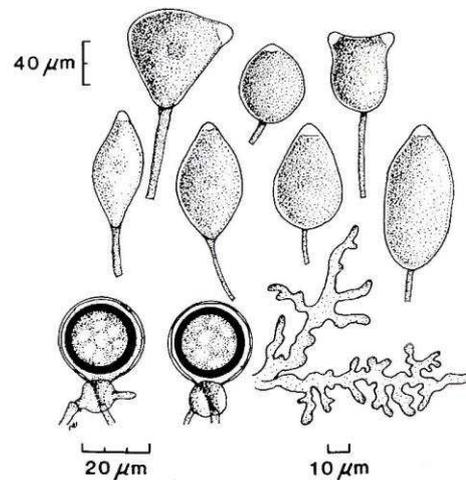


Figura 4: Morfología de los tipos de esporas de *Phytophthora capsici*. Fila superior: esporangios caducos con pedicelos largos y distintas formas de las papilas. Fila inferior: oogonios globosos con anteridios paraginos (oosporas pleróticas) y micelio. Dibujado por A. Vaziri (Erwin y Ribeiro, 1996).

- Clamidosporas

Según Tucker (1931), las clamidosporas de *P. capsici* aisladas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) son poco frecuentes (Erwin y Ribeiro, 1996). Los aislados de pimiento u otras cucurbitáceas normalmente no forman clamidosporas (Ristaino, 1990 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), sin embargo, según Ershad (1971), son abundantes en algunos aislados de Irán (Erwin y Ribeiro, 1996). Según Tsao (1991) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996) los diámetros van de 28 a 29 μm con espesor de pared de 2,4 a 2,7 μm .

En 1995, McHau y Coffey informaron que encontraron clamidosporas exclusivamente en una población de aislados de cacao, pimiento negro, y otros hospedadores (pero no de pimiento) y con diámetros de 22 a 52 μm (Erwin y Ribeiro, 1996).

La producción de clamidosporas en algunos aislamientos está condicionada en cierta medida por la elección de los métodos culturales (Uchida y Aragaki, 1985 citados por Erwin y Ribeiro, 1996). Cuando se expuso el micelio durante 5 días en el jugo V8 neutralizado con carbonato cálcico y luego sumergido en agua destilada estéril para 4 a 8 semanas y se incubó en la oscuridad, resultó que 20 de 29 aislamientos de *P. capsici* produjeron clamidosporas, sin

embargo, los aislamientos de los hospedantes de solanáceas, a excepción de tres aislamientos de berenjena, no produjeron clamidosporas. Un caldo de jugo de papaya 50 % utilizado anteriormente para inducir oosporas de *P. palmivora* (Kadooka y Ko, 1973 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) no indujo oosporas de ningún aislado de *P. capsici* (Uchida y Aragaki, 1985 citados por Erwin y Ribeiro, 1996). Las paredes fueron 1,0 a 1,5 μm de espesor.

- Hyphal Swellings

Los hinchamientos hifales son en ocasiones producidos por aislados en cultivos acuosos.

- Órganos sexuales

P. capsici es predominantemente heterotálica, sin embargo, se han observado oosporas formadas en medios de cultivo que contienen el fungicida Chloroneb (Noom y Hyckman, 1974 citados por Erwin y Ribeiro, 1996) después de la exposición al hongo Trichoderma (Brasier, 1975 citado por Erwin y Ribeiro, 1996). Los dos tipos de apareamiento A1 y A2 están aislados de plantas de pimiento y cucurbitáceas en el campo, pero en general los tipos de apareamiento A1 y A2 se presentan aislados y rara vez juntos en una planta (Ristaino, 1990 citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

Los anteridios son anfiginos. Los diámetros oscilan desde 12 a 21 x 12 a 17 μm (Frezzi, 1950 citado por Erwin y Ribeiro, 1996) ; 17 x 15 μm (Stamps, 1985 citado por Erwin y Ribeiro, 1996); 9-20 x 8-17 μm , con un promedio de 14,1 x 13,5 μm (Kröber, 1985 citado por Erwin y Ribeiro, 1996); 12 a 17 x 14 a 16 μm , y un promedio de 14 x 15 μm (Tsao, 1991 citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

Los oogonios son esféricos o subesféricos y sus dimensiones en diferentes hospedantes varían desde 23 hasta 50 μm .

Las oosporas son predominantemente pleróticas con un espesor de pared de 2 a 6 μm (Tsao, 1991 citado por Erwin y Ribeiro, 1996). El diámetro medio de las oosporas de varias cepas de pimiento variaron desde 23,7 hasta 34,9 μm , con diámetros promedio de varias cepas en cucurbitáceas variaron desde 27,8 hasta 34,2 μm (Ristaino, 1990 citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

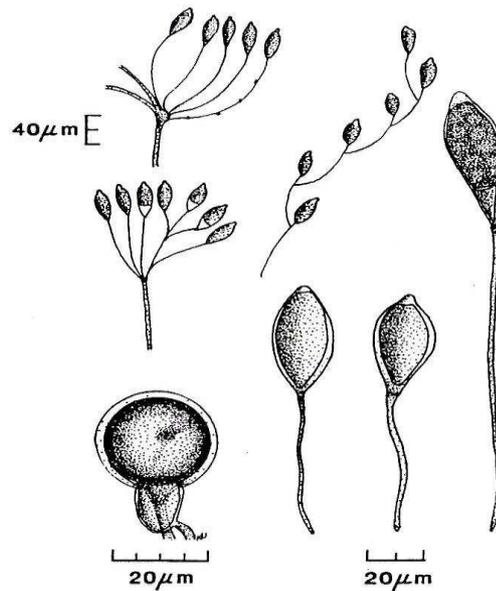


Figura 5: Morfología de *Phytophthora capsici* (sensu Tsao1991), conocido anteriormente como atípicos *P. palmivora* MF4 (sensu Griffin 1977). Fila superior: la formación de esporangióforos en umbela y formación de esporangios en forma de simpodio. Fila inferior: con un oogonio con anteridios anfiginos que contiene una oospora globosa y esporangios caducos con largos pedicelos (Dibujado por A. Vaziri en Erwin y Ribeiro, 1996).

2.1.1.4.2. Características

- Temperatura de crecimiento

La temperatura mínima de crecimiento es de 10°C, el óptimo es de 28°C, y el máximo es mayor de 35°C (Stamps, 1985).

Varios trabajos muestran datos diferentes de valores de temperatura para el mínimo, óptimo, y máximas: 7,5, 30 y 35°C (Kröber, 1985 citado por Erwin y Ribeiro, 1996), 6-9, 27-30, y 33 a 39°C (Tsao, 1991 citado por Erwin y Ribeiro, 1996) y 12, 28 y 32°C (Leu y Kao, 1981 citados por Erwin y Ribeiro, 1996).

La temperatura óptima de crecimiento entre varios aislamientos varió de 24°C a 33°C (Mchau y Coffey, 1995 citados por Erwin y Ribeiro, 1996).

- Características distintivas

P. capsici se distingue de otras especies en el grupo II por la producción de largos pedicelos en esporangios caducos con formas que van desde casi esférica a alargada. *P. parasitica* produce esporangios más redondeados que no son caducos. *P. palmivora* produce esporangios ovoides que son caducos, pero tienen pedicelos cortos.

2.1.1.5. Especificidad parasitaria de *P. capsici* y *P. parasitica*

La especificidad parasitaria en el género *Phytophthora* ha sido un tema relativamente poco tratado en la bibliografía. Agrupa a un gran número de especies patógenas para un enorme número de plantas. En cuanto a la especificidad del hospedador, las situaciones son diversas y bastante complejas. Pocas especies de *Phytophthora* son específicas de un sólo hospedador y la mayoría de ellas tienen una amplia variedad de hospedadores. Dentro de tales especies, determinados aislados pueden ser más especializados que otros.

De manera genérica se ha supuesto que a la “seca” o “tristeza” del pimiento se asociaba *P. capsici*, mientras que la podredumbre del cuello y raíces de las plantas se asociaba *P. parasitica*. Actualmente se sabe que ambas especies son capaces de afectar a ambos hospedadores.

Autores como Satour y Butler (1967) consideraban a *P. capsici* específica de pimiento, pero ensayando la patogeneidad de las progenies (F1) procedentes de la germinación de oosporas de cruzamientos de cepas muy patógenas sobre pimiento, obtuvieron de uno de los cruzamientos 32 aislados patógenos sobre tomate y 18 sobre pimiento (Satour y Butler, 1967). Las inoculaciones se hicieron con 54 aislados, de los cuales 33 no fueron patógenos en pimiento y 17 no lo fueron sobre tomate. Este comportamiento fue explicado por Boccas (1978) y Boccas y Zentmyer (1976) de la siguiente forma: la autofecundación de un aislado puede dar lugar no solamente a una reducción o a un aumento del poder patógeno de la descendencia frente a sus hospedadores reconocidos o tradicionales de la especie, sino también a una ampliación de su espectro parasitario. Así, en cruzamientos con *P. capsici* (patógena sobre pimiento) y *P. palmivora* (no patógena sobre pimiento), obtuvieron 18 aislados (F1) procedentes de oosporas, que al inocularlos sobre plantas de pimiento se obtuvieron un 16,66% que fueron tan patógenas como el parental *P. capsici*, un 11,11% fueron la mitad de patógenas, un 11,11% fueron la quinta parte de patógenas y un 61,11% no expresaron ninguna patogeneidad.

Sin embargo, Cristinzi y Noviello (1980) comunicaron que al inocular 22 aislados de *P. capsici* sobre pimiento, berenjena, tomate, calabaza y sandía, expresaron una clara especificidad parasitaria sobre pimiento.

Los aislados identificados morfológicamente como *P. parasitica* (sensu Dastur 1913 citado por Erwin y Ribeiro, 1996) o *P. nicotianae* (sensu Waterhouse, 1963 citado por Erwin y Ribeiro, 1996) son patógenos para un amplio rango de géneros y familias vegetales. En la lista de hospedadores que fueron citados para *P. parasitica* (sensu Dastur, 1913) o para cada variedad de *P. nicotianae* (sensu Waterhouse, 1963), se encontraban 264 especies distintas de

hospedadores naturales, número que se ampliaba a 301 cuando se añadían los hospedadores inoculados artificialmente. Y dado que hay evidencias considerables que apoyan la preferencia de algunos aislados por determinados hospedadores, cualquier aislado no puede ser considerado patógeno para todas las plantas descritas como hospedantes.

En este sentido, Bonnet *et al.* (1978) realizaron un estudio sobre el poder patógeno de *P. parasitica* e introdujeron la noción de especialización parasitaria al estudiar 16 aislados de *P. parasitica* procedentes de clavel (6 aislados), *Citrus* (5 aislados) y tomate (5 aislados). La correspondiente patogeneidad sobre plantas de tomate, esquejes de clavel y hojas de cítricos, muestra una especificidad parasitaria para las cepas de cítricos, las únicas capaces de producir necrosis sobre hojas de *Citrus*. Sin embargo, las aisladas de clavel fueron más patógenas sobre esquejes de clavel que las procedentes de tomate o de *Citrus*, así como las aisladas de tomate tuvieron sobre tomate un mayor poder patógeno que las aisladas de *Citrus* o las procedentes de clavel. Concluyen dichos autores que en las cepas estudiadas no se puede decir que haya una polifagia en *P. parasitica*. Otros ejemplos de la especificidad parasitaria de *P. parasitica* los obtuvieron Kale y Prasad (1957) y Gemawat y Prasad (1964) (citado por Erwin y Ribeiro, 1996) probando como aislados procedentes de sésamo eran específicos para sésamo y Erwin (1964) citado por Erwin y Ribeiro, 1996 con aislados procedentes de hibisco (*Hibiscus esculentus* L.) no patógenos para cítricos y viceversa.

Boccas y Zentmyer (1976), estudiando la patogeneidad de 29 aislados (F1) procedentes de las oosporas de los cruzamientos entre *P. cinnamomi* (patógena sobre aguacate y no sobre cítricos) y *P. parasitica* (no patógena sobre aguacate y sí sobre cítricos), obtuvieron un 13,78% que fueron patógenas sobre *Citrus jambhiri* y no sobre *Persea indica*, un 27,56% lo fueron sobre *P. indica* pero no sobre *C. jambhiri* y un 58,66% no fueron patógenas sobre ninguno de los hospedadores. Como sugiere Boccas (1978), la inducción recíproca de autofecundaciones entre especies de *Phytophthora* y entre aislados complementarios de la misma especie hacen posible una alta heterocigosis en las cepas salvajes que se aíslan de los cultivos. Así, sugiere Boccas (1978) que las cepas de *Phytophthora* aisladas de cultivos anuales agrupan fenotipos variados sexualmente muy fértiles y con un amplio espectro parasitario.

Por otra parte, como se ha citado en el apartado correspondiente a *P. parasitica*, la relación entre *P. nicotianae* y el tabaco parece ser altamente especializada. Ya en 1953 se observó la ausencia de enfermedad en una plantación de tabaco en rotación con un cultivo de tomate que se había visto muy afectado por *P. nicotianae* (Félix, 1953). Ivantcheva-Gabroska

(1958), observó que los aislados de *Phytophthora* provenientes de tabaco y tomate, aunque eran similares morfológicamente eran diferentes biológicamente, ya que mostraban una preferencia parasitaria por el hospedador de origen. Sin embargo, también pueden encontrarse ejemplos que no apoyan la teoría de la especificidad parasitaria, aislados de *P. nicotianae* var. *nicotianae* (no procedentes de tabaco) de *Peperomia obtusifolia*, *Saintpaulina ionantha* y *Sinningia hibrida* tenían diferentes rangos de hospedantes pero ninguno fue específico (Rattink, 1981 citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

Otro ejemplo más de especificidad parasitaria en *P. parasitica* lo obtuvieron Matheron y Matejka (1990) citado por Erwin y Ribeiro, 1996) ya que aislados de cítricos fueron más virulentos en raíces de limón que aislados procedentes de petunia, tomate, nogal, morera, jojoba, hibisco y melocotón. El tomate sin embargo, fue mucho más susceptible para más aislados incluidos los de cítricos.

Allagui y Lepoivre (2000) mostraron como los aislados de *P. nicotianae* procedentes de plantas de pimiento no eran patogénicos en plantas de tabaco, mientras que tras la inoculación en plantas de tomate y de berenjena se producían síntomas diferentes a los observados en las plantas de pimiento, así como falta de patogeneicidad de los aislados de *P. nicotianae* provenientes de plantas de pimiento cuando se inoculan en tomate. Además, los aislados de *P. nicotianae* obtenidos de tomate, clavel y pistacho no producían ningún síntoma o sólo causaban una leve necrosis radicular en las plantas de pimiento. Las elicinas producidas por *P. nicotianae* han sido señaladas como moléculas involucradas en la especificidad parasitaria en la interacción *P. nicotianae* - tomate (Colaset *al.*, 1998; Capassoet *al.*, 1999).

Andrés *et al.* (2006) inocularon 10 aislados de *P. nicotianae* procedentes de plantas de pimiento, observando que los aislados resultaron ser patógenos en plantas del cultivar Yolo Wonder, pero no causaron daño en plantas de tomate cultivar San Pedro. Ensayos muy recientes realizados en Extremadura (Morales Rodríguez, 2011), concretamente, en la zona de los valles del Tiétar y el Alagón, donde *P. parasitica* es la única especie de *Phytophthora* que se ha encontrado afectando al cultivo de pimiento para pimentón es habitual la rotación de cultivos de pimiento y tabaco. El tabaco es un cultivo en el que parece existir una especialización parasitaria y la interacción entre el tabaco y *P. parasitica* ha sido de las más estudiadas dentro de esta especie de *Phytophthora* y en el caso del tabaco se han descrito especificidades parasitarias.

En este caso se realizaron aislamientos de *P. parasitica* en plantas de tomate y pimiento enfermas. Después se inocularon sobre especies vegetales que son hospedadores habituales de *P. parasitica* y que se podrían incluir en las rotaciones de cultivos en ambas zonas. Así los aislados de tomate se inocularon en plantas de pimiento y los de pimiento en plantas de tomate pero además se inocularon otras especies como tabaco, berenjena, kenaf, altramuza y algodón. Los resultados fueron los siguientes: “Los datos obtenidos indican que los aislados de plantas de tomate se muestran mucho más específicos en su patogenicidad, ya que independientemente del estado de desarrollo de la planta o el tipo de inoculación (riego o decapitación) únicamente causan enfermedad o daño en plantas de tomate, especie de la que han sido aisladas. Los aislados de plantas de pimiento se muestran menos específicos en su patogenicidad, ya que sí que son capaces de causar enfermedad en plantas de tomate aunque únicamente en el estado de planta pequeña (2- 4 hojas verdaderas) o en inoculación mediante decapitación” y además “Ninguno de los aislados inoculados, ni los procedentes de plantas de pimiento ni los de plantas de tomate fue patógeno en tabaco, berenjena, kenaf, altramuza y algodón”. Estudiando estos mismos aislados procedentes de plantas de tomate y pimiento mediante marcadores moleculares basadas en estudios de amplificación del ADN polimórfico (RAPDs) y de las secuencias entre los microsatélites (ISSRs) se llegó a la conclusión de que los aislados procedentes de tomate y pimiento son genotípicamente diferentes separando estos aislados en dos grupos claramente diferenciados, que se corresponden con el hospedador de procedencia de los mismos: plantas de pimiento o de tomate.

También, Pérez Vargas (2011) encontró especificidad parasitaria en algunos aislados *P. parasitica* y *P. capsici* procedentes ambos tanto de tomate como de pimiento, mientras que en otros casos esta especificidad no se presentó, afectando ambas especies a ambos hospedadores. Recientemente, García Lara (2013) encontró especificidad parasitaria en aislados de *P. parasitica* procedente de suelos cultivados con tomate, que no fueron capaces de afectar al pimiento.

Buscando conocer si las poblaciones de *P. nicotianae* se asemejan genéticamente en función de su origen geográfico así como por su hospedador de origen, Mammella *et al.*, (2013) analizan la estructura poblacional de una colección de 96 aislados basándose en ADN mitocondrial y nuclear. Encuentran que no hay una estructura consistente basándose en el origen geográfico, pero sí una asociación específica por el hospedador de origen, así como especificidad parasitaria con un mayor grado de virulencia sobre el hospedador de origen.

2.1.1.6. Síndromes de *Phytophthora* en pimiento

Los síntomas que producen *P. capsici* y *P. parasitica* son similares. Dependiendo del clima de la zona de cultivo, el punto de infección y del estado fenológico de la planta, *P. capsici* y *P. parasitica* pueden causar diferentes síndromes o conjunto de síntomas en pimiento. Éstos incluyen el damping off o decaimiento, pudrición de cuello y raíces, necrosis del tallo, marchitamiento, amarilleamiento, necrosis y abscisión de hojas, así como necrosis de los frutos. La mayoría de estos síntomas son fácilmente confundibles con los de asfixia radicular.

El síndrome que vamos a evaluar en este experimento es el conocido como:

- Crown and Root rot (Podredumbre del cuello y raíces)

Al tratarse de un “hongo del suelo”, el síndrome más destructivo de *Phytophthora* se conoce como Crown and Root rot. Esta denominación anglosajona abarca al conjunto de síntomas que aparecen cuando *Phytophthora* penetra a través de las raíces y cuello de la planta. El primer síntoma en aparecer, aunque no se suele observar hasta arrancar la planta, es una pudrición que puede afectar tanto a las raíces secundarias como a la raíz principal, llegando a alcanzar el cuello donde produce una necrosis que asciende por el tallo. Al verse la planta privada de su sistema radicular no puede absorber el agua y los nutrientes, apareciendo el síntoma de marchitamiento, también conocido como “tristeza del pimiento”, con posterior amarilleamiento, necrosis y/o abscisión de las hojas. Éste suele ser el primer síntoma en observarse. Si la planta se encuentra en las primeras fases de su desarrollo, hasta 2-3 hojas verdaderas, cuando la necrosis alcanza el cuello se produce el típico síntoma de damping off o decaimiento de la planta, fenómeno que sucede normalmente dentro de los 5 primeros días de infección (Erwin y Ribeiro, 1996).

Otros síntomas producidos por *P. capsici* y *P. parasitica* son:

- Stem blight (Podredumbre del tallo)

En ocasiones, cuando el terreno se encuentra encharcado, en épocas y/o zonas lluviosas o por un exceso de riego, las salpicaduras sobre el tallo de la planta permiten al Oomiceto infectar la planta desde ese punto. La necrosis asciende y desciende desde la zona de infección produciendo un estrechamiento y oscurecimiento de los tejidos, que finalmente se secan, produciendo el marchitamiento y la muerte de la planta al no recibir agua y nutrientes.

- **Foliar blight (podredumbre de las hojas)**

En las mismas condiciones de humedad ambiental elevadas, *Phytophthora* puede alcanzar las hojas de las plantas, produciendo lesiones de aspecto marrón húmedo al principio que se necrosan y secan poco después, pudiendo avanzar a través de los pecíolos al tallo, si antes no se produce la abscisión, y de estos hacia la base del tallo, causando la muerte de la planta, al igual que los síndromes anteriores.

- **Fruit rot (Podredumbre del fruto)**

En el caso de que las zoosporas del oomiceto alcancen los frutos del pimiento, con las condiciones ambientales adecuadas éstas pueden penetrar, produciendo una necrosis que deprecia comercialmente el fruto, apareciendo poco después cubiertos por una masa blanca de esporangios.

2.2. GENÉTICA DE LA RESISTENCIA A *PHYTOPHTHORA* EN PIMIENTO.

2.2.1. Generalidades

El empleo de cultivares resistentes, las rotaciones de cultivos, la modificación de las prácticas culturales, así como estrategias de control biológico y químico, se han empleado durante años para intentar controlar este patógeno. El uso de fungicidas ha sido infructuoso durante décadas por ello empresas e investigadores han invertido tiempo y cuantiosos recursos a la obtención de cultivares con resistencia al oomiceto.

La principal dificultad que encuentran los mejoradores genéticos es el conocimiento de los mecanismos genéticos que intervienen, por ejemplo, en la resistencia a enfermedades, aspecto necesario para diseñar y ejecutar un programa de mejora que traslade esta u otras características de una accesión determinada a cultivares comerciales, consiguiendo además que cuenten con las características agronómicas exigidas por los agricultores y las características organolépticas demandadas por el consumidor.

Dos son los entes a tener en cuenta al afrontar el problema de la resistencia a enfermedades. Por una parte, hay que considerar el huésped y por otra el parásito. Por ello se va a esbozar previamente una serie de ideas básicas, con objeto de facilitar la comprensión de la genética de la resistencia a enfermedades en general.

En la agricultura moderna, la dinámica de la relación huésped-parásito es obvia, dada la frecuencia con que el parásito supera las resistencias introducidas en los diversos cultivos hortícolas. La pérdida de resistencia ha venido observándose desde 1916 (Kommendahlet *al*, BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* Y *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EN CULTIVARES COMERCIALES DE PIMIENTO

1970), pero se precisaron del orden de cuarenta años hasta que este fenómeno comenzara a tenerse en consideración. Van Der Plank (1963, 1968 y 1975) elaboró una hipótesis que permitiera dar una explicación a la dinámica de la relación huésped-parásito. Básicamente, clasificó en dos los posibles tipos de resistencia, a saber:

- Resistencia Horizontal:

Caracterizada por la ausencia de interacciones entre variedades del huésped y aislados del parásito, estando gobernada dicha resistencia por poligenes que le confieren un carácter estable aunque inespecífico.

- Resistencia Vertical:

La resistencia vertical se caracteriza por la presencia de interacciones diferenciales entre los genotipos del huésped (variedades) y los genotipos del parásito (aislamientos, cepas, razas, etc.), confiriéndole un carácter específico aunque inestable.

Sin embargo, Nelson (1975) afirmaba que las resistencias vertical y horizontal no son el resultado de la acción de distintos tipos de genes sino más bien las expresiones de esos mismos genes en distintas combinaciones, llegando a la conclusión de que los genes de resistencia actúan verticalmente cuando están aislados y horizontalmente cuando se encuentran agrupados.

Las resistencias y las patogenicidades pueden clasificarse de acuerdo con su nivel de especificidad únicamente cuando las poblaciones del huésped y del parásito ofrecen variabilidad para la resistencia o patogenicidad, respectivamente. El nivel de resistencia o de patogenicidad se valorará de acuerdo con la incidencia de la enfermedad (% de plantas afectadas), su severidad (proporción del área de tejido afectado por el parásito) u otros criterios de valoración. Cuando un número de genotipos del huésped (variedades) son ensayados o valorados frente a un número de genotipos del parásito (aislamientos), la variabilidad genética de los parámetros empleados en la valoración de la enfermedad puede ser discontinua o continua. La variabilidad discontinua en la resistencia va asociada a variación en la patogenicidad, permitiendo la clasificación de los cultivares en base a la resistencia que presentan al aislamiento del patógeno que se emplee, detectándose una interacción significativa entre cultivares y aislamientos. Por el contrario, una variación

continua de la resistencia hace que el ranking de los distintos cultivares sea en principio el mismo para los distintos aislamientos, de forma que la resistencia del huésped varía con independencia de la patogenicidad del parásito.

Según Van Der Plank la acción de la resistencia vertical es reducir la efectividad de la concentración de inóculo inicial a partir de la cual comienza la epidemia y por ende retrasar el comienzo de la misma, pero que una vez se manifiesta no se paraliza. Por el contrario, la resistencia horizontal actúa disminuyendo los efectos de la epidemia tras haber comenzado la misma. Según Nelson (1975), los términos de resistencia vertical y horizontal no son los más adecuados, pues ninguno de ellos describe siquiera sucintamente el tipo de respuesta del huésped inducida por un parásito o la efectividad relativa de la resistencia a diferentes razas del mismo.

Por otra parte, los términos resistencia específica e inespecífica pueden que no sean universalmente aceptados pero delimitan las respuestas del huésped. La resistencia específica es absolutamente efectiva frente a una o más razas de un patógeno y totalmente ineficaz frente a otras razas. La expresión de este tipo de resistencia es en la forma de hipersensibilidad a la raza o razas frente a las que dicha resistencia es eficaz, evitando que se produzca la infección. Genéticamente, este tipo de resistencia se comporta como un carácter monogénico dominante y por consiguiente fácilmente manejable desde este punto de vista. La incapacidad de las razas de un patógeno para superar la resistencia específica es generalmente un carácter dominante, mientras que la capacidad para superarla es recesiva. El hecho de que la resistencia específica se verifica únicamente cuando se produce la interacción entre un huésped resistente y un parásito incapacitado para atacarlo, dio lugar a que Flor (1955, 1971) propusiera la teoría de gen a gen, según la cual para cada gen de resistencia específica en el huésped existe un gen específico en el patógeno que condiciona la capacidad de superar esa resistencia o incapacidad de afectar al huésped. Sin embargo, el único criterio para explicar la resistencia específica según Nelson (1978) se basará en la reacción diferencial que se produce frente a distintas razas. Se admite de forma general, que cualquier tipo de resistencia específica puede verse mermado cuando aparecen nuevas razas con nuevas posibilidades de atacar y que surgen por mutación, heterocariosis o recombinación genética. Basta un sencillo cambio en la dotación génica del patógeno para superar el efecto de un gen de resistencia. La resistencia inespecífica, por el contrario, viene determinada normalmente por la acción conjunta de varios genes. Su naturaleza poligénica es posiblemente la razón de su relativa estabilidad por prolongados períodos de tiempo ya que es menos probable que surjan nuevas razas con la estructura genética necesaria para superar dicha resistencia, pues sería preciso

BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* Y *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EN CULTIVARES COMERCIALES DE PIMIENTO

que tuvieran lugar varios cambios en la dotación génica del patógeno para superar una resistencia que es poligénica por naturaleza. La estabilidad de este tipo de resistencia se basa en las probabilidades de que se sucedan una serie de cambios en el patógeno. La pérdida de la resistencia inespecífica normalmente es gradual y raramente completa. Las resistencias valoradas cualitativamente, como es el caso de los efectos específicos de razas del parásito, pueden expresarse mediante proporciones sencillas. No ocurre así cuando la resistencia se valora cuantitativamente, resultando más difícil la interpretación en términos genéticos. Separar o diferenciar claramente efectos de tipo vertical y de tipo horizontal resulta fácil únicamente cuando dos o más genes del huésped y dos o más genes del parásito con efectos mayores repercuten en la interacción entre ambos entes. Con tan sólo un gen en el huésped y en el parásito no pueden hacerse distinciones.

Cuando se trata de genes menores, los efectos diferenciales no pueden distinguirse del error, debido a su pequeña magnitud. Parlevliet y Zadoks (1977) llegaron a la conclusión de que todos los genes de resistencia de la población huésped y de agresividad en la población del parásito constituyen un sistema integrado. Genes mayores y menores de resistencia interactúan siguiendo la teoría de gen a gen con genes mayores y menores de agresividad, de forma que se pueden detectar fácilmente las interacciones huésped-parásito cuando sólo unos pocos genes actúan, correspondiéndose con una situación de resistencia vertical o específica. En el caso de que sean muchos los genes con pequeños efectos los que condicionen conjuntamente el sistema resistencia/ patogeneidad, resulta difícil separar las interacciones diferenciales de los errores experimentales, correspondiéndose con una situación de resistencia horizontal o inespecífica. Varios autores han realizado una revisión completa sobre la herencia de la resistencia de la planta huésped a los agentes patógenos (Hooker y Saxena, 1971; Person y Sindhu, 1971; Simons, 1972; Day, 1974; Eenink, 1976; Nelson, 1978). Un examen detenido de dichas revisiones permite afirmar que la resistencia a enfermedades puede estar controlada por un número indefinido de genes cuyos efectos pueden ser desde muy notables hasta mínimos y que los genes de resistencia pueden interactuar entre sí ya sea de forma aditiva o epistática.

Como se ha comentado, la teoría de gen-a-gen de Flor (1955) explica la especificidad de esta interacción como el reconocimiento de un elicitor codificado por un gen de avirulencia (Avr) del patógeno y un receptor codificado por el gen de resistencia (R) complementario en el hospedador. El reconocimiento resulta en la inducción de una señal de transducción en el hospedador que iniciará una respuesta de defensa contra todas las razas del patógeno y la inhibición del crecimiento del mismo. De acuerdo con el modelo gen-a-gen cuando un rasgo

de resistencia se manifiesta por el efecto de alelos dominantes no es posible observar segregación. La falta de segregación para la susceptibilidad proporciona evidencias de que el fenotipo de resistencia está localizado en un locus (Chenet *al.*, 2001). Por otra parte, cuando dos locis independientes controlan la resistencia de un fenotipo, la población segregante F2 puede contener al menos 1/16 de segregantes susceptibles, representados por la presencia de un doble homocigoto recesivo.

2.2.2. Herencia de la resistencia a *Phytophthora* en pimiento

Es larga la lista de autores que han estudiado la resistencia a *Phytophthora* en pimiento comenzando en los años 60 del pasado siglo, aunque se interrumpieron durante los 80 al extenderse el uso del Bromuro de metilo para la desinfección anual de los suelos (Tello y Lacasa, 1997). Los trabajos se orientaron fundamentalmente al conocimiento de las características de la resistencia: su naturaleza, mecanismos, genes implicados, así como la forma de introducirla en las variedades comerciales. El trabajo fue fructuoso y localizaron diversas fuentes de resistencia a *P. capsici* en germoplasma de pimiento, siendo el más importante en este sentido el Serrano Criollo de Morelos 334 (CM-334 o SCM-334), aunque tanto entonces como ahora, no parece haber concordancia en el modelo de genética de la resistencia, sin llegar todavía, tras más de 50 años, a un consenso firme sobre el tema.

Uno de los primeros trabajos citados en la bibliografía científica consultada fue planteado por Kimble y Grogan (1960) (citado por Bosland y Lindsey, 1999; Bartualet *al.*, 1991; Candole y Conner, 2010). Evaluaron 613 líneas de pimiento y encontraron 3 líneas con altos niveles de resistencia a *P. capsici*. Una de estas líneas, PI 201.234, procedente de América central, fue evaluada, entre otras, por Smith *et al.*, (1967) (citado por Polach y Webster, 1972 y Oelke y Bosland, 2003), denominándola 493 y que posteriormente fue registrada como PM217. Desarrollaron la F1, F2 y F3, así como el retrocruzamiento, de tres líneas resistentes a *Phytophthora* con el cultivar susceptible ‘Yolo Wonder’. Encontraron que la resistencia frente a los aislamientos americanos de *P. capsici* estaba controlada por un gen mayor dominante en algunas líneas y dos genes dominantes en otras, heredados independientemente con efectos aditivos.

En un intento de transferir la resistencia del PM217 a variedades de carne gruesa como ‘Yolo Wonder’, Pochard y Chamboned (1972) emplearon retrocruzamientos, deduciendo, por el contrario, que se trataba de un carácter con dominancia parcial y herencia compleja, apuntando la posibilidad de, al menos, dos o tres genes interviniendo en el control de la resistencia. Gil (1988) afirmaba que se trataba de un carácter gobernado por, al menos, tres

genes con efectos aditivos, pudiéndose considerar como un carácter poligénico. Clerjeauet *al.*, (1976), Pochard y Daubeze (1980) y Bartual y Campos (1984) también encontraron explicación a sus resultados mediante la teoría de una resistencia poligénica.

Saini y Sharma (1978) (citado por Oelke y Bosland, 2003) informan de que el cultivar 'Waxy Globe' lleva un gen dominante de resistencia cuando se evalúa para *Phytophthora* Fruit rot. La herencia de esta resistencia se confirmó con el retrocruzamiento con un parental susceptible, resultando 1:1 (R/S)

Barksdaleet *al.*, (1984) estudiando la resistencia a Root rot y Foliar blight en pimiento emplearon como parentales resistentes las líneas Fyuco y P51, cruzándolas con el cv susceptible 'California Wonder'. Obtuvieron la F1 y F2, así como el retrocruzamiento para cada uno de los tres cruces. La descendencia que resultaba resistente se autofecundaba para obtener la F3. Estudiando la descendencia F1 y F2 y los retrocruces correspondientes, parecía que la resistencia la regía un único gen dominante, cumpliendo los ratios resistente/susceptible, sin embargo una pequeña cantidad de individuos susceptibles aparecían en la F1 y los retrocruces con el parental resistente. Además, la F3 tampoco coincidía con esta hipótesis, postulando que podrían existir genes modificadores, o una dormancia irregular bajo ciertas condiciones ambientales. También sugirieron como explicación a sus resultados una penetrancia incompleta de los genes implicados en la resistencia, dado que incluso en la F1 del cruce de los dos parentales resistentes aparecían plantas con síntomas.

Ortegaet *al.*, (1991) señalan que la presencia de genes con efectos mayores son necesarios para aumentar la expresión de la resistencia y que estos actúan de forma complementaria, ya que la mayoría de las líneas transgresivas, obtenidas tras un primer ciclo de selección, procedían del cruce entre parentales parcialmente resistentes. Sin embargo, descendencias de híbridos obtenidos a partir de líneas susceptibles mostraron igualmente segregación transgresiva, indicando que genes de resistencia con efectos menores están presentes en líneas aparentemente sensibles (Palloixet *al.*, 1990), demostrando con ello que la herencia de este carácter es compleja.

Bosland y Lindsey (1991) probando una nueva técnica de evaluación de la resistencia a Root rot en plántulas de 14 días, encuentran individuos susceptibles en la F1 al cruzar un parental resistente (CM-334) con uno susceptible, exponiendo como explicación a sus resultados el hecho de que el parental fuera heterocigoto en su resistencia, lo que explicaría los resultados obtenidos en su F1, sin demostrar que este hecho no fuera debido a la edad de las plantas, ya que consideraban que la resistencia era dominante.

Bartualet *al.*, (1991 y 1993) y Reifschneideret *al.*, (1992) indican en estudios posteriores la existencia de efectos epistáticos. Bartualet *al.*, (1991) evalúan resistencia a Stem blight con 15 aislados frente a 10 líneas de pimiento detectando interacción diferencial entre líneas y cepas, así como distintos niveles de resistencia dentro de las líneas. Señalaron que la causa de la interacción diferencial era la diferente agresividad que caracterizaba cada una de ellas. Ninguna de las líneas fue totalmente resistente, coincidiendo con la observación hecha por Pochard y Chambonnet (1972), que no había sido capaz de encontrar ningún caso en el que se diera resistencia total, sino solamente algunas formas de tolerancia en plantas en estado adulto cultivadas al aire libre. Con ello se da a entender que existe una componente horizontal poligénica, circunstancia que ya apuntaron autores como Pochard y Daubeze (1980) en sus estudios sobre la resistencia de la línea PM217, así como Bartual y Campos (1984).

Para profundizar en los aspectos de la herencia, hibridaron variedades locales sensibles con las parcialmente resistentes identificadas en los anteriores ensayos y se inocularon para Stem blight y Root rot. Los híbridos resultaron menos resistentes que los parentales con resistencia y más que los parentales sensibles. Produciéndose una ganancia o pérdida de resistencia al compararlo con cada parental. Esto indica que la herencia de la resistencia es compleja, existiendo dominancia parcial y dando la opción de pensar que pudiera tratarse de un carácter sobre el que actúan acciones génicas de tipo complementario. Además, señalaron que la dotación genética del parental susceptible influye en el nivel de resistencia del híbrido, influyendo genes mayores y menores y pudiendo pensar que se trata de combinación de resistencia vertical y horizontal o resistencia poligénica.

Cuando repitieron el ensayo comparando híbridos simples y de tres vías, la resistencia fue mayor en la serie de híbridos de tres vías, considerados globalmente, que en la de híbridos simples y en estos últimos fue asimismo mayor que en las líneas seleccionadas. Por tanto para los autores, la epistasia tipo aditivo x aditivo no puede ignorarse a la hora de tener en cuenta que factores genéticos influyen sobre la herencia de la resistencia a *P. capsici*.

Reifschneideret *al.*, (1992) usando la línea resistente CNPH148, derivada de Criollo de Morelos, y dos variedades susceptibles, confirmó la presencia de un sistema de dos genes con epistasia dominante y recesiva. Siendo posible que se expresara la resistencia en genotipos con genes dominantes y recesivos en homocigosis en ambos loci.

Bartualet *al.*, (1993) cruzaron 7 líneas de pimiento con resistencia parcial entre sí, obteniendo los 21 híbridos simples posibles, además de híbridos dobles y de tres vías. Uno de parentales era CM-334. Corroboraron que los efectos epistáticos diferentes a los aditivo-por-aditivo contribuyen a la variabilidad de la resistencia a *P. capsici* y deben tenerse en cuenta.

Para explicar esta variedad de resultados, varios autores sugirieron que la resistencia podría ser superada por largos periodos de incubación o elevadas dosis de inóculo (Smith *et al.*, 1967; Barksdale *et al.*, 1984). Y que su expresión puede estar influenciada por muchos factores como la temperatura, estrés hídrico, cepa del hongo presente, método de inoculación o edad de la planta (Reifschneider *et al.*, 1992).

En este sentido, Kim *et al.*, (1989) inoculando cultivares en diferentes estados fenológicos, encontraron que los cultivares se comportaban como susceptibles en el estado fenológico de dos hojas verdaderas mostraban un mayor nivel de resistencia al pasar de la primera ramificación, apuntando que los factores genéticos que gobiernan la resistencia o susceptibilidad estaban en función de la edad de la planta. De este modo señalaron que para el estudio de la resistencia era de vital importancia el método de inoculación empleado, la cantidad de inóculo utilizada, así como el estado fenológico de la planta a la hora de proceder a la inoculación.

También, Gisbert *et al.*, (2008) evaluaron la resistencia a *Phytophthora* en tres estados de desarrollo: plántulas de 5 semanas, 10-12 hojas verdaderas y plantas de 21 hojas verdaderas. Las plantas que se mostraron resistentes al inocularlas a las 5 semanas se comportaron de manera similar que las plantas semi-adultas y las adultas, las que mostraron síntomas a las 5 semanas también lo hicieron en los siguientes estados. Aquellas que fueron tolerantes a las 5 semanas no fueron capaces de completar el ciclo de cultivo.

Las citadas discrepancias en los resultados se obtienen incluso cuando se ensayo el mismo parental como Serrano Criollo de Morelos 334 (CM-334), que tras muchas evaluaciones se ha posicionado como resistente universal a *P. capsici*, empleándose como principal fuente de resistencia para los programas de mejora durante muchos años. Ortega *et al.*, (1991) propone que CM-334 dispone de tres genes con múltiples alelos que determinan la resistencia. Estos resultados contradecían lo obtenido por Guerrero-Moreno y Laborde (1980) que señalaban que dos genes recesivos no unidos proporcionaban la resistencia a esta línea. Reifschneider *et al.*, (1992) atendiendo a sus resultados consideraban que CM-334 es probablemente una población heterogénea.

Los diferentes resultados también pudieran ser debidos a las variadas metodologías empleadas, o al empleo de diferentes genitores susceptibles con diversas características genéticas (“backgrounds”) como ya señalaron Smith *et al.*, (1967) y Bartua *et al.*, (1991). Este hecho parece ser corroborado por Walker y Bosland (1999) al obtener modelos genéticos diferentes cruzando CM-334 con ‘Early Jalapeño’ y con ‘Keyston’ como parentales susceptibles. En el cruce con ‘Early Jalapeño’ encontraban un ratio 3:1 (R/S), resultados que

se explicaban con un modelo de 1 gen dominante rigiendo la resistencia y con 'Keystone' sin embargo dos genes dominantes. Al inocular ambos síndromes simultáneamente con uno de los parentales susceptibles obtenían una segregación 9:3:3:1, lo que indicaba que la herencia de los genes era independiente, uno para Root rot y otro para Foliar blight. Sin embargo con el otro cv la segregación fue 7:2:2:5 lo que indicaba un modelo de 3 genes dominantes.

En el 2008 Gisbert *et al.*, evaluaron la resistencia de tres híbridos obtenidos del cruce del SCM334 como parental masculino y tres parentales femeninos uno para cada híbrido, obteniendo que la carga genética de los parentales femeninos parecía influir en la resistencia a *Phytophthora* de los híbridos.

2.2.3. Resistencia asociada al síndrome

Otro aspecto que no se había tenido en cuenta hasta que llegó la propuesta de Walker y Bosland (1999) fue la resistencia asociada a los diferentes síndromes de *Phytophthora*. Dichos autores, estudiaron de forma independiente la resistencia a Root rot y Foliar blight, para determinar si eran los mismos genes los que conferían la resistencia a ambos síndromes. Empleando esquejes para valorar plantas genéticamente similares, en la F1 todos los individuos fueron resistentes de forma independiente para Root rot y Foliar blight, en el cruce de los dos cv susceptibles con CM-334. Para determinar el número de genes implicados estudiaron la F2, determinando que el mismo número de genes regían ambas resistencias. Al inocular ambos síndromes simultáneamente con uno de los parentales susceptibles obtenían una segregación 9:3:3:1, lo que indicaba que la herencia de los genes era independiente, uno para Root rot y otro para Foliar blight, demostrando que diferentes genes controlaban la resistencia a los diferentes síndromes. Estos resultados ya los habían observado otros autores cuando inoculaban para Foliar Blight y Root rot en la búsqueda de resistencias, siendo las plantas resistentes o susceptibles, a un síndrome, al otro o a ambos (Barksdale *et al.*, 1984), aunque entonces no dieron la suficiente importancia a este aspecto, al no considerar los dos síndromes por separado determinando que eran múltiples genes los encargados de regir la resistencia.

Un trabajo parecido realizaron Syet *et al.*, (2005), esta vez para Root rot, Foliar blight y Stem blight, siendo la primera prueba del modelos de herencia de este último síndrome. Encontraron empleando como cv susceptible 'Early Jalapeño' y como resistente CM-334, que cada uno requería de un gen independiente para la expresión de la resistencia. Sería lógico pensar que dependiendo del órgano que afecte un patógeno este tenga un modo de acción diferencial, es este sentido, Irwin, (1997) informó que las especies de *Phytophthora* que

atacan foliarmente tiene pronunciados apresorios en el micelio y las que atacan a las raíces carecen de ellos (conspicuos), así que diferente modo de acción, diferente respuesta del hospedador. Esto apoyaría la evidencia de que diferentes genes controlan cada síndrome.

2.2.4. Resistencia asociada a las razas fisiológicas

Otro giro de tuerca en el conocimiento de la resistencia en pimiento frente a *P. capsici* fue el hecho de aceptar que diferentes genes controlan la resistencia a las diferentes razas fisiológicas.

Stakman y Piemeisal (1917) (citado por Oelke y Bosland, 2003) introdujo el término raza fisiológica, que a menudo se abrevia como raza, para referirse a un aislado que causa una respuesta diferencial de resistencia en varios genotipos de hospedadores. Algunas especies de *Phytophthora*, por ejemplo *P. infestans* en patata (*Solanum tuberosum* L.) y *P. sojae* en Soja (*Glycine max* L. Merr.), las razas han sido documentadas. La existencia de razas fisiológicas en *P. capsici* fue propuesta por primera vez por Polach y Webster (1972) y más tarde por Reifschneider *et al.*, (1986), y desde entonces numerosos estudios se han llevado a cabo para determinar, por ejemplo, si estas razas fisiológicas difieren conforme lo hace el origen de los aislados.

En este sentido, Bartualet *et al.*, (1991) evaluaron diferentes aislados frente a diferentes líneas de pimiento detectando interacción diferencial entre líneas y cepas, así como distintos niveles de resistencia dentro de las líneas, señalando también la diferente agresividad que caracterizaba cada una de ellas, aspecto que ya contemplaban, por ejemplo, Polach y Webster (1972). Esto refuerza la posibilidad contemplada por Clerjeauet *et al.*, (1976) quienes sostenían que la resistencia a *P. capsici* en pimiento se trataba de una combinación de resistencias de tipo horizontal (ya que en sus ensayos ninguna línea fue totalmente resistente) y vertical (por la interacción diferencial entre cepas y líneas).

Gil Ortega *et al.*, (1995) encontró dos patotipos verticales en España; siguiendo su criterio Andréset *et al.*, (2005) evaluaron 10 aislados encontrando que todos eran del patotipo 0, la misma “raza fisiológica”. Los diferentes aislados presentaron diferente grado de patogeneicidad en el cv susceptible y el germoplasma local, pero fueron resistentes CM-334 y PI 2012234, lo que coincide con una resistencia vertical, una respuesta de enfermedad o ausencia de la misma. Pero encontraron interacción entre cultivar y aislado en la respuesta del germoplasma local, lo que apoyaba la idea de una respuesta poligénica. Estos trabajos realizados en España difieren de lo descrito posteriormente por otros autores.

El primer trabajo planteado para identificar como razas distintas a los aislados de *P. capsici* que presentaban diferente respuesta en un conjunto de hospedadores diferenciales fue realizado por Oelkeet *al.*, (2003), para los que el conocimiento de este aspecto de la interacción patógeno-hospedador podría ayudar en la obtención de cultivares resistentes, por ejemplo a las cepas presentes en una zona productora. Encontraron interacción significativa entre aislado y accesión en la evaluación con hospedadores diferenciales, identificando 9 razas fisiológicas distintas para Root rot y 4 para Foliar blight, de un total de 10 aislados evaluados en 18 accesiones distintas. El ensayo incluía el CM-334, que como era de esperar no se vio afectado por ninguna raza, sin embargo, varios autores han observado como en el cruce con otras variedades se encuentran descendientes sensibles. Para los autores es plausible que el CM-334 posea algunos atributos fisiológicos únicos que le den ese amplio rango de resistencia, siendo interesante el trabajo con RIL's descendientes de CM-334 para dilucidar su composición genética.

Glosieret *al.*, (2008), siguiendo el mismo procedimiento pero evaluando únicamente Root rot encontraron 14 razas fisiológicas en 34 aislados, inoculándolas sobre 11 genotipos de pimiento, sin encontrar ninguna relación entre razas y el origen de los aislados.

Syet *al.*, (2008) emplearon 26 NMRILs, (New Mexican Recombinant Inbred Lines), como hospedadores diferenciales, CM-334 como parental resistente y 'Early Jalapeño' como sensible. Un conjunto de hospedadores diferenciales está compuesto por líneas o cultivares del hospedador con uno o varios genes de resistencia al patógeno que combinan la máxima variabilidad genética dentro de una población, con genotipos homocigotos que pueden replicarse permanentemente sin riesgo de segregación. Para la obtención de los RIL's obtuvieron 7 generaciones a partir del cruce de los parentales por autofecundación de una sola semilla seleccionada cada generación. Determinaron 13 razas en 17 aislados evaluados para Root rot, destacando la importancia de establecer un determinado grupo de hospedadores diferenciales que tomados como referencia ayudarían a estudiar la compleja herencia de esta resistencia.

Para eliminar la mayor variabilidad posible en sus ensayos Monroy-Barbosa y Bosland (2008) intentaron determinar empleando NMRIL's como hospedadores diferenciales, si los fenotipos resistentes estaban controlados por múltiples alelos en pocos locis o múltiples genes en diferentes loci, en el caso de *Phytophthora* Root rot. Partieron de los NMRIL's empleados por Syet *al.*, (2008) y prosiguieron hasta la F11 Inocularon un total de 5 razas de manera individual, y combinadas dos a dos, condición experimental que no se había realizado hasta entonces tal y como recomendaba Parlevliet (1983), con el objeto de diferenciar las

resistencias de tipo horizontal y vertical, ya que la mezcla de aislamientos dificultaría e incluso imposibilitaría tal diferenciación. Cuando inoculaban una sola raza la respuesta en la F2 cumplía el ratio 3:1 (Resistente: Susceptible) (R/S), determinando que el fenotipo resistente estaba determinado por un único gen dominante para cada raza de *P. capsici*, al igual que le sucediera a otros autores.

Sin embargo, cuando la F2 de algunos cruzamientos era inoculada por algún conjunto concreto de dos razas del patógeno, aparecía, por ejemplo, la segregación 15:1 (R/S), indicando la presencia de dos genes dominantes independientes no alélicos, es decir estaban situados en diferentes loci, cada uno proporcionando resistencia a una raza de forma independiente. En cambio para la combinación de otras razas distintas este ratio era rechazado, sugiriendo que los dos locis están ligados para los genes de resistencia a esas razas concretas. Este ligamiento se traduce en la herencia en bloque de varios genes, al estar situados en la misma región del cromosoma. Como resultado a la inoculación de 5 razas en los hospedadores diferenciales, al menos 5 genes de resistencia a *Phytophthora* root rot están presentes en el genoma de *C. annuum*.

Más recientemente, Monroy-Barbosa y Bosland (2011) siguiendo el mismo procedimiento con NMRIL's determinaron 9 razas fisiológicas más en la evaluación de Foliar Blight y confirmaron de nuevo que razas fisiológicas que afectaban a las hojas no lo hacían, por ejemplo, a la raíz, comparando los trabajos de 2008 y 2011)

Como fruto de los trabajos anteriormente expuestos, la idea que debe trasladarse a los mejoradores de plantas frente a patógenos del suelo es que sería conveniente evaluar la resistencia frente a las razas presentes en cada zona de producción determinada, aspecto más factible que encontrar resistencia a todas las razas fisiológicas conocidas.

Prácticamente todos los trabajos en este campo se han centrado en el estudio de *P. capsici*, siendo menos los que lo han evaluado para *P. parasitica*. No se ha estudiado, por ejemplo, la existencia de patotipos o razas fisiológicas afectando al pimiento, pero sí dos al tabaco (Van Jaarsveld *et al.*, 2002) y se ha sugerido en tomate (Boukema, 1983)

Andréset *al.*, (2006) evaluaron la presencia de patotipos de *P. parasitica* afectando al pimiento. Encontraron que *P. parasitica* no era menos patógena en pimiento que *P. capsici*, al comparar sus resultados con los obtenidos por Andréset *al.*, (2004) y al igual que sucedía con *P. capsici*, CM-334 y PI201234 se comportaban como resistentes. También sucedía el caso que líneas susceptibles a *P. capsici* presentaban altos niveles de resistencia a *P. parasitica*. La especificidad parasitaria de algunos aislados de *P. parasitica* fue patente, ya que no afectaron al tomate cv 'San Pedro' empleado como testigo.

En este sentido, según los trabajos de Bonnetet *al.*, (2007) las resistencias a *P. capsici* serían gobernadas por los mismos genes mayores que para *P. parasitica*, difiriendo en el número de genes menores implicados. La caracterización de la base genética de la resistencia a *P. capsici* y *P. parasitica*, en germoplasma de pimiento, podría contribuir a facilitar el diseño de estrategias de mejoramiento genético más efectivas para la incorporación de la resistencia genética tanto en materiales comerciales susceptibles como en material que pueda ser usado como porta-injerto, de forma que puedan ser usados en campo como método de control de estos patógenos. El objetivo es identificar fuentes de resistencia al patógeno y caracterizar la base genética de su herencia, con el propósito de diseñar estrategias de mejoramiento genético más adecuadas para incorporar dicha resistencia a cultivares comerciales susceptibles de pimiento.

3.-MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.-Diseño experimental.

El experimento se llevará a cabo bajo un diseño experimental en el que se evaluará la patogenicidad de 2 especies de *Phytophthora* (*P. capsici* y *P. parasitica*) sobre 15 cultivares de pimiento, incluidos un control resistente, una accesión de “Serrano Criollo de Morelos” y un control susceptible cv “Sonar”. Para cada uno de los cultivares evaluados, se dispondrá de 4 repeticiones, y en cada una de las repeticiones se evaluarán al menos 5 plántulas de cada uno de los cultivares evaluados.

3.2. Origen de los aislados

Los aislados de *P. capsici* y *P. parasitica* utilizados para la evaluación de la resistencia en este trabajo se muestran en el Cuadro 1. Ambos aislados procedían de plantas de pimiento con síntomas de *Phytophthora* y cuya patogenicidad en pimiento fue evaluada frente a los síndromes *Phytophthora* Root Rot y Stem blight por Pérez Vargas (2011). El aislado de *P. capsici* fue reaislado de una planta de pimiento de la provincia de Almería, mientras que *P. parasitica* procedía de una planta de pimiento de la provincia de Murcia. Ambos aislados pertenecen a la micoteca del equipo de Patología Vegetal del Grupo de Investigación AGR-200, Departamento Agronomía, Universidad de Almería.

Cuadro 1: Origen de los aislados utilizados en la evaluación de resistencia.

Especie	Código	Hospedador de origen	Localización
<i>P. capsici</i>	Phy78	Pimiento	Almería
<i>P. parasitica</i>	K06	Pimiento	Murcia

3.3. Medios de cultivo; Preparación del inóculo.

Para el crecimiento de las cepas necesarias en los ensayos se empleó Agar-Guisante.

La preparación del inóculo, se realizó cultivando cada cepa en placas de petri de 9 cm de diámetro en un medio de cultivo de Agar-guisante, tal como explica Tello (1991), se procedió a un preparado de 200 ml de guisante triturado, el cual pasó un proceso de calentado y filtrado. A estos 200 ml, se añadieron 10 ml de Agar y 300 ml de agua. Finalmente, la mezcla se introdujo en un autoclave durante 30 minutos a 121 °C y una atmosfera de presión. Una vez plaqueado, se repicó el hongo a las placas con el medio de agar, dejando crecer el cultivo durante el tiempo necesario para que toda la base de la placa quedara cubierta por el hongo (entre 5 y 10 días).Trascurrida dicha semana, se secciona el medio con el hongo, con el fin de aumentar la cantidad del mismo, distribuyéndose en distintas placas de petri estériles.

Antes del proceso, los instrumentos (lanceta, bisturí, sacabocados y batidora) fueron flameados con alcohol etílico (96°) y los contenedores del inóculo desinfectados y lavados previamente con lejía durante 24 horas y enjuagados, con el objetivo de evitar la toxicidad del cloro.

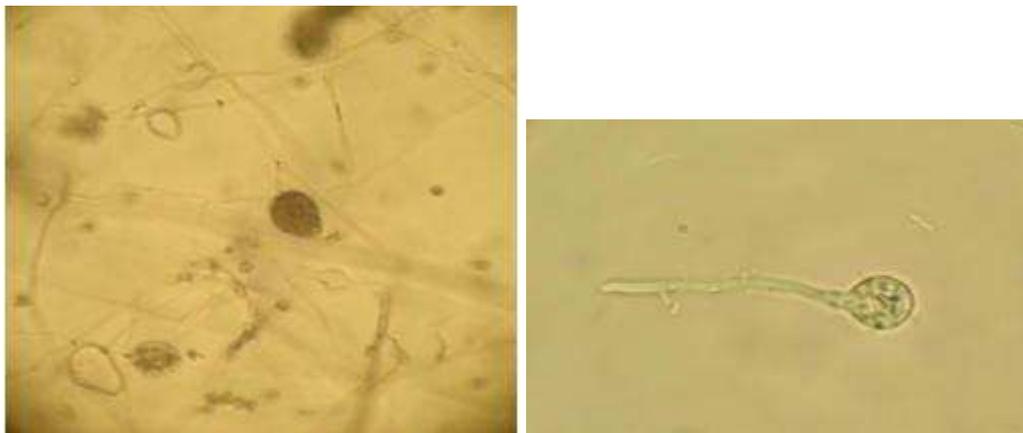
Se trocearon en tiras placas de Agar-guisante donde crecían los hongos, entresacando dichas tiras y pasándolas a otra placa para maximizar la superficie sobre la que se producirán esporangios. En cada placa se introdujo una solución de nitrato potásico (KNO₃) al 1%, hasta cubrir el medio, disponiendo el preparado bajo luz fluorescente continua durante una semana. Transcurrido este tiempo, se habrán formado gran cantidad de esporangios encontrándose en las condiciones óptimas para la liberación de zoosporas mediante aplicación de choque térmico. Antes de ello, se retira el nitrato potásico y se introduce agua destilada estéril, introduciendo el medio en frigorífico a 4°C durante una hora. Seguidamente se retiran las placas del mismo y sometiénolas a la temperatura ambiente en laboratorio durante el mismo tiempo. Finalmente, tras observar al microscopio la liberación de las zoosporas de los esporangios, se filtra la solución a través de papel Whatman número 1. Para la inoculación, se usaron únicamente zoosporas sin flagelo, éstas se obtuvieron agitando la solución en un

vibrador Heidolph Reaxtop durante un minuto. La eliminación del flagelo provoca un favorecimiento de la germinación. Finalmente se procede a la determinación de la concentración de zoosporas mediante conteo de una muestra en hematocímetro. La cantidad de propágulos contabilizada en hematocímetro osciló entre 10^3 y 10^4 UFC ml^{-1} .

Una vez calculado la concentración de zoosporas por mililitro, se aplicaron 25 ml de la solución de inóculo a cada uno de los recipientes o macetas.



Foto A: Cultivo del inóculo en placas de petri. **Foto B:** Proceso de filtrado.



Fotos C y D: Observación al microscopio de la liberación de las zoosporas de los esporangios y germinación de un esporangio pasadas tres horas desde la eliminación del flagelo.

3.4.-Material vegetal.

Para la realización del experimento, se evaluaron 13 cultivares comerciales, de los que se desconoce su resistencia a *P. capsici* y a *P. parasitica*. Además se consideraron dos testigo como base de comparación, siendo estos el cultivar “Sonar”, sin resistencia a *Phytophthora*

capsici y el cultivar “Serrano Criollo de Morelos” (SCM-334) que tras otros ensayos, se ha posicionado como resistente a *P. capsici* y a *P. parasitica*.(Tello y Lacasa, 1997). El resto de cultivares evaluados fueron: Imperio, Kurenai, Bungu, Celaya, Tamarín, Dicaprio, Jalisco, Mango, Tinsena, Tabor, Mirador, Natanja y Deniro, todos ellos pertenecientes a la empresa multinacional “Enza Zaden”. (Cuadro 2)

Cuadro 2: Descripción del material vegetal empleado en el experimento. Información proporcionada por la empresa “Enza Zaden” poseedora de sus derechos:

Cultivar	Tipo	Planta	Fruto	Trasplante recomendado	Resistencias	Resistencias
					Altas (HR)	Intermedias (IR)
MIRADOR	Lamuyo rojo	Planta compacta. Buen Rebrote. Muy productiva.	Gran tamaño y homogeneidad en todo el ciclo. Color rojo intenso	Campo de Cartagena	PeMV: 0-3	TSWV: P0
IMPERIO 	California rojo	Muy vigorosa y productiva. Calidad y Producción en Tardío.	Calibre G-GG con muy buena firmeza. Tolerante al rajado del fruto. Máximos kilos de Enero a Marzo.	Julio	PeMV: 0-3	TSWV: P0
DENIRO	California amarillo	Vigor medio y muy abierta. Excelente producción durante el Invierno. Color Ideal y Gran Firmeza.	Frutos de calibre G-GG. Gran dureza y color "limón" Tolerante al rajado del fruto. Calidad muy homogénea.	desde el 20 de Julio.	PeMV: 0-3/PVY:0	TSWV: P0
TAMARÍN	California rojo	Muy precoz. Planta compacta. Potente sistema radicular. Muy productiva a lo largo de todo su ciclo. Resistencia, Producción y Precocidad.	Calibre G-GG. Intenso color rojo. Perfecta formación del fruto y homogeneidad.	Recomendado para Primavera en la zona del Campo de Cartagena	PeMV: 0-3	TSWV: P0
DICAPRIO	California amarillo	Muy vigorosa. Excelente producción. Máxima Producción en Invierno.	Frutos de calibre G-GG. Frutos de gran firmeza y color "limón" Tolerante al rajado del fruto. Máxima producción de Enero-Marzo.	Recomendado desde el 25 de Julio, según zonas	PeMV: 0-3	TSWV: P0
MAGNO 	California naranja	Planta vigorosa y muy productiva. Ideal para Exportar en Invierno	Fácil cuajado y precocidad en la recolección. Color naranja intenso.	Desde el 20 de Julio, según zonas.	PeMV: 0-3	

			Calibre G-GG. Calidad homogénea de los frutos.			
TINSENA	Lamuyo rojo.	Vigor medio y muy productiva. El Lamuyo para Temprano.	Gran cabeza y buena longitud. Pared gruesa y excelente firmeza.	Recomendado desde Julio.	PeMV: 0-3	TSWV: P0
TABOR	California naranja	Vigor medio-alto, planta abierta. Cuaje bien distribuido con buen remate al final del ciclo productivo. Máxima Producción y Firmeza en Invierno.	Intenso color naranja. Buen grosor de pared. Muy firme. Tamaño G-GG.	Recomendado para mediados de Julio a primera semana de Agosto, según zonas.	PeMV: 0-3	TSWV: P0
BUNGI	California rojo	Planta abierta y compacta de entrenudos cortos. Producción temprana y buen cuaje con calor, aunque de color claro en estas condiciones.	Muy firme. Tamaño G-GG.	Recomendado para cultivo de invierno en el valle de Jordania y en la región de Bessor.	PeMV: 0-3	TSWV: P0
CELAYA	California amarillo.	Vigor medio-alto, planta abierta y compacta. Cuaje fácil y bien distribuido.	Color amarillo pálido. Muy firme. Tamaño G.	Recomendado para plantaciones de Julio, según zonas.	PeMV: 0-3	TSWV: P0/ RKNs
JALISCO	California naranja	Planta compacta y muy productiva. Mantiene tamaño uniforme durante todo el ciclo.	Intenso color naranja. Buen grosor de pared. Muy firme. Tamaño G.	Recomendado para plantaciones de Julio, según zonas.	PeMV: 0-3	TSWV:P0
NATANJA	California naranja	Vigor medio-alto, planta abierta y compacta. Planta para condiciones de invernadero con calefacción. Cuaje bien distribuido.	Intenso color naranja. Mantiene la calidad y el tamaño durante todo el ciclo. Fruto de 4 lóculos durante todo el ciclo. Tamaño 90-100 mm.	Recomendado para mediados de Julio a primera semana de Agosto, según zonas.	PeMV: 0-3	-----
KURENAI	Cónico/ Midi-Cónico rojo.	Planta compacta y generativa. Vigor medio-alto. Cabezas débiles en condiciones de frío. Cuaje fácil, temprano y rápido. Máxima Producción y Firmeza en Invierno.	Color rojo intenso y bonito. Tamaño: Cabeza 4.5 cm. x Longitud: 8.5 cm.	Recomendado para plantaciones tempranas, según zonas.	PeMV: 0-3	TSWV:P0



Variedad disponible en ecológico; **(HR)**: Variedad con Resistencia Alta; **(IR)**: Variedad con Resistencia Intermedia; **(mm)**: Milímetros; **(cm)**: Centímetros; **(G)**: Calibre G (70-90 mm); **(GG)**: Calibre GG (90-110); **(PeMV: 0-3)**: Variedad resistente a *Pepper mottle virus*, Razas 0, 1, 2 y 3; **(TSWV:P0)**: Variedad resistente a *Tomato spotted wilt virus* patotipo 0; **(PVY:0)**: Variedad resistente a *Potato Y virus* patotipo 0;

(RKNS): Variedad resistente a Root-Knot nematodos (*Meloidogine arenaria/Meloidogine incognita/Meloidogine javanica*).

Las semillas fueron desinfectadas con un baño de lejía (40g de Cl activo L⁻¹) mediante agitación magnética a 350 rpm durante 15 minutos, después se lavaron bajo el grifo hasta eliminar el olor a lejía, eliminando de esta forma los restos de cloro, el cual puede afectar a la germinación. Seguidamente, las semillas se sembraron en macetas de 1L con vermiculita, previamente desinfectada mediante un proceso de auto clavado (60 minutos a 120°C). Se sembraron 5 macetas por variedad/accesión y aislado de *Phytophthora* evaluado por riego al sustrato con 5-7 plantas por maceta. En el caso de inoculación foliar y de tallo se emplearon 4 macetas por variedad/accesión y aislado de *Phytophthora* evaluado, con 5-7 plantas por maceta.

Entre cada proceso de siembra, las pinzas eran flameadas con alcohol etílico (96°) con el objetivo de evitar contaminaciones. A continuación pasaron a una cámara de ambiente controlado (25-27 °C, 70% HR, 12.000 lux y un fotoperiodo de 14 horas del luz), donde permanecieron hasta el momento de la inoculación. Los riegos fueron manuales mediante una jarra en el momento que la maceta dejaba de pesar, con la condición de evitar el drenaje para evitar contaminaciones y lavado de inoculo. Esto venía sucediendo 2 ó 3 veces por semana. Hasta la formación de la primera hoja verdadera las plantas solo se regaron con agua. A partir de este momento aproximadamente cada 15 días las plantas se regaron con una solución de riego, agua más abono complejo SUMISOLUB (NPK cristalino) 19-19-19 en una disolución de 25g de abono en 25L de agua.



Foto E: Detalle de ensayo en cámara de cultivo.

3.5. Técnica de inoculación

Mediante riego al sustrato se añadió 50ml de la suspensión de propágulos a cada maceta con entre 5 y 7 plantas; los testigos se inocularon con 50 ml de suspensión de agua donde se trituró una placa de PDA sin patógeno. La inoculación se realizó cuando las plantas presentaban 2-4 hojas verdaderas bien desarrolladas, mediante riego al sustrato con el batido anteriormente mencionado. El mantenimiento de las plantas se realizó en cámara durante 30 días desde la inoculación hasta el final del ensayo. Durante ese tiempo se anotaron diariamente el número de plantas muertas y al finalizar el ensayo el ISE (Índice de Severidad de la Enfermedad).



Foto F: Proceso de inoculación.

De dichas observaciones, se obtuvieron resultados que fueron ordenados en una escala del 0 al 4. Dicha puntuación cubría toda la sintomatología observada. La reacción a la infección de *Phytophthora* de cada una de los cultivares, se estimó mediante el Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE) (Parker *et al.*, 1993). Para calcular este índice, se clasificaron las plantas de cada genotipo según el grado de severidad de enfermedad. Los valores de los diferentes grados de severidad de enfermedad son 0, 1, 2, 3 y 4. El grado 0 corresponde a una planta asintomática (Planta sana); el grado 1 a una planta que presenta un leve color miel en las raíces e hipocotilo (Podredumbre de las raíces secundarias); el grado 2 se asigna a una planta con presencia de necrosis de raíces y en la parte baja del hipocotilo, una ligera clorosis de los cotiledones y moderada retención de crecimiento del tallo (Podredumbre en la raíz principal); el grado 3 a una planta con una necrosis generalizada de las raíces, de hipocotilo y de los cotiledones, y severa reducción del crecimiento de los tallos (Podredumbre de la raíz principal y el cuello de la planta); y por último el grado 4 corresponde a una planta completamente necrosada y prácticamente sin sistema radicular (Planta muerta). Se usó la

siguiente ecuación para el cálculo del ISE, que puede tomar valores de 0 a 100, siendo este último valor el de genotipos severamente afectados.

Para el cálculo del ISE se empleó la siguiente fórmula:

$$ISE = \frac{\sum (Clase\ de\ la\ escala \times N^{\circ}\ de\ plantas)}{N^{\circ}\ total\ de\ plantas \times 4} \times 100$$

3.6. Reaislamiento de *Phytophthora*

Para asegurarnos de que los síntomas que expresaban las plantas eran resultado de la infección del patógeno, es decir que tanto las plántulas con ausencia de síntomas así como con presencia de estos, han sido lo suficientemente inoculadas, se reaislará de las macetas inoculadas el Oomiceto con la técnica de trampas vegetales, utilizando como tales pétalos inmaduros de clavel (Telloet *al.*, 1991), en el cual se coloca con cucharilla esterilizada una pequeña cantidad de muestra en placas petri, agua y pétalos de clavel inmaduros. Las muestras se dejaron incubar a temperatura ambiente entre 3, 4 y 5 días haciendo posteriormente su lectura bajo microscopio (Olympus CH2) contabilizando en número de pétalos por placa en cuyos bordes había presencia de *Phytophthora*. En general, a simple vista también se pudiera ver su presencia cuando los pétalos muestran un aspecto aceitoso aunque no siempre es debido a la presencia de *Phytophthora*. En ocasiones, se puede observar a simple vista el micelio aéreo rodeando o recubriendo gran parte de los pétalos (Fotos A y B).



Fotos Gy H: Trampas de pétalos de clavel, a la derecha se aprecia el micelio de *Phytophthora*.

En todas las trampas de pétalos de clavel se capturaron cepas de *Phytophthora*, lo que indica que el inóculo se estableció tras la inoculación.

3.7. Análisis de datos

Finalmente se analizarán estadísticamente los resultados de porcentajes de plantas muertas, y dada la existencia de diversos síntomas, que se manifiestan en grados diversos y con distinta incidencia en las poblaciones bajo selección, se ha propuesto el cálculo de índices de resistencia como el ISE (índice de gravedad de la enfermedad), que consistirá en el análisis de la varianza (ANOVA) unifactorial. Previamente, al tratarse de ANOVA paramétrico se comprobaron las asunciones de Normalidad y Homocedasticidad.

El análisis de la varianza y el test de diferencias significativas proceden de la transformación angular ($\text{Arcsen}(\sqrt{0/1})$; siendo $0/1 = (\% \text{ de plantas muertas o ISE})/100$). Test de mínimas diferencias significativas de Fisher (LSD). Las diferentes letras indican diferencia significativa al 95%.

Para los análisis y cálculos, se usó el programa estadístico informático STATGRAPHICS Centurión XVI.

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1. Evaluación del material vegetal por su resistencia a *P. capsici* (Root rot);

- Porcentaje de plantas muertas: (Cuadro 3)

Ninguno de los cultivares comerciales evaluados con tres hojas verdaderas, a los 30 días después de inoculación y en cámara de ambiente controlado se mostró totalmente resistente a *P. capsici* (Cuadro 3). La mayoría de los cultivares inoculados, se comportaron en cuanto al “porcentaje de plantas muertas” igual que “Sonar” que fue el cultivar que se utilizó como testigo susceptible. Solamente “Deniro”, con un 0% obtuvo el mismo valor que “Serrano Criollo de Morelos (SCM)” que fue el cultivar que se utilizó como testigo resistente. Los datos muestran también dos cultivares con algo menos del 100% de las plantas muertas, aunque con unos datos altos de media y desviación típica que los sitúa en el rango de susceptibles.

- **Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE):**(Cuadro 3)

El comportamiento de los cultivares en la evaluación del (ISE), fue muy parecido que el porcentaje de plantas muertas, obteniendo la mayoría de ellas un 100 %, el mismo valor que el testigo susceptible “Sonar”. En este caso ninguna variedad obtuvo un 0% de (ISE) que fue el valor obtenido por el testigo resistente “SCM”. Solamente “Natanja” con un 91,96 % de (ISE), “Deniro” con un 77,71 % y “Tabor” con un 68,75% no llegaron al 100 % de (ISE). Es de destacar que “Deniro”, a pesar de no mostrar plantas muertas, presentó un elevado (ISE), con una elevada media y desviación típica. (Ver figura 6).

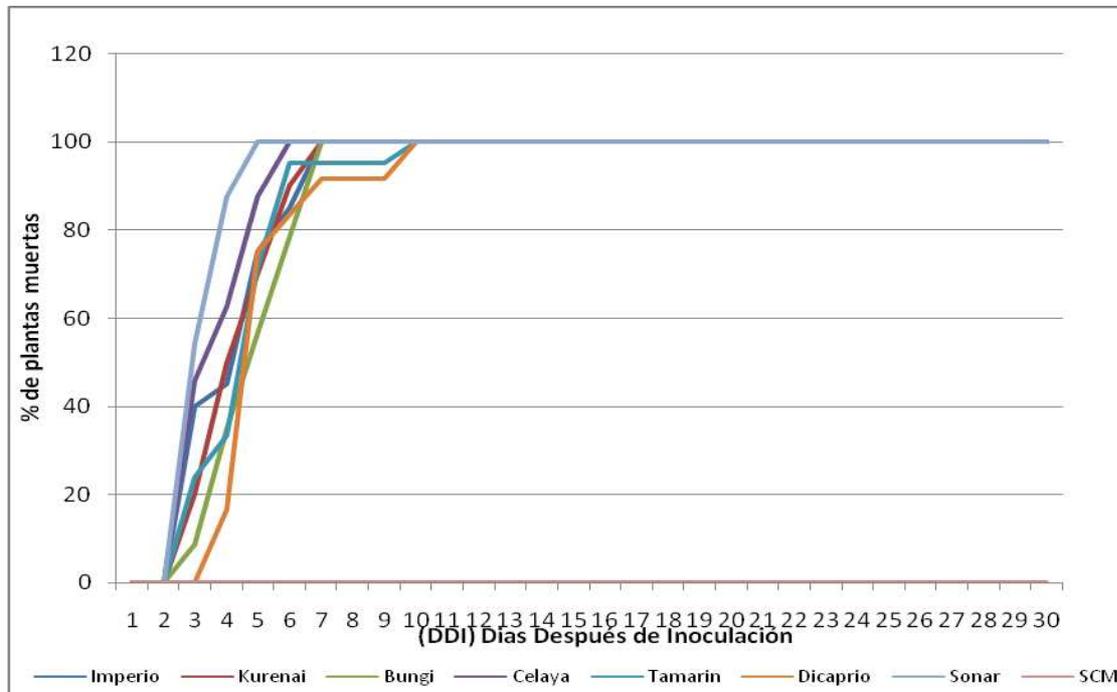
Cuadro 3: Incidencia de *P. capsici* e Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE).

Cultivar	% de plantas muertas		ISE	
Imperio	100,00	±0,00	100,00	±0,00
Kurenai	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
Bungi	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
Celaya	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
Tamarín	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
Dicaprio	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
Jalisco	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
Magno	100,00	± 0,00	100,00	±0,00
Tinsena	100,00	±0,00	100,00	±0,00
Tabor	68,75	±47,32	68,75	±47,32
Mirador	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
Natanja	85,71	± 28,57	91,96	±16,07
Deniro	0,00	± 0,00	77,71	±37,99
Sonar	100,00	± 0,00	100,00	± 0,00
SCM	0,00	± 0,00	0,00	±0,00
P-value = 0.00000738473		P-value = 0.000093351		

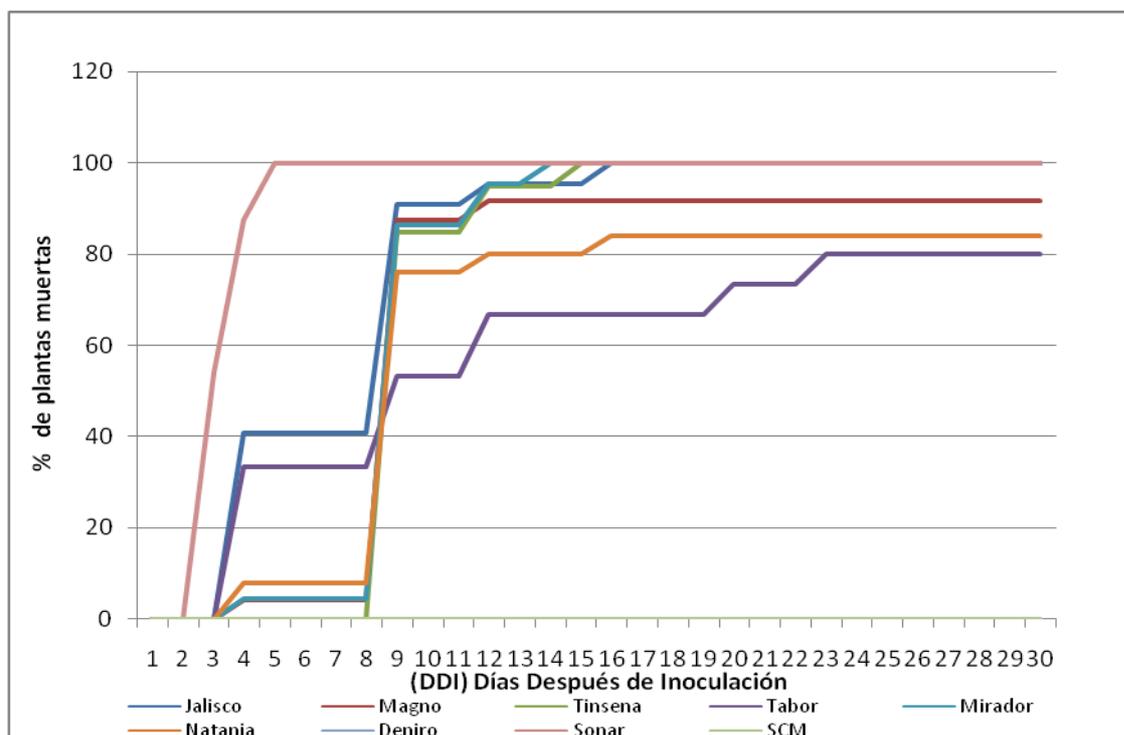
(T): Testigo; (ISE): Índice de Severidad de la Enfermedad; El análisis de la varianza y el test de diferencias significativas proceden de la transformación angular ($\text{Arcsen}(\sqrt{o_1})$), siendo $o_1 = \%$ de plantas muertas/100); Las diferentes letras indican diferencia significativa al 95%; La significación entre los distintos cultivares ha sido obtenida mediante el test de Kruskal-Wallis.

Para una mejor comprensión de los resultados, los datos se han mostrado en dos gráficas distintas, donde se han agrupado los distintos cultivares que han presentado un comportamiento parecido.

Gráfica 1: Curva de desarrollo de *P. capsici*. para los cultivares evaluados (Grupo 1).



Gráfica 2: Curva de desarrollo de *P. capsici*. para los cultivares evaluados (Grupo 2).



Si observamos la curva de desarrollo de la enfermedad de los cultivares evaluados, podemos observar que prácticamente a los 10 días desde que se inocularon, todos habían alcanzado un 50 % de plantas muertas, a excepción del control resistente “SCM” y el cv “Deniro”, que no presentaron plantas muertas durante los 30 días de ensayo. (Gráficas 1 y 2).

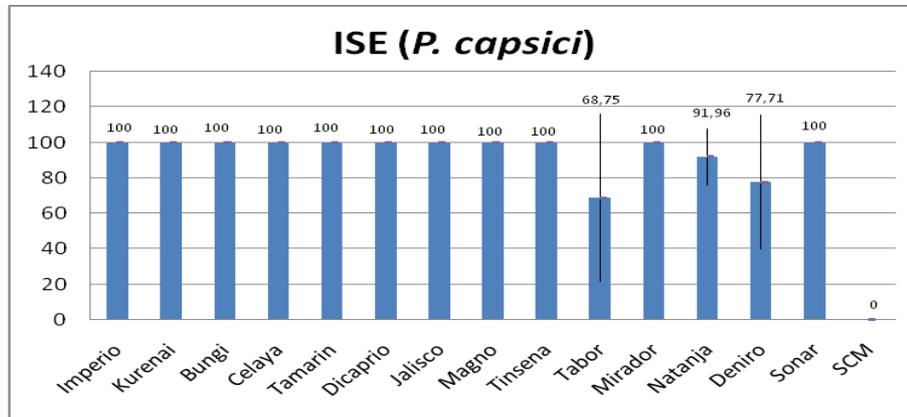


Figura 6: ISE del material vegetal evaluado por su resistencia a *P. capsici*.

4.2.1. Evaluación del material vegetal por su resistencia a *P. parasitica*:

- Porcentaje de plantas muertas: (cuadro 4)

La variabilidad de los síntomas encontrados en los distintos cultivares en cuanto al % de plantas muertas inoculados con *P. parasitica* en cámara de ambiente controlado a los 30 días después de la inoculación es muy alta, encontrándonos desde cultivares como “Deniro” que mostró el mismo valor que el cultivar utilizado como control resistente “SCM” con un 0% de plantas muertas en ambos casos, y con diferencias estadísticamente significativas al 95 % de confianza con todos los cultivares excepto con “Mirador” con un % de 4,17 además de con “Imperio” con un 8,33 % con “Tamarín” con un 10 %, “Natanja” con un 22,91 % “Kurenai” con 25 % de plantas muertas, “Bungui” con 30,60 y “Tinsena” con 36,25 %. Los resultados muestran que el cultivar “Celaya” obtuvo el valor más alto en cuanto al % de plantas muertas, con un valor de 79,16 %, mostrando diferencias significativas al 95 % de confianza con todos los cultivares excepto con “Dicaprio” con un porcentaje de 70,83 “Tabor” con un 69,05 %, “Jalisco” 66,67 %, “Sonar” y “Magno”, con valores de 50,00 % y 41,67 % respectivamente.

- Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE): (cuadro 4)

El comportamiento de los cultivares en la evaluación del (ISE), siguió en algunos casos un patrón parecido al del % de plantas muertas. No obstante, “Deniro” con un % de plantas muertas igual al del control resistente “SCM”, muestra el valor de ISE más alto de

todos los cultivares evaluados, incluso superior al control susceptible a *P. capsici*, empleado en el ensayo “Sonar” que obtuvo un valor de 67,86. Tras “Deniro” los cultivares con mayor ISE, fueron “Celaya”, “Dicaprio” y “Jalisco” con un 92.19, 86,46 y 84,37 respectivamente. Tanto “Deniro” como “Celaya”, “Dicaprio” y “Jalisco” presentaron diferencias significativas al 95% de confianza con todos los cultivares, excepto con “Tabor” y con “Magno” con ISE de 79,46 y 69,27. En el otro extremo, están los que menor ISE mostraron, siendo “SCM” el control resistente a *P. capsici*, el que menor valor mostró, en este caso también con un valor de 0,0, y con diferencias estadísticamente significativas al 95 % de confianza con todos los cultivares evaluados, excepto con los cultivares con valores de ISE más próximos, como fueron “Tamarín” con un valor de 8,75 “Imperio” con 11,46 y “Mirador” con un ISE de 12,65. (Ver figura 7).

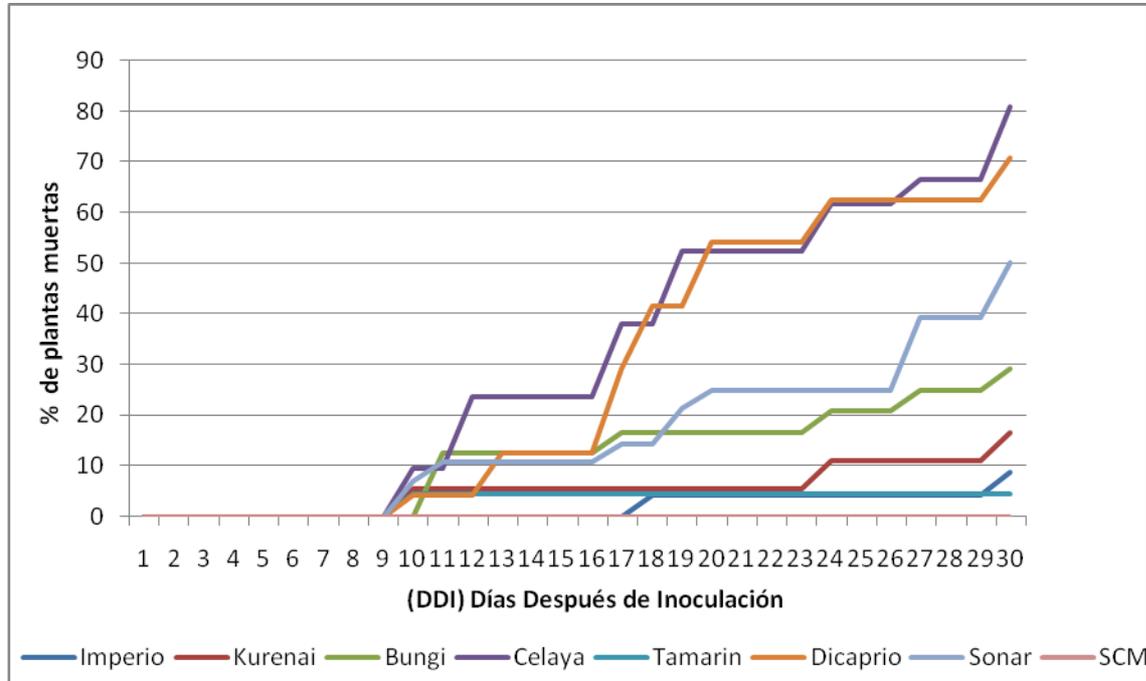
Cuadro 4: Incidencia de *P. parasitica* e Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE).

Cultivar	% de plantas muertas		ISE	
Imperio	8,33 ab	± 9,62	11.46 ab	±14,18
Kurenai	25,00 abc	± 31,91	47.40 cd	±38,17
Bungi	30,60 abcd	± 37,77	47.38 cd	±35,82
Celaya	79,16 f	± 20,97	92.19 e	±8,05
Tamarín	10,00 ab	± 20,00	8.75 ab	±17,5
Dicaprio	70,83 ef	± 36,95	86.46 e	±19,06
Jalisco	66,67 def	± 27,22	84.37 e	±11,97
Magno	41,67 bcdef	± 26,35	69.27 cde	±16,70
Tinsena	36,25 abcde	± 34,55	38.60 bc	±37,32
Tabor	69,05 def	± 35,95	79.46 de	±27,10
Mirador	4,17 ab	± 8,33	12.65 ab	±2,81
Natanja	22,91 abc	± 15,77	42.71 bc	±31,80
Deniro	0,00 a	± 0,00	93.75 e	±9,92
Sonar	50,00 cdef	± 50,17	67.86 cde	± 36,19
SCM	0,00 a	± 0,00	0,00 a	±0,00
P-value = 0,0001			P-value = 0,00000	

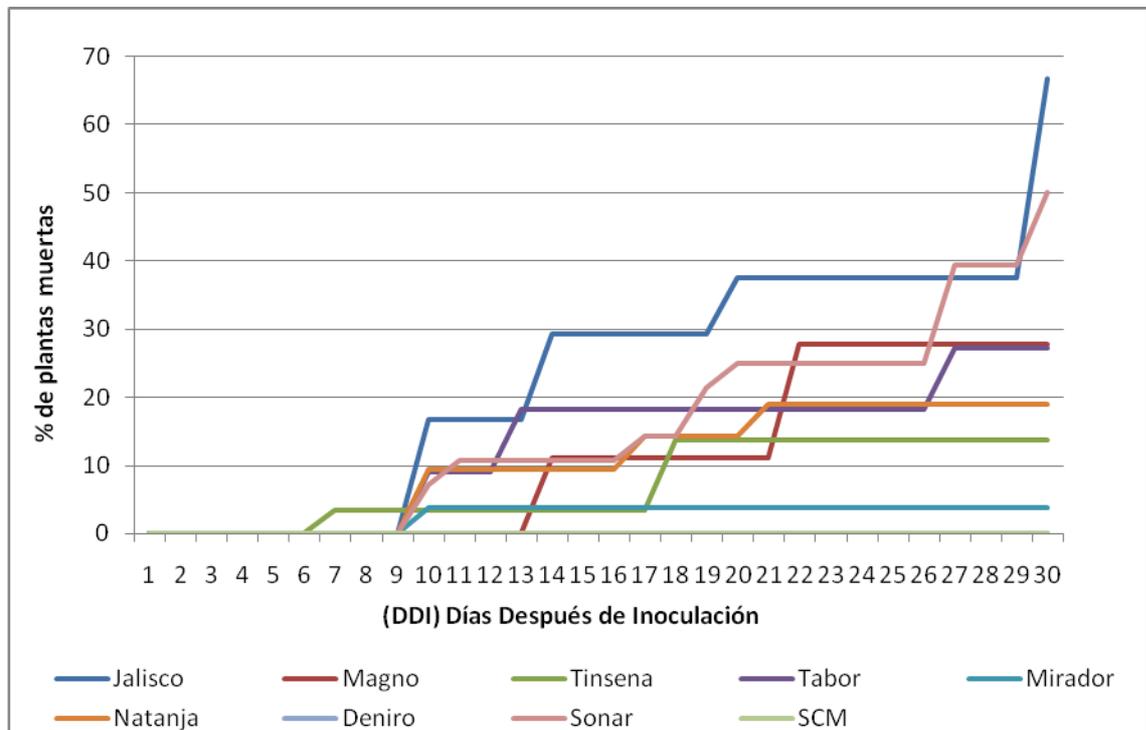
(T): Testigo; (ISE): Índice de Severidad de la Enfermedad; El análisis de la varianza y el test de diferencias significativas proceden de la transformación angular ($\arcsen(\sqrt{\%I})$), siendo $\%I = \% \text{ de plantas muertas}/100$; Test de mínimas diferencias significativas de Fisher (LSD). Las diferentes letras indican diferencia significativa al 95%;

Al igual que en los datos referidos a *P. capsici*, para una mejor comprensión de los resultados, los datos se han mostrado en dos gráficas distintas, donde se han agrupado los distintos cultivares que han mostrado un comportamiento parecido.

Gráfica 3: Curva de desarrollo *P.parasitica* para los cultivares evaluados (Grupo 1).



Gráfica 4: Curva de desarrollo *P.parasitica* para los cultivares evaluados (Grupo 2).



Si observamos las gráficas realizadas en dos tandas diferentes, se ve claramente la progresión del parasitismo que *P. parasitica*, provoca en los diferentes cultivares, apreciándose que a los 10 días tras la inoculación, comenzaron a aparecer plantas muertas en la mayoría de los cultivares inoculados en mayor o menor medida, a excepción del cv “Deniro” y “SCM”, el cual además se muestra como resistente a *P. parasitica*, ya que durante los 30 días que duró el ensayo no mostró síntoma alguno de afección.

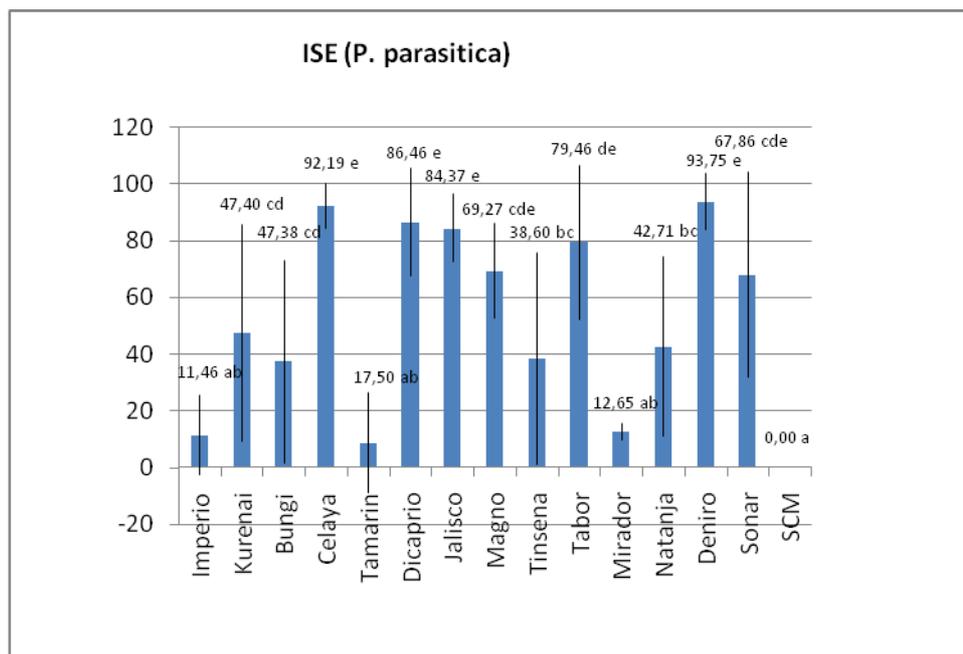


Figura 7: ISE del material vegetal evaluado por su resistencia a *P. parasitica*.



Foto I:Detalle de la raíz de “SCM” tras 30 días después de inoculación con *P. parasitica*.



Foto J:Detalle de los síntomas mostrados en la raíz de “Celaya” y “Dicaprio” tras 30 días después de inoculación con *P. parasitica*.

4.3. Comparación de la resistencia de los cultivares a *P. capsici* y *P. parasitica*.

Cuadro 5. Comparación de los resultados en la evaluación de los síndromes en *P. capsici* y en *P. parasitica*.

Material Vegetal	Resistencia/ Susceptibilidad (<i>P. capsici</i>)	Resistencia/ Susceptibilidad (<i>P. parasitica</i>)
Imperio	Susceptible	Resistencia parcial
Kurenai	Susceptible	Susceptible
Bungi	Susceptible	Susceptible
Celaya	Susceptible	Susceptible
Tamarín	Susceptible	Resistencia parcial
Dicaprio	Susceptible	Susceptible
Deniro	Susceptible	Susceptible
Jalisco	Susceptible	Susceptible
Magno	Susceptible	Susceptible
Tinsena	Susceptible	Susceptible
Tabor	Susceptible	Susceptible
Mirador	Susceptible	Resistencia parcial
Natanja	Susceptible	Susceptible
Sonar	Susceptible	Susceptible
SCM	Resistente	Resistente

Tres de los cultivares evaluados, mostraron una resistencia parcial frente a *P. parasitica* (cv Mirador, cv Imperio y cv Tamarín), posiblemente esto se deba a que alguno de los genes que gobiernan la resistencia poligénica a *P. parasitica*, se encuentra presente en uno de sus parentales.

En cuanto a la resistencia de pimiento tipo “Chile”, Serrano Criollo de Morelos-334 (SCM-334), se sabe que es una de las más eficaces fuentes de resistencia genética a *P. capsici*. Sin embargo, aunque la resistencia a *P. capsici* es de carácter dominante (Egea-Gilabert *et al.*, 2008), su herencia es compleja debido a su naturaleza poligénica y a la probable existencia de efectos epistáticos (Minamiyama *et al.*, 2007).



Foto K: Comparativa de la ausencia de síntomas mostrados en la raíz de “SCM” tras 30 días después de inoculación con *P. parasitica* y *P. capsici*.

5.- CONCLUSIONES

- Ningún cultivar se comportó como totalmente resistente a *P. capsici* y *P. parasitica*. En el caso de *P. capsici* los trece cultivares fueron sensibles. Frente a *P. parasitica* tres cultivares mostraron una resistencia parcial (cv Mirador, cv Imperio y cv Tamarin). Únicamente el control resistente Serrano Criollo de Morelos-334 se comportó como resistente.
- No se aprecia especificidad parasitaria en los asilados utilizados respecto al cultivar del hospedador, ya que fueron capaces de enfermar a todos los cultivares de pimiento.
- Las líneas que mejor se han comportado, se podrían proponer como variedades resistentes, siempre y cuando se corroborasen los mismos resultados tanto en plantas más desarrolladas y sobre todo en plantas en estado de producción en campo de cultivo. En el caso de que se confirmasen los resultados, habría que estudiar la procedencia de estos cultivares, e identificar en cuál de los parentales se encuentra el o los posibles genes de resistencia que pudiesen ser usado como fuente para la creación de futuros cultivares resistentes.

6.- BIBLIOGRAFÍA

Allagui, M. B., Lepoivre, P., 2000. Molecular and pathogenicity characteristics of *Phytophthora nicotianae* responsible for root necrosis and wilting of pepper (*Capsicum annuum* L.) in Tunisia. Eur. J. Plant Pathol, 106:887-894.

Andrés Ares J. L., Rivera Martinez A. and Fernandez Paz J. 2005. Resistance of pepper germplasm to *Phytophthora capsici* isolates collected in northwest Spain. Spanish Journal of Agricultura Research 3(4),429-436.

Andrés J. L., Rivera A. and Fernández J., 2006. Virulence of Spanish *Phytophthora nicotianae* isolates towards *Capsicum annum* germplasm and pathogenicity towards *Lycopersicum esculentum*. Spanish Journal of Agricultura Research 4(3), 248-254.

Análisis de la campaña hortofrutícola de Almería. Campaña 2011/2012. 2012. Fundación cajamar.

Ashby, S.F., 1928. The oospores of *Phytophthora nicotianae* Br. De Haan, with notes on the taxonomy of *P. parasitica* Dastur. Trans. Br. Mycol. Soc. 13:86-95. (Cited in Tucker 1933).

Bartual, R. and Campos, T., 1984. Hipótesis sobre la genética de la resistencia a *Phytophthora capsici* L. en pimiento. V. Jornadas de Mejora de Hortalizas. INIA (Logroño), pp. 238-256.

Barksdale, T. H., Papavizas, G. S., and Johnston, S. A., 1984. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease 68:506-509.

Bartual R., Carbonell E. A., Marsal J. I., Tello J. C. and Campos T., 1991. Gene action in the resistance of peppers (*Capsicum annum*) to *Phytophthora* stem blight (*Phytophthora capsici* L.). Euphytica 54: 195-200.

Bartual, R.; Marsal, J. I.; Carbonell, E. A.; Tello, J. C. and Campos, T., 1991. Genética de la resistencia a *Phytophthora capsici* León en pimiento. Bol. San. Veg. Plagas, 17: 3-124.

Blackwell, E., 1949. Terminology in *Phytophthora*. Commonw. Mycol. Instit. Mycol. Pap., No. 30, 24 pp.

Boccas, B., Zentmyer, G.A., 1976. Genetical studies with interspecific crosses between *Phytophthora cinnamomi* and *P. parasitica*. *Phytopathology*, 66:79-85.

Boccas B., 1978. La reproduction sexuelle chez les *Phytophthora*. Ses voies et quelques unes ses conséquences génétiques. Thèse docteur es Sciences Naturelles. Université Paris-Sud. France.

Bonnet, P.H., Maïam, N., Tello-Marquina, J.C., and Venard P., 1978. Pouvoir pathogène de *Phytophthora parasitica* (DASTUR): Facteurs de variabilité et notion de Spetialization parasitaire (Pathogenic capacity of *Phytophthora parasitica* (Dastur): Factor son variability and concept of parasite specialization). *Ann. Phytopathol.*, 10:15-29. (In French). 187 pp.

Bosland, P. W., and Lindsey, D. L.,1991. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper, *Capsicum annuum*. *Plant Dis.* 75:1048-1050.

Boukema, I.W., 1983. Inheritance of resistance to foot and root caused by *Phytophthoranicotianaev. Breda de Haan var. nicotianae* in tomato (*Lycopersicon Mill*). *Euphytica*, 32:103-109.

Brasier, C.M., 1972. Observations on the sexual mechanism in *Phytophthora palmivora* and related species. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 58:237-251.

Brasier, C.M., 1983. Problems and prospects in *Phytophthora* research. Pages 351-364 in: *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*. D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia, and P.H. Tsao, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, Minn. 392 pp.

Breda de Haan, J. Van., 1896. De bibitziekte in de Deil tabak veroorzaakt door *Phytophthora nicotianae* (The root disease in Deil tobacco caused by *Phytophthora nicotianae*). *Meded. S. Lands Plantetuin* 15. 107 pp. (In Dutch). (Cited in Tucker 1933).

Cajamar, F., 2010. Análisis de la campaña hortofrutícola de Almería: Campaña 2009/2010. Fundación Cajamar, Almería, Spain.

Cajamar., 2012. Análisis de la campaña hortofrutícola de Almería: Campaña 2011/2012. Fundación Cajamar, Almería, Spain. 42, 12-16. www.besana.es

Candole B. L., Conner P. L., and Ji P., 2010. Screening *Capsicum annuum* accessions for Resistance to six isolates of *Phytophthora capsici*. Hort Science 45(2):254-259.

Capasso, R., Cristinzio, G., Evidente, A., Visca, C., Ferranti P., Del Vecchio Blanco, F. and Parente, A., 1999. Elicitin 172 from an isolate of *Phytophthora nicotianae* pathogenic to tomato. Phytochemistry, 50 (5):703-709.

Chen, P., G. Ma, G.R. Buss, I. Gunduz, C.W. Roane, and S.A. Tolin. 2001. Inheritance and allelism test of Raiden soybean for resistance to soybean mosaic virus. J. Hered. 92:51–55.

Clerjeau, M., Pitrat, M. and Nourrisseau, J. G., 1976. La resistance du piment (*Capsicum annuum*) á *Phytophthora capsici* IV. Etude de l'agressivité de divers isolats au niveau des feuilles, de tiges et du collet des plantes sensibles et résistantes. Ann. Phytopathol. 8(4): 411-423

Colas, V., Lacourt, I., Ricci, P., Vanlerberghe-Masutti, F., Venard, P., Pouplet, A. and Panabieres, F. 1998. Diversity of virulence in *Phytophthora parasitica* on tobacco, as reflected by nuclear RFLPs. Phytopathology, 88 (3):205-212.

Cristinzio, G. y Noviello, C., 1980. Ricerche sulla specializzazione della *Phytophthora capsici* in Campania. Inf. tore fitopatol. 11-12, 13-15.

Dacosta, C., Boslan, P.W., 2013. Physiological Race Characterization of *Phytophthora capsici* Isolates from Several Host Plant Species in Brazil Using New Mexico Recombinant Inbred Lines of *Capsicum annuum* at Two Inoculum Levels. J. of American soc. for Hortic. Sci.

Dastur, J.F., 1913. *Phytophthora parasitica* n. sp., a new disease of the castor oil plant. Mem. Dep. Agric. India, Bot. Ser. 5(4):177-231. (Cited in Tucker 1933).

BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* Y *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EN CULTIVARES COMERCIALES DE PIMIENTO

Day, P. R., 1974. Genetics of host-parasite interaction. W. H. Freeman, San Francisco, 238 pp.

Diáñez, F., Santos, M. and Tello, J.C., 2004. Suppression of Soilborne Pathogens by Compost: Suppressive Effects of Grape Marc Compost on Phytopathogenic Oomycetes. *Acta Hort.* 697, 441-460.

Dick, M.W., 1990a. Phylum Oomycota. Pages 661-685 in: *Handbook of Protoctista*. L. Margulis, J.O. Corliss, M. Melkonian, D.J. Chapman, eds. Jones and Bartlett Pub. Boston. 914 pp.

Eenink, A. H., 1976. Genetics of host-parasite relationships and uniform and differential resistance. *Neth. J. Pl. Path.*, 82: 133-145.

Egea-Gilabert, C., G. Bilotti, M. E. Requena, M. Ezziyyani, J. M. Vivo Molina, and M. E. Candela, 2008. Pepper morphological traits related with resistance to *Phytophthora capsici*. *Biol. Plantarum* 52: 105-109.

Erwin, D.C. and Ribeiro, K., 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. APS press. St. Paul, Minnesota. USA. 562 pp.

Félix, E. L., 1953. Susceptibility to tomato buckeye rot fungus in Tennessee. *Phytopathology*, 43:290. Abstract.

Flor, H. H., 1955: Host-parasite interaction in flax rust, its genetics and other implications. *Phytopathol.*, 45: 680-685.

Flor, H. H., 1971: Current status of the gene-for-gene concept. *A Rev. Phytopathology*, 9: 275-290.

French-Monar R.D., 2006. Characterization of *Phytophthora capsici* associated with roots of weeds on Florida vegetable farms. *Plant Dis.*, 90, 345-350.

- Fry W.E., 1982. Principles of Disease Management. Academic Press, New York. 378 pp.
- Galindo J. and Gallegly, M.E.,1960. The nature of sexuality in *P. infestans*. Phytopathology, 50, 123-128.
- García, M., Campos, T. and Chulia, M., 1981. Ensayo sobre prevención contra *Phytophthora capsici* en pimiento y berenjena. Inf. Téc. SEA, 13 p.
- García-Lara, M.J., 2013. Conservación de *Phytophthora* en muestras de suelos almacenados, identificación y evaluación de la especificidad parasitaria en tomate y pimiento. Proyecto fin de carrera. Universidad del Almería.60-62 pp.
- Gemawat, P.D. and Prasad, N., 1964. Further studies on *Phytophthora* blight of *Sesamum*. Indian Phytopathol. 17:273-283.
- Gil, R., 1988. Resistencia a *Phytophthora capsici* LEÓN en pimiento. Tesis doctoral, UPV, 369 pp
- Gil Ortega R, Barriuso Vargas J, Palazon Espanol C, Zaragoza Larios C., 1990. Efecto de la solarizacion del suelo sobre el cultivo de pimiento al aire libre. ITEA, Produccion Vegetal. 1990, 86V: (3) 142- 154
- Gil Ortega R., Palazón C.F. and Cuartero J., 1995. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the Mexican pepper “line 29”. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 20: 117-122.
- Gisbert, C., Sánchez-Torres, P., Raigón, M.D. and Nuez, F., 2010. *Phytophthora capsici* resistance evaluation in pepper hybrids: agronomic performance and fruit quality of pepper grafted plants. J. Food Agric. Environ. 8, 116–121.
- Glosier B. R., Ogundiwin E. A., and Sidhu G. S.,2008. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. Euphtica 162:23-30.
- Godfrey, G.H., 1923. A *Phytophthora* foot rot of rhubarb. J. Agric. Res. 23:1-26.

Griffin, M.J. and Jones, O.W., 1977. *Phytophthora porri* on Autumn sown salad onions. *PI. Pathol.* 26:149-150.

Guerrero-Moreno, A. and J.A. Laborde. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. Synopsis IVth Mtg. Capsicum Working Group of EUCARPIA, p. 52–56.

Hall, G., 1993. An integrated approach to the analysis of variation in *Phytophthora nicotianae* and redescription of the species. *Mycol. Res.* 97:559-574.

Hickman, C.J., 1958. *Phytophthora*-Plant destroyer. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 41:1-13

Ho, H.H and Jong, S.C., 1989a. *Phytophthora nicotianae* (*P. parasitica*) *Mycotaxon* 35:243-276.

Hooker, A. L. and Saxena, K. M. S., 1971. Genetics of disease resistance in plants. *Annu. Rev. Genet.*, 5: 407-424.

Irwin, L. L., Self, S. & Smith, L. (1989). Status of the Northern Spotted Owl on Managed Forestlands in Northern California. National Council of the Paper Industry for Air and Stream Improvement, Corvallis, Oregon.

Irwin, J.A.G., 1997. Biology and management of *Phytophthora* spp. Attacking field crops in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 26: 207-216.

Ivantcheva-Gabroska, T., 1958. Resistance of Tobacco varieties to black shank (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*). Ministry of Agriculture and Forests. Plant Prot. Inst. Sofia. *Sci. Works.* 1:65-103.

Jaarsveld, E., M.J. Wingfield, and Drenth, 2002. Evaluation of tobacco cultivars for resistance to races of *Phytophthora nicotianae* in South Africa. *Journal Phytopathology*. Blackwell Verlag, Berlin. 150(8-9):456–462.

Kale, G.B. and Prasad, N., 1957. *Phytophthora* blight of *Sesamum*. Indian Phytopathol. 10:38-47.

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.

Kommendahl, T., Christensen, J. J. and Frederiksen, R. A., 1970. A half century of research in Minnesota on flax wilt caused by *Fusarium oxysporum*. Tech. Bull. Min. Agric. Str., 272: 35.

Kroon, L.P.N.M., Brouwer H., De Cook A.W.A.M. and Govers, F., 2012. The genus *Phytophthora* anno 2012. *Phytophthora*, 102, 348-364.

Lacasa, A., Guerrero, M.A., Guirao, P. and Ros, C., 2002. Alternatives to methyl bromide in sweet pepper crops in Spain. In: Batchelor, T., Bolivar, J. (Eds.), Proceedings of the international Conference on Alternatives to Methyl Bromide. The Remaining Challenges. European Commission, Brussels, Belgium, pp. 172–177.

Leonian, L.H. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 12:401–408.

Leonian, L.H., 1934. Identification of *Phytophthora* species. W. Va. Univ. Agric. Exp. Stn. Bull. 262. 36 pp.

López-Marín, J., Gálvez, A. González, A. and Fernández, J.A., 2009. Agronomic behavior of grafted sweet pepper grown in a greenhouse in mediterranean area. *Acta Hortic.* 807, 655–660.

López-Marín, J., A. González, F. Pérez-Alfocea, C. Egea-Gilabert, and Fernández, J.A., 2013. Grafting is an efficient alternative to shading screens to alleviate thermal stress in greenhouse-grown sweet pepper. *Sci. Hortic.* 149,

Lucas, G.B., 1975. Black shank. Pages 115-141 in: Diseases of Tobacco. Biological Consulting Associates, Raleigh, N.C. 621 pp.

Lutz, A., and Menge, J.A., 1991. Population fluctuations and the numbers and types of propagules of *Phytophthora parasitica* that occur in irrigated citrus groves. *Plant Dis.* 75:173-179.

Mammella, M. A., Martin, F.N., Cacciola, S.O., Coffey, M. D., Faedda, R. and Schena, L. 2013. Analyses of the Population Structure in a Global Collection of *Phytophthora nicotianae* Isolates Inferred from Mitochondrial and Nuclear DNA Sequences. *Population Biology.* Vol. 103, No. 6, 2013 610-622

Margulis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M. and Chapman, D.J., eds. 1990. *Handbook of Protoctista.* Jones and Bartlett Pub. Boston, Mass. 914 pp

MARM., 2009. Estudio de la cadena de valor y formación de precios del pimiento verde. www.magrama.gob.es

Matheron, M.E.N and Matejka, J.C., 1990. Differential virulence of *Phytophthora parasitica* recovered from citrus and other plants to rough lemon and tomato. *Plant Dis.* 74:138-140.

McIntosh, D.L., 1972. Effects of soil water suction, soil temperature, carbon and nitrogen amendments, and host rootlets on survival in soil of zoospores of *Phytophthora cactorum*. *Can. J. Bot.* 50:269-272.

Meurs, A., 1934. Parasitic stemburn of Deil tobacco. *Phytopathol. Z.* 7:169-185.

Minamiyama, Y., M. Tsuru, T. Kubo, and M. Hirai, 2007. QTL analysis for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper using a high density SSR-based map. *Breeding Sci.* 57: 129-134.

Morales Rodríguez, M.C., 2011. Caracterización fenotípica y molecular de *Phytophthora nicotianae* (Breda de Haan, 1896) de cultivos de pimiento y tomate de Extremadura. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura. 220 pp.

Monroy-Barbosa A., and Bosland P. W., 2008. Genetic analysis of *Phytophthora* root rot race-specific resistance in chile pepper. *Hort Science* 133(6):825-829.

Monroy-Barbosa A., and Bosland P. W., 2011. Identification of novel physiological races of *Phytophthora capsici* causing foliar blight using the New Mexico recombinant inbred pepper lines set as a host differential. Hort Science 136(3):205-210.

Montgomerie, I.G., 1977. Red core disease of strawberry. Hortic. Rev. No. 5. Scottish Hortic. Res. Inst., Invergowrie, Dundee, U.K.47 pp.

Nelson, R. R., 1975. Horizontal resistance in plants: concepts, controversies and applications. En I. E. Galvez (ed.), Proceedings of the seminar on horizontal resistance to the blast disease of rice, pp. 1-20. CIAT publications, series C.E.-9, Cali, Colombia.

Nelson, R. R., 1978. Genetics of horizontal resistance to plant disease. Annu. Rev. Phytopathol., 16: 359-378.

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.

Parker, S.P., 1982. Synopsis and Classification of Living organisms. McGraw-Hill Book Co., New York 1166 pp.

Parker, J. L., C.R. Grau. 1993. Aphanomyces. In: Methods for Research on soilborne phytopathogenic fungi. Edited by L.L. Singleton, J.D. Mihail and C.M. Rush. APS Press. St. Paul. Minnesota, 27-30 pp.

Parlevliet, J. E. and Zadoks, J. C., 1977. The integrated concept of disease resistance; a new view including horizontal and vertical resistance in plants. Euphytica, 26: 5-21

Parlevliet, J. E., 1983. Can horizontal resistance be recognize in the presence of vertical resistance in plants exposed to mixture of pathogen races? Phytopathology, 73(3): 379.

Palazón, C. F., Palazón, I., Simón, J. and Llop, E., 1981: Estudio de las posibilidades de los modernos productos anti-mildiu para el control de *Phytophthora capsici* LEÓN en pimiento. Hoja Técnica IÑIA, 34: 14 pp.

Pérez Vargas, M., 2011. Epidemiología y control de *Phytophthora parasitica* en cultivos de tomate y pimiento bajo abrigo en el Sureste Peninsular de España.

Person, C and Sindhu, G., 1971. Genetics of host-parasite interrelationships. En Mutation breeding for disease resistance, IAEA, Viena, pp. 31-38.

Peyronel, B., 1920. Un interesante parassita del Lupino non ancora segnalato in Italia, *Blepharospora terrestris* (Sherb.) Peyr. Atti R. Acad. Lincei, Ser. 5. Rend. Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. 29. I:194-197. (In Italian). (Cited in Tucker 1933).

Pochard, E. and Chambonnet, D., 1972. Méthodes de selection du piment pour la resistance au *Phytophthora capsici* et au virus du concombre. 1st. Eucarpia Meeting on Capsicum. Università di Torino. Septiembre 1971, pp. 270-281.

Pochard, E., Clerjeau, M. and Pitrat, M., 1976. La resistance du piment, *Capsicum annum* L. a *Phytophthora capsici* LEÓN I. Mise en evidence d'une induction progresive de la resistance. Ann Amélior. Plantes, 26(1): 35-50.

Pochard, E. and Daubeze, A. M., 1980. Recherche et evaluation des composantes d'une resistance polygénique: la resistance du Piment á *Phytophthora capsici*. Ann. Amélior. Plantes, 80: 377-398.

Polach F. J., and Webster R. K., 1971. Identification of Strains and inheritance of Pathogenicity in *Phytophthora capsici*. Phytopathology 62:20-26.

Rattink, H., 1981. Characteristics and pathogenicity of six isolates from pot plants. Neth. J. Plant Pathol. 87:83-90.

Reeves, R. J. and Jackson, R. M., 1974. Stimulation of sexual reproduction in *Phytophthora* by damage. J. Gen. Microbiol., 84: 303-310.

Reifschneider F. J. B., Boiteux L. S., Della Vecchia P. T., Poulos J. M., and Kuroda N., 1992. Inheritance of adult-plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. Euphytica 62:45-49.

Ristaino J. B. and Johnston S. A., 1999. Ecologically based approaches to management of phytophthora blight on bell pepper. The american phytopathological Society D-1999-0927-01F.

Ristaino, J.B. 1991. Influence of rainfall, drip irrigation, and inoculums density on the development of phytophthora root and crown rot epidemics and yield in bell pepper. *Phytopathology* 81:922–929.

Rodríguez-Kábana, A., 1997. Alternatives to methyl bromide (MB) soil fumigation. In: Bello, A., J.A. Gonzalez, M. Arias, and R. Rodríguez-Kabana (eds). Alternatives to methyl bromide for the southern european countries. CSIC, pp. 17-34.

Rosenbaum, J., 1917. Studies of the genus *Phytophthora*. *J. Agric. Res.* 8:233-276.

Sansome, E., 1965. Meiosis in diploid and polyploid sex organs *Phytophthora* and *Achlya*. *Cytologia* 30:103-117.

Satur, M. M. and Butler, E. E., 1967. A root and crown rot tomato caused by *Phytophthora capsici* and *Phytophthora parasitica*. *Phytopathology*, 57: 510-515.

Satur, M. M. and Butler, E. E., 1968: Comparative morfological and physiological studies on the progenies from intraspecific matings of *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, 58: 183-192.

Savage, E.J., Clayto, C.W., Hunter, J.H., Breneman, J.A., Laviola, C. and Gallegly, M.E., 1968. Homothallism, heterotallism and interspecific hybridization in the genus *Phytophthora*. *Phytopathology*, 58, 1004-1021.

Sawada, K., 1915a. Materials of Formosan fungi (5). *Trans. Nat. Hist. Soc. Formosa* 20:14-19. (In Japanese). (Cited in Ho 1992).

Sawada, K., 1915b. Two new species of the genus *Phytophthora* causing diseases of onion and eggplant. *Spec. Bull. Agric. Exp. Stn. Govt. Formosa* 11:1-139. (In Japanese). (Cited in Ho 1992).

Sawada, K., 1927a. Descriptive catalogue of the Formosan fungi (III). Rep. Dep. Agric. Gov. Res. Inst. Formosa Bull. 27:1-62. (In Japanese). (Rev. Appl. Mycol. 1928, 7:273). (Cited in Tucker 1933).

Sawada, K., 1927b. Descriptive catalogue of the Formosan fungi (III). Rep. Dep. Agric. Gov. Res. Inst. Formosa Bull. 27:1-62. (In Japanese). (Cited in Ho 1992).

Sawada, K., 1942a. On the species of the genus *Kawakamia*. Formosan Agric. Rev. 38:351-355. (In Japanese). (Cited in Waterhouse 1970a).

Sawada, K., 1942b. *Phytophthora species* on tobacco. Formosa Agric. Rev. 38:7-25. (In Japanese). (Cited in Ho 1992).

Sherbakoff, C.D., 1917. Buckeye rot of tomato fruit. Phytopathology 7:119-129.

Simons, M. D., 1972. Polygenic resistance to plant disease and its use in breeding resistant cultivars. J. Environ. Qual., 1: 232-240

Smith, P. G., Kimble, K. A., Grogan, R. G. and Millet, A. H., 1967. Inheritance of resistance in peppers to *Phytophthora* root rot. Phytopathology, 57: 377-379.

Sneh, B., and Katz, D.A., 1988. Behaviour of *Phytophthora citrophthora* and *P. nicotianae* var. in soil, and differences in their tolerance to antimicrobial components of selective media used for isolation of *Phytophthora* spp. J. Phytopathol. 122:208-221.

Sparrow, F.K., 1973. Mastigomycotina (zoosporic fungi). Chapter 4. Pages 61-73 in: The fungi: An Advanced Treatise. Vol. IVb. G.C. Ainsworth, F.K. Sparrow and A.C. Sussman, eds. Academic Press, New York. 504 pp.

Stamps, D.J., 1985. *Phytophthora capsici*. CMI. Description of fungi and Bacteria. N°:836. CMI. Kew Surrey, England.

Stamps, D.J., Waterhouse, G.M., Newhook, F.J., and Hall, G.S., 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Commonw. Agric. Bur. Int. Mycol. Pap. 162. 28 pp.

Sy O., Bosland P.W., and Steiner R., 2005. Inheritance of phytophthora stem blight resistance as compared to phytophthora root rot and phytophthora foliar blight resistance in *capsicum annum* L. Hort Science 130(1):75-78.

Sy O., Steiner R., and Bosland P. W., 2008. Recombinant inbred line differential identifies race-specific resistance to *Phytophthora* root rot in *Capsicum annum*. NM 88003.

Tecnova, F., 2009. Caracterización de la contaminación de suelos agrícolas en la provincia de Almería y establecimiento de protocolos de gestión y descontaminación. http://www.fundaciontecnova.com/innovacion/proy_idi_detalle.asp?id_proyecto_idi=9

Tello, J. C., 1984. Enfermedades criptogámicas en hortalizas. Comunicaciones INIA, Serie Prot. Veg., 22: 342 pp.

Tello, J. C. and García, M., 1977. Prospección de enfermedades micológicas en plantas hortícolas (tomate, pimiento, melón, sandía y judía). Publicación de la 7.ª división agraria: 28 pp.

Tello, J. C, Lacasa, A., Costa, J., Garcia Moya, J. and Campos, T., 1978. La importancia del diagnóstico en el control de las enfermedades micológicas del pimiento. Diario La Verdad. Murcia (19/2/1978), 30.

Tello, J.C., F. Varés, and A. Lacasa. 1991. En: Manual de Laboratorio. Diagnóstico de Hongos, Bacterias y Nematodos Fitopatógenos. M.A.P.A., Madrid, 485.

Tello J. and Lacasa A., 1997. Problemática fitosanitaria del suelo en cultivos de pimiento en el Campo de Cartagena. In: Posibilidades de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento en invernadero (López A, Mora JA, eds). Jornadas 11, Publicaciones de la Consejería Medio Ambiente, Agricultura y Agua, Región de Murcia (Spain). pp: 11-17.

Tello, J.C. and Lacasa, A. 2004. Las enfermedades de origen edáfico y su control en los pimentonares del Campo de Cartagena. Una interpretación retrospectiva del sexenio 1979 – BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* Y *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EN CULTIVARES COMERCIALES DE PIMIENTO

1985. En: Desinfección de Suelos en Invernaderos de Pimiento. II Jornadas sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Conserjería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. 11 – 26 pp.

Thomson, S.V., and Hine, R.B., 1972. Atypical sporangium-like structures of *Phytophthora parasitica*. Mycologia 64: 457-460.

Tsao, P.H., Ugale, R., Hobbs, S., and Farid, A., 1980. Control of homothallic oospore formation in *Phytophthora parasitica* by culture manipulations. Trans. Br. Mycol. Soc. 75:153-156.

Tsao, P.H., 1991. The identities nomenclature and taxonomy of *Phytophthora* isolates from black pepper. In Diseases of Black Pepper. Proceedings of the International Pepper Community Work shop on Black Pepper Diseases. 27-29 October 1988. Goa, India. (Eds., Sarma, Y.R, and OPremkumar, T.) pp 185-211. National Research Centre for Spices, Calicut, Kerala, India.

Tucker, C.M., 1931. Taxonomy of the genus *Phytophthora* de Bary. Univ. Missouri. Agric. Exp.Sta.Bull, 153, 208 pp.

Tuset, J. J., 1973. La «tristeza» o «podredumbre de pie», una enfermedad importante del pimiento. Tria, 219: 44-47.

Van Der Plank, J. E., 1963. Plant diseases: Epidemics and control. Academic Press, New York and Londo, 349 pp.

Van Der Plank, J. E., 1968. Disease resistance in plants. Academic Press, New York and London. 216 pp.

Van Der Plank, J. E., 1975. Principles of plant infection. Academic Press, New York, San Francisco and London. 349 pp.

Van Der Plank, J. E., 1978. Genetic and molecular basis of plant pathogenesis. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 167 pp

BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* Y *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EN CULTIVARES COMERCIALES DE PIMIENTO

Walker S. J., and Bosland P. W., 1999. Inheritance of *Phytophthora* root rot and foliar blight resistance in pepper. Hort Science 124(1):14-18.

Waterhouse, G.M., 1963. Key to the species of *Phytophthora* de BARY. Mycological papers, 92. CMI. Kew, Surrey. England.

Waterhouse, G.M., 1974a. *Phytophthora japonica*, a new name for *Pythiomorpha oryzae*. Trans. Br. Mycol. Soc. 63:419-420.

Waterhouse, G.M., 1974b. *Phytophthora palmivora* and some related species. Pages 51-70 in: *Phytophthora* Disease of Cocoa. P. H. Gregory, ed. Longman, London 336 pp.

Waterhouse, G.M., 1974c. Other *Phytophthora* species recorded on cacao. Pages 71-79 in: *Phytophthora* Disease of Cocoa. P. H. Gregory, ed. Longman, London 348 pp.

Waterhouse, G.M. and Waterson, J.M., 1964e. *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*. Commown. Mycol. Inst. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 35. 2 pp.

Zentmyer, G.A., and Mircetich, S.M., 1966. Saprophytism and persistence in soil by *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 56:710-712.