

Evaluación de la resistencia a *Phytophthora capsici* y *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* de tres porta-injertos comerciales de pimiento

Boix Ruiz A ⁽¹⁾, Marín Guirao J I ⁽¹⁾, Ruíz Olmos C A ⁽¹⁾, Rodríguez Burruezo A ⁽²⁾, Calatayud A ⁽³⁾, Martínez Beltrán C D ⁽¹⁾, De Cara García M ⁽¹⁾, Palmero Llamas D ⁽⁴⁾, Díaz Pérez M ⁽¹⁾, Camacho Ferre F ⁽¹⁾, Tello Marquina J C ⁽¹⁾.

1 Grupo de Investigación AGR-200. Departamento de Producción Vegetal. Universidad de Almería. Ctra. Sacramento s/n 04120. Almería. España. jtello@ual.es

2 Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana (COMAV). Camino de Vera s/n. 46022. Valencia. España.

3 Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Departamento de Horticultura. Ctra. Moncada-Náquera km. 4,5, 46113. Moncada. Valencia. España.

4 Universidad Politécnica de Madrid. E.U.I.T. Agrícola. Ciudad Universitaria s/n, 28040. Madrid. España.

Los problemas que se plantean con *Phytophthora capsici* y *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* (*Phytophthora parasitica*) para su control, utilizando distintos procedimientos de desinfección del suelo, han motivado la evaluación de vías alternativas utilizando plantas injertadas sobre porta-injertos resistentes. Esta técnica goza de un éxito importante para el control de otros patógenos del suelo y es una técnica compatible con la producción ecológica. Por ejemplo, en el control del virus del cribado (MNSV) en melón y sandía o en el control de *P. parasitica* en tomate. Siguiendo esas orientaciones existen en el mercado, actualmente, patrones que se preconizan con resistencias a patógenos que, a veces, no están suficientemente evaluados. Este hecho ha motivado el trabajo que se resume en esta comunicación.

Se evaluaron los porta-injertos comerciales de pimiento Oscos (Atlante), Tesor y AR 96040 por su resistencia a una cepa de *P. capsici* y a otra de *P. parasitica*. Los ensayos se hicieron en cámara climatizada (23-26°C, 14 horas de luz/día y luminosidad 12000 lux). Las plantas crecieron en sustrato de vermiculita (desinfección en autoclave, 1 hora a 120°C). El inóculo se añadió al sustrato como una suspensión de propágulos de los hongos. Los resultados muestran cómo ninguna de las dos especies fue capaz de enfermar al porta-injertos AR 96040. En el caso de *P. capsici*, AR 96040 y Tesor presentaron diferencias estadísticamente significativas con Oscos, que se comportó próximo a los testigos (cv Del Piquillo y cv Sonar), sensibles a ambas especies de

Phytophthora. En el caso de *P. parasitica*, esta sensibilidad no fue tan clara.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, *Capsicum* sp., *Oomicetos*

INTRODUCCIÓN

De manera genérica se ha supuesto que la enfermedad conocida como la seca o tristeza del pimiento estaba asociada a *Phytophthora capsici*, mientras que la podredumbre del cuello y raíces de las plantas del tomate lo estaba a *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* (*Phytophthora parasitica*). Esto es debido a que en las plantaciones de pimiento bajo invernadero se estableció, hace casi 30 años, la asociación de *Phytophthora capsici* a la “seca” o “tristeza” del pimiento, enfermedad limitante para el cultivo en el litoral mediterráneo (Tello y Lacasa 2004). Sin embargo, desde hace menos de un lustro, se ha encontrado con mucha frecuencia a *P. parasitica* asociada a plantas de pimiento con síntomas de tristeza (A. Lacasa, comunicación personal, 2012). Esta observación contradice el trabajo de Bartual et al. (1991) quienes afirmaban con sus investigaciones que *P. capsici* era el único agente causal de la “seca” o “tristeza” del pimiento en el Campo de Cartagena y en otros lugares de la costera murciana. En España, *P. parasitica* se ha descrito como patógena en pimiento en asociación con *P. capsici* en Galicia (Saavedra y Collar 1991, Pomar et al. 2001, Andrés-Ares et al. 2003) y Andalucía (Larregla 2003). Bartual et al. (1991) ya mencionaban, por otra parte, como en los cultivos de pimiento de Toledo y Ciudad Real era *P. parasitica* la especie asociada. Situación plenamente demostrada para los pimentonales de Extremadura por Morales Rodríguez (2011), en los que la “seca” o “tristeza” del pimiento es causada por *P. parasitica*.

Por otra parte, los problemas que se plantean con *P. capsici* y *P. parasitica* para su control en pimiento, utilizando distintos procedimientos de desinfección del suelo, han motivado la evaluación de vías alternativas de manejo. Una de estas alternativas puede ser el empleo de plantas injertadas sobre porta-injertos resistentes. Esta técnica goza de un éxito importante para el control de otros patógenos del suelo, por ejemplo, en el control del virus del cribado (MNSV) en melón y sandía o en el control de *P. parasitica* en tomate (Pérez Vargas 2011). Siguiendo esas orientaciones existen en el mercado, actualmente, patrones que se preconizan con resistencias a patógenos que, a veces, no están suficientemente evaluados. Este hecho es tanto más importante por cuanto la práctica del injerto de pimiento sobre pimiento comienza a realizarse, por lo que sería conveniente conocer el comportamiento de los porta-injertos frente a ambas especies de

Phytophthora.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron los porta-injertos Oscos (antiguo Atlante), AR 96040 (ambos de Ramiro Arnedo) y Tesor (Nunhems) por su comportamiento a *P. capsici* (aislado Phy 78) y *P. parasitica* (aislado K06), con probada patogeneicidad en pimiento (Pérez Vargas 2011). Como testigos positivos se emplearon dos cultivares sensibles a *P. capsici* y *P. parasitica*, cv Del Piquillo (Ramiro Arnedo) y cv Sonar (Clause). Se inocularon 25 plantas de cada patrón/cultivar, distribuidas en cuatro macetas, con cada una de las dos cepas, dejando 6 plantas testigo en otra maceta sin inocular. Como sustrato se empleó vermiculita desinfectada en autoclave durante 1 hora a 120°C.

La inoculación se realizó por riego al sustrato cuando las plantas presentaron de 2 a 3 hojas verdaderas. El hongo creció en placas de Petri de 90 mm en medio de cultivo PDA (Patata, D-Glucosa, Agar). El inóculo se preparó triturando una placa donde crecía el hongo por cada 100 ml de agua. Se inoculó cada maceta regando con 50 ml de la suspensión de inóculo, aproximadamente 10^4 propágulos ml^{-1} . El ensayo se repitió espaciado tres veces en el tiempo.

Se evaluaron los síntomas en las plantas inoculadas durante 30 días en cámara de ambiente controlado, con un fotoperiodo de 14 horas de luz al día, temperatura entre 23-26°C y una intensidad luminosa de 12.000 lux. Tras este periodo de evaluación se calculó el índice de severidad de la enfermedad (ISE). Se asignó el valor 0 cuando las plantas no presentaron ningún síntoma, 1 cuando mostraban podredumbres en las raíces secundarias, 2 si la pudrición alcanzaba la raíz principal, 3 si se observaba necrosis en el cuello de la planta y 4 si esta moría durante el ensayo. La fórmula para obtener el valor es la siguiente: $(\text{clase de escala} \times \text{número de plantas}) \times 100 / (\text{número total de plantas} \times 4)$.

Para comprobar la eficacia de las inoculaciones, al final del periodo de ensayo se reaisló el patógeno de las macetas con la técnica de trampas vegetales, utilizando como tales pétalos inmaduros de clavel (Tello et al. 1991).

Los análisis realizados para las comparaciones entre porcentajes de plantas muertas e ISE consistieron en análisis de la varianza (ANOVA) factorial. Previamente, al tratarse de ANOVA paramétrico se comprobaron las asunciones de Normalidad y Homocedasticidad. Cuando los datos no cumplieron con la igualdad de varianza se sometieron al test no paramétrico de Kruskal-Wallis para conocer la diferencia en el

comportamiento entre porta-injertos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los datos señala al porta-injerto de pimiento AR 96040 como resistente a ambas especies de *Phytophthora*, al no morir ninguna planta durante el tiempo de ensayo de las dos repeticiones (Cuadro 1 y 2), al igual que en los testigos sin inocular. Sin embargo, algunas plantas del porta-injerto sí presentaban ligeros síntomas en sus raíces, lo que podría derivar en síntomas más graves a lo largo de un cultivo.

Cuadro 1. Porcentaje de plantas de pimiento muertas y el Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE) para *P. capsici*.

Porta-injertos	% Plantas muertas			Media ISE
	1ª Repetición	2ª Repetición	Promedio Repeticiones	
AR 96040	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	24,9 ± 6,8
Oscos	100 ± 0	92,2 a ± 8,9	96,1 a ± 7,1	98 ± 3,5
Tresor	43,4 ± 12,0	20,2 b ± 8,8	31,8 b ± 15,7	53,3 ± 27,7
Piquillo	100 ± 0	100 a ± 0	100 a ± 0	100 ± 0
Sonar	100 ± 0	88,0 a ± 8,0	94,0 a ± 15,7	98,5 ± 2,6
p-valor	0,00213*	0,0000	0,0000	0,00001*

El análisis de la varianza y el test de diferencias significativas proceden de la transformación angular ($\text{Arcsen}(\sqrt{\theta/1})$); siendo $\theta/1 = \% \text{ de plantas muertas}/100$). Test de mínimas diferencias significativas de Fisher (LSD). Las diferentes letras indican diferencia significativa al 95% mediante. * La significación entre porta-injertos ha sido obtenida mediante el test de Kruskal-Wallis.

Oscos resultó muy sensible a *P. capsici*, comportándose como los testigos susceptibles cv Del Piquillo y cv Sonar (Cuadro 1), en cuanto al porcentaje de plantas muertas. Sin embargo, con la inoculación de *P. parasitica*, aunque murieron plantas, teniendo en cuenta las dos repeticiones, hubo diferencias en el porcentaje de plantas muertas respecto a los testigos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de plantas de pimiento muertas y el Índice de Severidad de la Enfermedad (ISE) para *P. parasitica*.

Porta-injertos	% Plantas muertas			Media ISE
	1ª Repetición	2ª Repetición	Promedio Repeticiones	
AR 96040	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	23,6 a ± 6,6
Oscos	43,8 ab ± 7,9	4,1 b ± 8,3	24,0 b ± 22,5	41,1 a ± 30,9
Tresor	24,4 b ± 21,8	16,0 ab ± 13,6	20,2 b ± 17,4	38,9 a ± 20,4
Piquillo	48,7 ab ± 20,7	40,4 a ± 29,4	44,6 a ± 23,9	51,2 a ± 23,5
Sonar	56,3 a ± 18,3	32,1 a ± 13,8	44,2 a ± 19,8	53,9 a ± 25,6
p-valor	0,1142	0,0302	0,0338	0,3055

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

El comportamiento del porta-injerto Tresor también dependió de la especie de *Phytophthora* inoculada. Con *P. capsici* murieron plantas, aunque con diferencias estadísticamente significativas con respecto a Oscos y los testigos susceptibles. En el caso de *P. parasitica* no se presentaron diferencias con Oscos, aunque sí con los testigos susceptibles (Cuadro 2).

Respecto al ISE, en las inoculaciones con *P. capsici*, al no cumplir los datos la igualdad de varianza, las diferencias se obtuvieron con un test no paramétrico que no mostró diferencias entre Oscos y las variedades susceptibles, pero sí entre los anteriores y Tresor y AR96040 (Cuadro 1). Con *P. parasitica* no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los patrones ensayados y los testigos susceptibles.

A la vista de los resultados obtenidos convendría ensayar el efecto de los patógenos en plantas más desarrolladas, para conocer si la resistencia a *Phytophthora* depende del estado de desarrollo de la planta (Morales Rodríguez 2011). Asimismo habría que valorar el comportamiento de las plantas injertadas en invernadero, donde las condiciones se asemejen a las de un cultivo comercial.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto Ministerio de Ciencia e Innovación/INIA: RTA2010-00038-C03-02

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrés-Ares JL, Rivera A, Fernández J. 2003. *Phytophthora nicotianae* pathogenic to pepper in northwest Spain. *Journal Plant Pathology* 85, 91-98.

Larregla del Palacio S. 2003. Etiología y epidemiología de la “Tristeza” del pimiento en Bizcaia. Su control. Tesis Doctoral. Universidad del País Vasco. Leioa. 756 pp.

Morales Rodríguez MC. 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.

Pérez Vargas M. 2011. Epidemiología y control de *Phytophthora parasitica* en cultivos de tomate y pimiento bajo abrigo en el Sureste Peninsular de España. Tesis Doctoral. Universidad de Almería. 211 pp.

Pomar F, Bernal MA, Collar J, Caramelo C, Gayoso C, Novo M, Prego C, Saavedra A, Silvar C, Merino F. 2001. A survey of “Tristeza” of pepper in Galicia and fungus causing the disease. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 20, 90-93.

Saavedra A, Collar J. 1991. Estudio de la tristeza del pimiento en Galicia. En: Memoria del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (La Coruña). 91-94.

Tello J, Lacasa A. 2004. Las enfermedades de origen edáfico y su control en los pimentonales del Campo de Cartagena. Una interpretación retrospectiva del sexenio 1979-1985. En: Desinfección de suelos en invernaderos de pimientos. (Eds) Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, 11-26 pp.

Tello JC, Varés F, Lacasa A. 1991. Manual de Laboratorio. Diagnóstico de Hongos, Bacterias y Nematodos Fitopatógenos. MAPA. Madrid. 485 pp