

Estudios epidemiológicos sobre la «tristeza» del pimiento en la zona del Valle Medio del Ebro (*)

C. PALAZÓN e I. PALAZÓN

Ante la gran importancia que el conocimiento de los diversos aspectos epidemiológicos puede tener a la hora de planificar la estrategia de lucha para el control de la «tristeza» del pimiento, se realiza el presente trabajo en el que se estudian y analizan aspectos importantes como la persistencia en el suelo de los patógenos *Verticillium dahliae* Kleb. y *Phytophthora capsici* Leon., la influencia de la temperatura en el desarrollo de los mismos, la transmisión de *V. dahliae* a partir de la semilla de plantas infectadas, la especificidad de las cepas de *P. capsici* y *V. dahliae* respecto a los principales cultivos que pueden intervenir en las rotaciones tradicionales del Valle Medio del Ebro y la presencia de patotipos de *V. dahliae*.

Los resultados obtenidos plantean dudas razonables sobre la eficacia que las rotaciones culturales puedan tener en el control o prevención de la enfermedad, así como la especial dificultad de *P. capsici* para conservarse en el terreno de cultivo de la zona considerada. Los trasplantes tempranos pueden favorecer las infecciones por *V. dahliae*, al concurrir unas condiciones de temperatura favorables al patógeno con un estado fenológico más receptivo a la infección.

C. PALAZÓN, I. PALAZÓN. Servicio de Investigación Agraria. D.G.A. Unidad de Protección Vegetal. Montañana, 176. 50016 Zaragoza.

Palabras clave: Pimiento, «tristeza», *P. capsici*, *V. dahliae*, epidemiología.

INTRODUCCION

La «Tristeza» o «Seca» del pimiento es la enfermedad que presenta la mayor trascendencia económica en el cultivo de esta especie hortícola en los países mediterráneos. Al responder el término «Tristeza» a una sintomatología característica y no a un agente patógeno concreto, la etiología de la enfermedad debe contrastarse en cada caso. Los síntomas que caracterizan al término «Tristeza» sobre plantas son fundamentalmente la pérdida de turgencia de los tejidos, lo que se traduce en marchitamientos parciales o totales, la menor intensidad del color verde en los órganos aéreos y el menor desarrollo global de la planta. Todo ello

parece demostrar que la «Tristeza» se halla estrechamente relacionada con la alteración del equilibrio hídrico de la planta.

Hongos relacionados con la «Tristeza» del pimiento

Desde que en 1922 LEONIAN describió en el Sur de EE.UU. a *Phytophthora capsici* como causante de un marchitamiento del pimiento, el hongo ha sido citado en numerosos países como agente patógeno de esta planta. En Italia, CURZI (1927) publicó los resultados de un estudio sobre la «Gangrena del pie» del pimiento, atribuyendo la enfermedad a *Phytophthora hydrofila* sp.nov. Posteriormente se demostró que esta última

(*) Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Comisión Interministerial para la Ciencia y la Tecnología (CICYT), a través del Proyecto CA84-0670.

especie era una sinonimia de *P. capsici* (TUCKER, 1931).

En el continente americano, tras la descripción de LEONIAN, la presencia de *P. capsici* sobre tallos, hojas o frutos de pimiento tardó en ser señalada de nuevo, siendo WEBER (1932) el que la describe en el estado de Florida. Ese mismo año se identifica el hongo en la República Argentina, donde causaba pérdidas de un 80 por ciento de la cosecha (LINDQUIST, 1932). Posteriormente la enfermedad ha sido citada en Venezuela (MALAGUTI y PONTIS, 1950) y Perú (BAZAN, 1958).

En los países mediterráneos europeos la aparición de la enfermedad ha sido muy irregular. Tras los trabajos de CURZI, en casi 40 años sólo existe la cita de SOREJANI (1936), en Grecia, que observó una necrosis del cuello del pimiento, causada por un *Phytophthora*, y que afectaba a casi el 70 por ciento de las plantas. No es hasta 1963 cuando MESSIAEN *et al.* citan la enfermedad por primera vez en Francia, concretamente en la zona de Vaucluse y Bouches-du-Rhône. Un año más tarde se describe la enfermedad en España (DAVILA, 1964), aunque fueron otros investigadores (ALFARO y VEGH, 1971) los que identificaron a *P. capsici* como causante de la misma. Finalmente, un trabajo de DEL RIVERO y ROIG (1969) estudiaba productos contra *P. capsici*, pero no establece la metodología utilizada en la caracterización del patógeno.

La incidencia de otros hongos distintos de *Phytophthora* que produzcan marchitamientos en el pimiento ha sido señalada por diversos autores. En EE.UU. RUDOLPH y SNYDER (1937) en California y DUNLAP (1937) en Connecticut indican el aislamiento frecuente de un hongo del género *Verticillium* a partir de tejidos vasculares de plantas con «Tristeza». Sin embargo, no es hasta 1939 cuando SNYDER y RUDOLPH consiguieron inocular con éxito el hongo aislado, confirmando la responsabilidad de *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth. en la manifestación de dicha enfermedad.

En Europa las citas son bastante confusas. Aunque en 1922 WOLLENBEWER incluyó a *Capsicum* sp. en la lista de huéspedes de *V. albo-atrum*, no aportó en sus trabajos ningún

dato experimental o científico para poder apoyar dicha afirmación. VAN DER MEER (1925) junto con DUFRENOY y DUFRENOY (1927), amplían la lista de WOLLENBEWER incluyendo a *Capsicum frutescens* Wild por razones no precisadas. Con anterioridad está citada la inoculación positiva de *V. albo-atrum* sobre pimiento, pero las cepas habían sido obtenidas de plantas de tomate (BEWLEY, 1921; BEWLEY, 1922; BEWLEY, 1923; BEWLEY, 1928). En Italia CURZI (1925) describe una enfermedad tipo «Tristeza» en pimiento, producida por un *Verticillium* que el autor denomina *V. tracheiphilum* Curzi. En este mismo país CASTELLANI (1963) describe a *V. albo-atrum* como el principal agente causante de traqueomicosis en pimiento, junto con *Fusarium vasinfectum*. Ambas especies podían incluso causar daños en semillero.

En España, la presencia de *V. albo-atrum* ha sido señalada en diferentes áreas. Sin embargo, destaca la mayor frecuencia de aislamiento de otra especie de *Verticillium*, *V. dahliae* Kleb., identificada por PALAZÓN *et al.* (1977) sobre pimiento y por TELLO (1984) sobre tomate, pimiento, alcachofa y diversas Cucurbitáceas. Aunque durante mucho tiempo, e incluso en la actualidad, se ha discutido la diferenciación taxonómica de *V. albo-atrum* y de *V. dahliae*, la tendencia es a considerarlas como especies distintas en base a diferencias morfológicas, fisiológicas y serológicas y a su gama de plantas susceptibles (JIMÉNEZ DÍAZ *et al.*, 1984).

A pesar de que algunos autores (SNYDER y RUDOLPH, 1939; BAZÁN, 1958; CASTELLANI, 1963; DAVILA, 1964; PALAZÓN *et al.*, 1978) han citado a algunas especies del género *Fusarium* como posibles responsables de la «Tristeza», sólo en raras ocasiones han logrado inocular con éxito el patógeno. ALFARO y VEGH (1971), en el apartado que corresponde al agente patógeno y su aislamiento, señalan que con frecuencia existen proliferaciones micelianas en las zonas necrosadas de las plantas afectadas por «Tristeza» y que muy a menudo estas proliferaciones se corresponden con *Fusarium* sp. Posiblemente esta circunstancia ha motivado que se atribuya a este género la responsabilidad de la enfermedad.

Alteraciones fisiológicas relacionadas con la «Tristeza» del pimiento

En este aspecto debe considerarse el posible efecto de condiciones edáficas adversas sobre la producción de determinados síntomas relacionados con la «Tristeza». Entre estos posibles factores adversos destacan la salinidad y la asfixia radicular.

En lo referente a salinidad, el pimiento constituye un cultivo muy sensible a las sales. BERNSTEIN (1970) señala reducciones de la producción de un 25 por ciento con niveles de salinidad del orden de 3 mmhos/cm. Sin embargo, los síntomas producidos por un exceso de sal suelen implicar casi exclusivamente enanismo, amarilleo y necrosis que se inician en el borde del limbo foliar. De ellos, el enanismo puede ser considerado síntoma directamente relacionado con algunos tipos de «Tristeza», mientras que el amarilleo de las hojas es una característica general para numerosas alteraciones, tanto de tipo patogénico como fisiológico.

El caso de la asfixia radicular es diferente. Numerosas referencias indican una elevada sensibilidad del pimiento a condiciones anaerobias en su sistema radicular (ANÓNIMO, 1968 a; MATA y GARIBALDI, 1980). Existen además casos frecuentes en muchos cultivos que relacionan ataques fúngicos con situaciones de «stress» de la planta por exceso de agua. Además, las características de los suelos de las zonas españolas productoras de pimiento y las características de riego por surcos con un coste del agua relativamente reducido, al menos en el Valle Medio del Ebro, hace que el agricultor aplique con frecuencia dosis de riego elevadas y cadencias de riego con turnos reducidos, lo que puede favorecer condiciones asfixiantes para un cultivo tan sensible como el pimiento. Así, MATA y GARIBALDI (1980) obtenían un 18,9 por ciento de plantas afectadas por «Tristeza» a los 24 días de iniciar la aplicación de riego en surcos con dosis elevadas y cadencia de 3 a 6 días. A los 50 días, el número de plantas afectadas alcanzaba el 95 por ciento. En todos los casos se comprobó la ausencia de organismos patógenos.

La sintomatología descrita para la «Tristeza» producida por asfixia radicular incluye

desarrollo reducido y amarilleamiento difuso en el sistema aéreo, mientras el sistema radicular presenta hipertrofias lenticelares blanco-amarillentas en la zona del cuello y una suberificación muy marcada de las raíces principales que, en estados más avanzados, se traduce en necrosis de raíces y raicillas que pueden alcanzar al mismo cilindro central de las mismas (fig. 3.3). La planta puede reaccionar produciendo un engrosamiento y emisión de raíces adventicias por encima de las partes afectadas.

Etiología de la enfermedad

Los estudios etiológicos realizados por PALAZÓN (1988) han permitido determinar a los patógenos *Phytophthora capsici* Leon. y *Verticillium dahliae* Kleb., así como la asfixia radicular agentes responsables de alteraciones que se pueden denominar por su especial sintomatología dentro de lo que comúnmente se conoce como «Tristeza». El Cuadro 1 recoge un resumen comparativo de los síntomas que caracterizan a la «Tristeza» producida por las diferentes causas citadas (figs. 1, 2 y 3).

EPIDEMIOLOGIA DE LA «TRISTEZA» DEL PIMIENTO

Si se considera que se conoce la «Tristeza» desde primeros de siglo, no puede menos de extrañar la limitada cantidad de referencias sobre la epidemiología de la enfermedad, tanto para *P. capsici* como para *V. dahliae*, aunque en esta última especie el mayor número de plantas hospedantes facilita la existencia de citas que puedan ser adaptadas al cultivo del pimiento. En el caso de *P. capsici*, SCHLUB (1983) recoge específicamente esta escasez antes de iniciar sus importantes estudios epidemiológicos sobre este hongo.

En todo estudio epidemiológico existen una serie de puntos comunes que deben ser abordados de una manera global en mayor o menor profundidad. Estos puntos comunes para cada patógeno son: el hábitat, la conservación en ausencia del cultivo huésped, la diseminación de los propágulos del hongo,



Fig. 1.—Sintomatología de la «Tristeza» producida por *P. capsici*.

1. Los ataques se producen por líneas.
2. Marchitamiento brusco y total.
3. Necrosis en zona del cuello.
4. Necrosis en zona próxima a 1.^a horquilla.
5. Micelio en el interior de frutos infectados.
6. Necrosis en ápice radicular.
7. Aspecto final de una planta infectada.

Cuadro 1.—Caracteres diferenciales de la «Tristeza» del pimiento provocada por *Phytophthora capsici* (fig. 1), por *Verticillium dahliae* (fig. 2) y por asfixia radicular (fig. 3)

<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	Asfixia de raíces
Marchitamiento brusco y total.	Marchitamiento progresivo, a veces unilateral.	Marchitamiento progresivo total.
Defoliación escasa o nula. Las hojas se secan sin caer.	Defoliación acusada en algunos casos. Las hojas, aún verdes, caen prematuramente, comenzando por las más jóvenes.	Defoliación irregular. Las hojas amarillean en su conjunto antes de secarse y de caer.
No hay oscurecimiento de los haces vasculares.	Oscurecimiento de los haces vasculares.	Desecación del cilindro central del tallo. Elasticidad del mismo.
Zona próxima al cuello necrosada exteriormente, con constricción.	No se aprecian nunca necrosis exteriores.	Necrosis de la zona radicular, con suberificación y descomposición de tejidos, sobre todo en raicillas.
Ataque por líneas.	Ataque por rodales.	Ataque por rodales.
A nivel de parcela, aparición tardía de síntomas, pero con progresión muy rápida (7-10 días).	A nivel de parcela, aparición más precoz de los síntomas pero progresión más lenta (30 días).	Hipertrofia de lenticelas del cuello, con color blanco-amarillento.
Eventualmente, ataques en tallo o frutos y en el ápice radical.		Engrosamiento del cuello por encima de la zona necrosada y emisión de nuevas raíces.

las condiciones que rigen su desarrollo y, finalmente, sus relaciones con la planta huésped a nivel morfológico o fisiológico.

Hábitat de los agentes patógenos causantes de la «Tristeza» del pimiento

P. capsici forma parte de los *Phytophthora* telúricos y, como ellos, estrechamente relacionado con el grado de saturación hídrico del suelo. Sin embargo, responde a las condiciones de saturación formando esporangios más lentamente que *P. megasperma*, *P. cam-bivora* y *P. parasitica* (DUNIWAY, 1983).

Es una creencia generalizada que los *Phytophthora* se ubican predominantemente en las capas superficiales del suelo. En este sentido WESTE (1983), trabajando con *P. cinnamomi*, demostró que por debajo de los 25 cm. la presencia del hongo era nula. Sin embargo, él mismo reconoce que las especies de *Phytophthora* pueden ser aisladas a cualquier profundidad en la que exista crecimiento de raíces.

V. dahliae ha sido detectado a profundidades de 50-80 cm. MERCIER (1970). Sin embargo, en un detallado estudio sobre *V. albo-atrum*, WILHELM (1950) trabajando sobre 20 muestras de suelo, encontró a la citada especie con la distribución de frecuencias que muestra el Cuadro 2.

Esto muestra que *Verticillium* puede encontrarse prácticamente a cualquier profundidad del suelo, aunque sea en los primeros

Cuadro 2.—Distribución en el suelo de *Verticillium albo-atrum* en función de la profundidad (según WILHELM, 1950)

Profundidad en cm.	Nº de muestras sobre veinte con <i>V. albo-atrum</i>
0 - 15	19/20
15 - 30	19/20
30 - 45	10/20
45 - 60	10/20
60 - 75	8/20
75 - 90	3/20



Fig. 2.—Sintomatología de la «Tristeza» producida por *Verticillium dahliae*.

1. Distribución irregular de los ataques.
2. Marchitamiento progresivo, a veces unilateral.
3. Oscurecimiento del xilema.
4. Defoliación acusada. No hay lesiones en cuello.
5. Enanismo provocado por infecciones tempranas.
6. Distribución irregular de las infecciones sobre el mismo pie. Unilateralidad.



Fig. 3.—Sintomatología de la «Tristeza» producida por asfixia.

1. Los ataques se concentran en rodales o zonas con mal drenaje.
2. No hay lesiones en cuello. Disminución del volumen radicular.
3. Descomposición total de la raíz. Agrietamiento. Suberificación. Pérdida de las raíces adventicias.
4. Reproducción artificial de síntomas en raíz, mediante aportes excesivos de agua.

30 cm., donde su presencia sea más importante en frecuencia e importancia del inóculo existente (WILHELM, 1950). Aunque el citado autor refiere su trabajo a *V. albo-atrum*, la existencia de microesclerocios permite suponer que se trata de *V. dahliae*.

Conservación de los patógenos en ausencia del cultivo

En este apartado debe considerarse la gama de plantas hospedantes de cada patógeno, la capacidad de persistencia en el

suelo de las distintas formas de cada hongo y su capacidad competitiva ante la elevada micostasis que se produce en la rizosfera de las plantas.

Phytophthora capsici. En general, la persistencia sobre el terreno de *P. capsici* es muy inferior a la de *V. dahliae*. Además del pimiento, *P. capsici* ha sido citado sobre tomate, berenjena, melón, sandía, pepino, calabaza y calabacín (BEYRIES *et al.*, 1965), e incluso, sobre macadamia y papaya (ARAGAKI y UCHIDA, 1978). Sin embargo, de los cultivos citados, sólo el tomate y el pimiento son utilizados de forma regular en las rotaciones del Valle del Ebro. En lo que respecta a las formas holomórficas del hongo, los trabajos de ANSANI y MATSUOKA (1983 a) muestran que a 0-10 y 20 cm. de profundidad, el período máximo de supervivencia de micelio y esporangios en invernadero no rebasa los 120 días, mientras que, en Méjico, RAMÍREZ y ROMERO (1980) comprobaron una permanencia máxima de 7 días en un suelo sin regar y un máximo de 1 mes sobre semillas. A estas conclusiones llega igualmente SCHLUB (1983) cuando afirma que, con una humedad relativa del 47 por ciento, la supervivencia de los esporangios o del micelio en los tejidos foliares no alcanza una semana.

Sin embargo, *P. capsici* forma parte de las especies heterotálicas de *Phytophthora* y presenta dos tipos conjugados A1 y A2 en su compatibilidad (GALINDO y GALLEGLY, 1960; SAVAGE *et al.*, 1968). Cuando, en virtud de ser cepas compatibles, se producen oosporas (fig. 4), la capacidad de conservación del hongo se incrementa notablemente. En un trabajo sobre *P. capsici* utilizando cepas compatibles, se ha conseguido una persistencia en suelo de 6-10 meses con las oosporas obtenidas (RAMÍREZ y ROMERO, 1980).

Verticillium dahliae. En general la persistencia de esta especie sobre el terreno es muy superior a la de *P. capsici*, existiendo citas de ataques de *V. dahliae* tras 10 años de barbecho total (VIGOUROUX *et al.*, 1972 a). En un trabajo a partir de una colección de cepas de *Verticillium*, WILHELM (1955) comprobó una persistencia de 12-13 años en cultivo y de 14 años en el suelo en

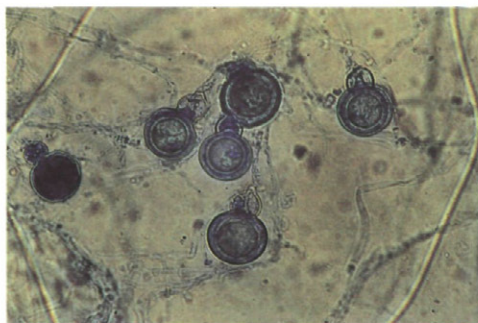


Fig. 4.—La formación de oosporas de *P. capsici* incrementa la capacidad de conservación del hongo en el terreno.

ausencia de huéspedes, a partir de los microesclerocios.

Todas las referencias coinciden al señalar a los microesclerocios como los principales elementos de conservación del hongo en el suelo (fig. 5). Así, ISAAC (1967) indica una supervivencia de 6 a 14 años de estos órganos en rotaciones normales e incluso de 4 años en ausencia total de huéspedes en la rotación. Esta supervivencia es también señalada por PEGG (1974) y por JIMÉNEZ DÍAZ *et al.* (1984). Estos últimos indican que no tiene mucha importancia que los microesclerocios se encuentren libres o incluidos en los tejidos. Por el contrario, PEGG (1974) señala que las enmiendas orgánicas reducen los microesclerocios viables y que la introducción de rotaciones de cebada en la alternativa con algodón ayudan a reducir la

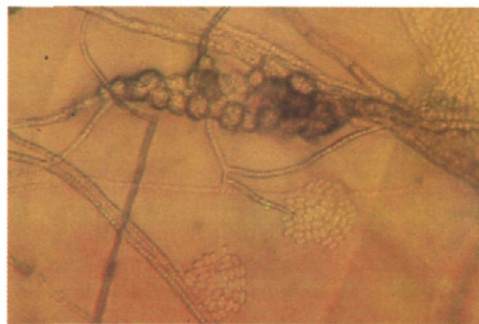


Fig. 5.—Microesclerocios de *V. dahliae* iniciando su formación, lo que posibilita su conservación en el suelo durante largos períodos.

enfermedad. Este mismo autor indica que no ha encontrado fenómenos de dormancia en los microesclerocios, pudiendo germinar en cuanto las condiciones ambientales les son favorables.

En general, *V. dahliae* posee reducida capacidad saprofitica y competitiva ante la micostasis del suelo. Esto explica su rápida disminución en este hábitat y su localización como habitante superficial de las raíces en su fase saprofitica (ISAAC, 1967), así como la corta viabilidad de los conidios y del micelio que, en general, es de unas pocas semanas (PEGG, 1974).

Un factor que debe tenerse en cuenta al considerar la posibilidad de conservación de *V. dahliae* en el suelo es la especificidad poco marcada de las diferentes cepas, exceptuando las cepas aisladas sobre pimiento y sobre menta (MATTA *et al.*, 1980), y la amplia gama de huéspedes de esta especie, recogida por el trabajo de ENGELHARD (1957). En lo que a España respecta, el patógeno ha sido identificado sobre pimiento, berenjena, tomate, alcachofa, alfalfa, algodón, patata, fresón, almendro, albaricoquero, melocotonero, rosal, olivo, *Prunus webbii*, girasol, cártamo y colza. Existen además citas de *V. albo-atrum* sobre soja que, en virtud del confusionismo entre *V. albo-atrum* y *V. dahliae*, podrían ser en realidad ataques de la última especie.

La supervivencia del patógeno en estos cultivos puede ser asegurada a partir de las malas hierbas presentes en las parcelas, que actúan como verdaderos reservorios de *V. dahliae* (ISAAC, 1967). En este sentido VIGOUROUX *et al.* (1972 a) han comprobado la presencia de *V. dahliae* sobre las especies *Cirsium arvense*, *Taraxacum officinale*, *Eriogon canadense*, *Urtica urens*, *Cappacuminumis*, *Solanum nigrum*, *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus silvester* y *Senecio vulgaris*. Por su parte PEGG (1974) incluye como huéspedes de *V. dahliae* a *Abutilon theophrasti*, *Xanthium chinense* y *Ambrosia artemisiifolia*. Algunas de estas especies son frecuentes adventicias en los cultivos de regadío en las diferentes zonas españolas.

En un nuevo estudio del problema de las malas hierbas como posibles albergantes de

V. dahliae, EVANS y GLEESON (1973) recogen que pueden ser afectadas especies de las familias *Chenopodiaceae*, *Labiatae*, *Compositae*, *Papilionaceae*, *Convolvulaceae*, *Malvaceae*, *Gramineae* y *Solanaceae*. En este sentido debe ser motivo de mayor preocupación el hecho de que algunas plantas que no se consideran huéspedes de *V. dahliae*, como los cereales, puedan servir de soporte al hongo, que se instala superficialmente en las raíces de las mismas, formando microesclerocios inmediatamente después de penetrar, aunque sin progresar por el sistema vascular (ISAAC, 1967; VIGOUROUX *et al.*, 1972 a).

Estos últimos autores han comprobado que las cepas aisladas de malas hierbas son tan virulentas sobre plantas cultivadas como las cepas aisladas de éstas. Igualmente han podido establecer que el paso repetido por plantas adventicias de las cepas obtenidas de plantas cultivadas no modifica los caracteres patogénicos de las mismas.

Diseminación de los agentes causantes de la «Tristeza»

Phytophthora capsici: Ya en sus primeros trabajos sobre *P. capsici* LEONIAN (1922) demostró la posibilidad de transmisión del patógeno por la semilla, aunque indicaba que, por corresponder a frutos atacados por el hongo, los agricultores solían evitar el uso de esta semilla para siembra (fig. 1.5).

Sin embargo, la opinión más generalizada sobre el método de dispersión de *P. capsici* es la del agua de riego (CASTELLANI, 1963; BEYRIES *et al.*, 1965; DEL RIVERO y ROIG, 1969; MERCIER, 1970; ALFARO y VEGH, 1971; GARCÍA y MIGUEL, 1978; TUSET, 1977; SCHLUB, 1983). Indudablemente, el carácter acuófilo del género *Phytophthora* y la presencia de zoosporas reniformes, móviles en medio líquido gracias a dos flagelos que parten del lado cóncavo, son razones que apoyan esta teoría (fig. 6). Igualmente se han indicado referencias de ataques muy fuertes en parcelas regadas con aguas procedentes de zonas infectadas, mientras parcelas vecinas, regadas con agua de pozo, no presentaban la enfermedad. SCHLUB (1983) ha comprobado, incluso, la presencia de *P. capsici* a partir de las aguas obtenidas en las redes de drenaje.

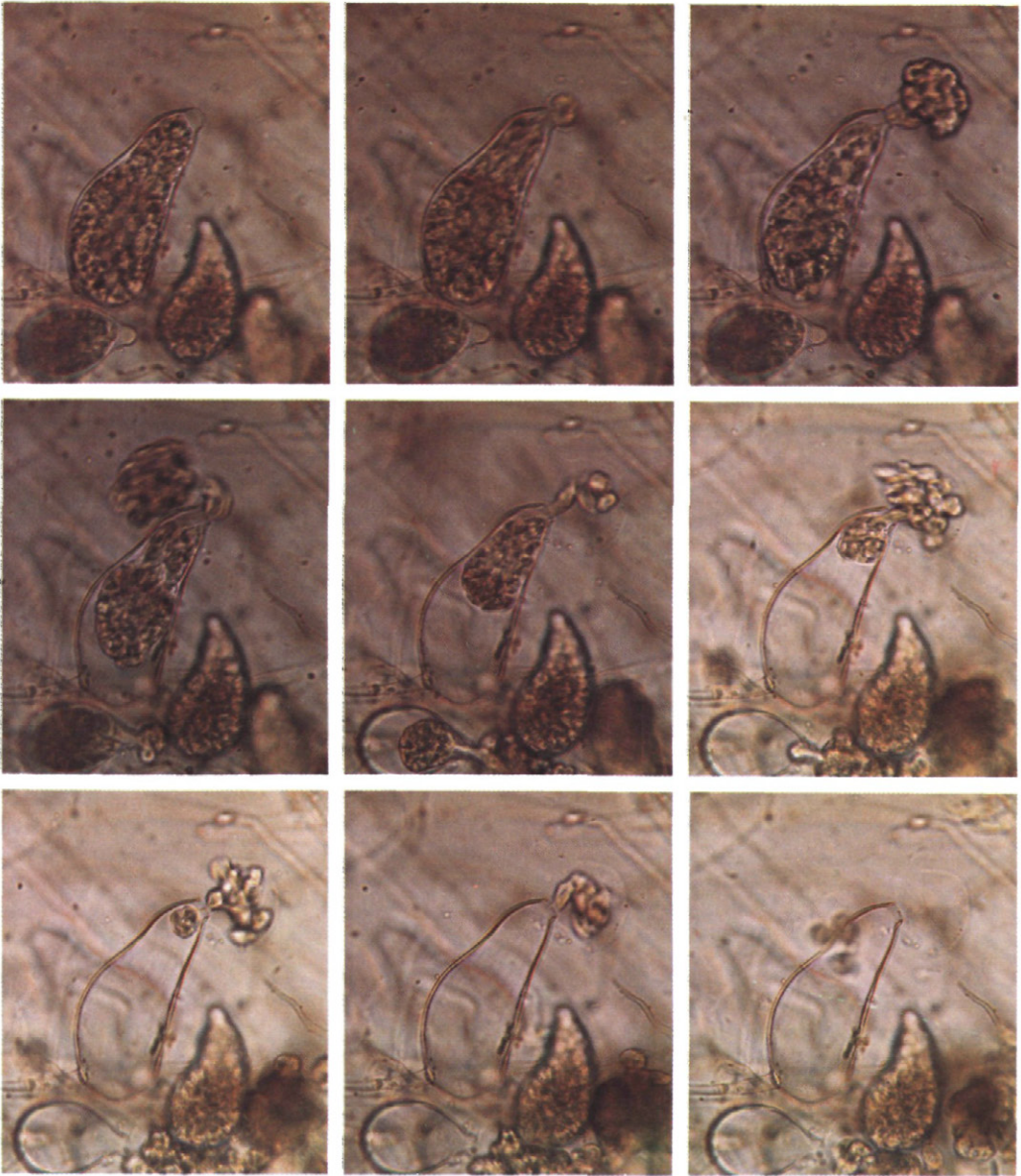


Fig. 6.—Secuencia de la liberación de las zoosporas de *P. capsici* en presencia de agua, facilitando la dispersión del hongo.

Este último autor señala igualmente como posible vía de diseminación, la salpicadura de las gotas de agua al chocar contra el suelo, que puede suponer dispersiones horizontales hasta de un metro de radio. En su

referencia de ataques de *P. capsici* en Venezuela, MALAGUTI y PONTIS (1950) señalan que con lluvias de cierta intensidad se generan ataques frecuentes sobre la parte aérea (fig. 1.4), mientras que con pluviometría

reducida los ataques se limitan a la zona del cuello (fig. 1.3). Por el contrario el viento, que puede jugar un papel importante en la dispersión de *Phytophthora infestans* y *P. phaseoli*, no parece tener influencia en la dispersión de *P. capsici*.

Finalmente, HICKMAN (1970) ha comprobado la acumulación de zoosporas de *P. capsici* alrededor de los ápices de las raíces de pimiento, emitiendo la teoría de una atracción de las mismas por mecanismos de quimiotaxis a partir de exudados radiculares tras conseguir reproducir el fenómeno utilizando capilares a los que incorporaba exudados o extractos de raíces. Este fenómeno no es exclusivo de *P. capsici*, pudiendo presentarse en otras especies de *Phytophthora*, *Pythium*, *Aphanomyces* y *Oplidium*. CARLILE (1966) sugiere la existencia de quimiorreceptores específicos en la superficie de las zoosporas que incluso motivan la orientación del tubo germinativo durante la germinación de éstas. En el caso de *P. capsici*, las sustancias que pueden inducir esta respuesta son maltosa, glucosa, sacarosa, soluciones diluidas de ácido clorhídrico, sulfúrico o nítrico pero, sobre todo, el ácido aspártico y el ácido glutámico (KATSURA y HOSOMI, 1963; citados por HICKMAN, 1970).

Verticillium dahliae: La diseminación de esta especie puede producirse por el agua de riego, el laboreo, el viento e incluso, en las especies leñosas, por los instrumentos de poda (JIMÉNEZ DÍAZ *et al.*, 1984). En algunos casos se ha demostrado la posibilidad de transmisión del patógeno por contacto entre raíces sanas y enfermas en las que el patógeno emerge desde el cilindro central (ISAAC, 1967). En zonas infectadas, PEGG (1974) ha comprobado la presencia de más de un millón de propágulos por gramo de suelo, señalando que tras 10 días de condiciones favorables, el número de propágulos de *V. dahliae* puede multiplicarse de 3 a 5 veces. Este hecho indica claramente las posibilidades de contaminación de un terreno mediante el desplazamiento por el viento de pequeñas partículas del suelo.

El mismo PEGG (1974) indica la posibilidad de una acción sinérgica entre *V. dahliae* y algunas especies de nematodos, como *Pratylenchus penetrans* y *Pratylenchus minyes* en

tomate y *Heterodera rostochiensis* en patata. Indudablemente, la movilidad de los nematodos que puedan portar conidios de *V. dahliae*, así como la producción de heridas en las raíces, deben jugar un papel importante en la potenciación de la acción del hongo, al facilitarle la vía de entrada, siendo menos comprensible el posible efecto estimulante que los nematodos pueden producir en *V. dahliae*.

El carácter vascular y la incubación relativamente lenta de la enfermedad pueden motivar, en ocasiones, que la difusión del hongo por trasplante a partir de semilleros infectados pueda pasar desapercibida (MERCIER, 1970).

Condiciones de desarrollo de los hongos causantes de la «Tristeza»

Phytophthora capsici: El trabajo de SCHLUB (1983) citado con anterioridad permite aportar algunos datos fundamentales referentes al proceso de infección, que se recogen en el Cuadro 3.

La temperatura óptima de desarrollo del hongo oscila entre 21 y 31°C, con una disminución drástica a partir de esta temperatura (ALFARO y VEGH, 1971). En este sentido coincide el ya citado SCHLUB (1983), al afirmar que el mayor número de infecciones se obtiene a 23°C, siendo éstas muy reducidas a 15 y 31°C. Abundando en estos límites, MALAGUTI y PONTIS (1950) señalan como la gama de temperaturas más favorable a *P. capsici* a la comprendida entre los 22 y 29°C. NEWHOOK *et al.* (1978) establecen como característica importante en su clave de diferenciación de las especies de *Phytophthora* el buen crecimiento de *P. capsici* a temperaturas superiores a 35°C. En cuanto a temperaturas mínimas, ALFARO

Cuadro 3.—Duración de las diferentes fases del proceso de infección de *Phytophthora capsici* sobre pimiento, en condiciones óptimas de temperatura (según SCHLUB, 1983)

Germinación de esporangios	6-35 minutos
Penetración	1-4 horas
Incubación	3-6 días

y VEGH (1971) indican que a 5°C el hongo detiene completamente su desarrollo, muriendo a 0°C. En los límites superiores, a 38°C existe igualmente paralización del desarrollo, pero no muerte del hongo.

Por otra parte, ELENKOV y BAKHARIEVA (1975) demostraron que el exceso de nitrógeno y calcio en el suelo incrementaba la «Tristeza» por *P. capsici*, mientras que el exceso de potasio la reducía. El hongo es igualmente afectado negativamente por pH ácidos (MUCHOVEJ *et al.*, 1980), aunque en este último punto parece ser un factor decisivo la inhibición del hongo por los iones de aluminio liberados a pH bajos.

Verticillium dahliae: En los trabajos de ISAAC (1967) se establecen como condiciones óptimas de infección los 22,5°C y presencia abundante de agua. Esta influencia de la humedad del suelo es también recogida por JIMÉNEZ DÍAZ *et al.* (1984), aunque elevan el punto de temperatura óptima indicado por Isaac a 24°C, con una gama favorable entre 21 y 27°C. La adaptación de las cepas a las condiciones climáticas puede jugar un papel importante en la explicación de este hecho. Los citados autores señalan la existencia de cepas en Andalucía con un óptimo térmico de 27°C.

En trabajos anteriores (PALAZÓN, 1988) se cita que una de las diferencias fundamentales entre *V. dahliae* y *V. albo-atrum* es que la primera presenta crecimiento, aunque reducido, a 30°C, cosa que no tiene lugar con la segunda. A 15°C el crecimiento es muy reducido y se hace nulo a 33°C. En una gama de temperaturas tan amplia como la situada entre 18 y 30°C, la germinación de los microsclerocios puede tener lugar en 2-5 días, mientras que a 5°C el período necesario para la germinación de estos órganos rebasa los 30 días (PEGG, 1974).

En lo referente al fotoperíodo, existen indicaciones de que plantas de crisantemo, patata y tabaco sometidas a ciclos de días cortos, con fotoperíodo de 10 h., presentaban incidencias de la enfermedad muy superiores a las mantenidas con fotoperíodo de 16 h. (BUSCH y SCHOOLEY, 1970; BUSCH y EDINGTON, 1967; WRIGHT, 1969; citados por PEGG, 1974).

Todo esto motiva que, al efectuar aislamientos de *V. dahliae*, se obtengan respuestas irregulares, siendo difícil de aislar en cultivos leñosos durante los meses de verano. Igualmente explica las recuperaciones de plantas leñosas afectadas por Verticiliosis, cuando las condiciones climáticas son poco favorables al patógeno.

En este sentido GIL *et al.*, (1986) al estudiar el desarrollo de la enfermedad en el Valle Medio del Ebro, señalan que las temperaturas de junio en esta zona suelen ser muy favorables al hongo, que las de julio y agosto son demasiado elevadas para éste, y que de nuevo las de septiembre son óptimas para *V. dahliae*, coincidiendo con el engrosamiento y maduración del fruto y la máxima superficie foliar del pimiento, lo que motiva que el hongo se muestre en esta época en toda su intensidad sobre el cultivo. Sin embargo, existen referencias de que la Verticiliosis sobre tomate sólo se presenta en plantas que han comenzado a tener frutos maduros y, en consecuencia, es más importante en variedades de fructificación precoz (MAS *et al.*, 1965). Esto sugiere que, además de las condiciones climatológicas, existe una cierta influencia del estado fisiológico de la planta, pudiendo también jugar un papel el fotoperíodo, tal y como se ha indicado anteriormente.

Relaciones de los hongos causantes de la «Tristeza» del pimiento con la planta hospedante

Es el apartado en que se ha encontrado menor número de referencias. Algunos aspectos de la relación huésped-patógeno han sido recogidos por PALAZÓN (1988) yendo ligados a los conceptos de resistencia.

En el caso de *P. capsici*, ANSANI y MATSUOKA (1983 a) comprobaron que se necesitaban al menos 10.000 zoosporas por planta para causar la muerte de éstas y que la incorporación al suelo de 16.000 zoosporas por gramo de suelo seco producía la muerte de todas las plantas de pimiento trasplantadas al mismo. Por su parte, SCHLUB (1983) comprobó que el número de plantas trasplantadas de pimiento que sobrevivían a una infección de *P. capsici*, era del 84, 55

y 18 por ciento respectivamente para concentraciones del hongo de 1, 5 y 25 propágulos por gramo de suelo. Esto indica una relación cuantitativa directa entre la concentración del hongo en el suelo y la mortalidad de las plantas.

La influencia de la concentración del inóculo en las infecciones por *V. dahliae* ha sido estudiada por PALAZÓN (1988), estableciendo el umbral mínimo de actividad infecciosa para valores comprendidos entre 10.000 y 100.000 conidios por ml. cuando se inocula por el procedimiento de inmersión durante 3 minutos. PEGG (1974) comprobó que la infección con *V. dahliae* precisa de una concentración mínima de 50.000 conidios o de 100 microesclerocios por gramo de suelo. El mismo autor recoge las dos teorías sobre la acción patógena del hongo:

- a) Oclusión vascular por la producción de micelio en los vasos conductores.
- b) Toxemia por producción de toxinas por parte del hongo. Esta última es más actual, pero no ha sido definitivamente comprobada.

Efectivamente, CARR (1971) aisló tres fracciones tóxicas a partir de *V. albo-atrum* en alfalfa y existen abundantes referencias de producción de enzimas líticos por *Verticillium* spp., especialmente poligalacturonasas (PG), celulasas y pectinasas inespecíficas (BELL *et al.*, 1971). La acción de estas enzimas se traduciría en una acumulación de peróxido de hidrógeno hasta niveles fitotóxicos o en una necrosis de las células parenquimáticas vasculares. Sin embargo, tampoco puede olvidarse la producción de polisacáridos y de lipopolisacáridos (KEEN *et al.*, 1970) que ejercen una oclusión de los vasos del xilema. Esta oclusión puede ser motivada por la formación de tilosis, la secreción de gomas en el interior de los vasos del xilema o por ambos procesos al mismo tiempo (TALBOYS, 1964). Posiblemente las acciones oclusiva y tóxica sean acumulativas (figs. 2, 3).

En todo caso, el hongo es capaz de penetrar por las raíces de las plantas y por los tejidos aéreos de algunas plantas herbáceas, progresando interiormente hasta los ápices terminales de los tallos, de donde se aísla fácilmente. El período entre la penetración del patógeno y la manifestación de

los primeros síntomas, que algunos denominan incubación, puede variar entre 15 días y varios años según el tipo de planta, siendo muy lenta en las plantas leñosas (JIMÉNEZ DÍAZ *et al.*, 1984). En el caso del pimiento este período oscila entre 15 y 30 días.

Puntos a determinar en lo referente a la epidemiología de las especies fúngicas causantes de la «Tristeza» del pimiento

De lo dicho anteriormente puede deducirse el amplio campo que presenta el estudio epidemiológico de los dos hongos causantes de la «Tristeza», deduciéndose la gran importancia que el conocimiento de los diversos aspectos epidemiológicos puede tener a la hora de planificar la estrategia de lucha en una parcela con un historial y condiciones de clima y cultivo bien determinadas. Por ello, este trabajo, en un intento de abordar los puntos con una mayor incidencia práctica, estudiará los puntos siguientes:

- A) Persistencia de los patógenos en el suelo.
- B) Comprobación de la presencia durante el período de cultivo, de propágulos de *P. capsici* en el agua de riego. Aunque citada por muchos autores, no se conoce ningún trabajo específico sobre el tema.
- C) Influencia de las temperaturas en el desarrollo de ambos patógenos, ante la posibilidad de adaptaciones a las condiciones continentales del clima del Valle Medio del Ebro.
- D) Comprobación de la trasmisión de *V. dahliae* a partir de la semilla de plantas infectadas.
- E) Especificidad de las cepas de *P. capsici* y de *V. dahliae* respecto a las principales especies que pueden intervenir en las rotaciones tradicionales del Valle Medio del Ebro.
- F) Establecimiento de la presencia de patotipos en *V. dahliae*, ante la aparición de síntomas de enanismo y defoliación producidos por diferentes cepas.

Los aspectos estudiados agrupan numerosas y reducidas experiencias, algunas de ellas trabajos preliminares sin planteamiento esta-

dístico, que se exponen en los apartados sucesivos.

MATERIAL Y METODOS

Capacidad de persistencia en el suelo de las especies fúngicas responsables de la «Tristeza»

Phytophthora capsici

En el caso de *P. capsici* se utilizaron parcelas infectadas de modo natural y que mostraron una elevada incidencia de la enfermedad para comprobar la existencia de propágulos contaminantes al año siguiente, mediante plantación en las mismas de pimiento «Morrón» standard y comprobación del grado de ataque durante toda la fase del cultivo. Las plantas infectadas del cultivo anterior fueron incorporadas al terreno, mediante las labores convenientes, tratando de asegurar con ello una mayor conservación del hongo en el terreno. Cada parcela comportó un mínimo de cincuenta plantas. Paralelamente, se efectuaron pruebas de detección mediante el método de cebo por pétalos de clavel (PONCHET *et al.*, 1972).

Independientemente de lo anterior y teniendo en cuenta la mayor persistencia en el suelo de las oosporas respecto a los esporangios y micelio del hongo, se procedió a estudiar la compatibilidad entre las cepas existentes en la micoteca, emparejando cultivos sobre medio Malta-Agar, enfrentándolos a una distancia de 30-35 mm. e incubando posteriormente en la oscuridad a 24°C. Por ignorarse de partida el tipo sexual de las principales cepas españolas utilizadas en este trabajo (Cuadro 5), se incluyó entre los cruzamientos un emparejamiento con cepas búlgaras, de origen y tipo conocido (A1). Estas cepas búlgaras, correspondían a las siglas N2, 47(1), 51(2), 54(1), 72(1) (Cuadro 5), siendo suministradas por el Dr. VITANOV, del Plant Protection Institute de Kostinbrod (Bulgaria), habiendo sido aisladas todas ellas a partir de pimiento.

Igualmente se contrastó el tipo de compatibilidad de las cepas mejicanas que existían en la colección, designadas como 8300, 8302, 8303 y 6554, aisladas sobre pimiento

y suministradas por el INIA de Méjico. En todos los casos se establecía la compatibilidad mediante la observación microscópica de la zona límite entre las colonias apareadas, a los 10, 20 y 30 días, comprobando la presencia de oosporas.

Verticillium dahliae

Respecto a *V. dahliae*, los trabajos realizados se basan en una encuesta desarrollada en 1985 por el Instituto Técnico y de Gestión del Cereal, S. A., abarcando tres localidades navarras: Lodosa, Falces y Cortes de Navarra, cuya tradición en el cultivo del pimiento las hace constituir una muestra típica de éste en el Valle Medio del Ebro. Las características de la prospección se resumen en el Cuadro 4.

Cuadro 4.—Características de la prospección sobre la «Tristeza» del pimiento efectuada en tres localidades de Navarra

Término municipal	Explotaciones prospectadas	Superficie prospectada
Lodosa	49	15 ha.
Falces	21	13 ha.
Cortes de Navarra	6	5 ha.

El método de muestreo utilizado consistió en la visita de fincas distribuidas homogéneamente por el término municipal y, en cada una, controlar el 10 por ciento de las líneas totales, contando las plantas afectadas y determinando la causa de la enfermedad. Una encuesta permitía establecer los antecedentes del cultivo, en colaboración con el agricultor y la Cooperativa respectiva. Para la determinación de la casuística de la «Tristeza» se utilizó el Cuadro 1 de sintomatología diferencial entre las diversas causas de la enfermedad.

Presencia de *Phytophthora capsici* en el agua de los principales canales del Valle Medio del Ebro

Al objeto de evaluar la contaminación por *Pythiaceae* de las aguas de los canales

más importantes del Valle del Ebro se acudió a la realización de detecciones mediante el método de los cebos a base de fresas verdes (MOLOT y NOURRISEAU, 1972) en 1979 y el de cebos a base de pétalos de clavel (PONCHET *et al.*, 1972) en 1980.

En las pruebas se trataba de averiguar no sólo el grado de contaminación de las aguas, microbiológicamente hablando, sino la eficacia de las fresas verdes y de los pétalos de clavel como cebos de *P. capsici*. Este último ha sido señalado posteriormente como un método adecuado por TSAO (1983) y TELLO (1984).

Para ello se recogieron tres muestras de agua en cada uno de los tres canales principales: el de Lodosa (Navarra), y los de Tauste e Imperial (Zaragoza). Las fechas de toma de muestras fueron el 28 de julio y el 4 de agosto en 1979 y 17 y 26 de julio en 1980. Cada muestra se introdujo en placa Petri a la que se incorporaron tres fresas próximas al envero, lavadas previamente con una solución de benomilo al 2 por ciento, o cinco pétalos inmaduros de clavel procedentes de capullos sin abrir, incubando a 22°C en estufa. En cada prueba se utilizó un testigo a base de agua destilada estéril.

Las observaciones se efectuaron a los 4-5 días de la toma de la muestra, estableciendo la presencia de micelio no tabicado y la presencia de esporangios de *Pythium* o de *Phytophthora* sobre cada fresa o pétalo de clavel.

Influencia de las temperaturas en la conservación y desarrollo de las cepas de hongos causantes de la «Tristeza»

Phytophthora capsici

En el caso de *P. capsici* se efectuaron controles del crecimiento sobre medio de cultivo PDA con 8 cepas, a las temperaturas de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35°C. Cada tratamiento comportó tres repeticiones, midiendo a los 4 días el diámetro en mm. de cada colonia. En los casos de crecimiento nulo, tras el control se pasaron las placas a estufa a 22°C para comprobar si la temperatura poseía efecto fungistático o fungicida.

Todas las cepas ensayadas habían sido

aisladas a partir de pimiento, correspondiendo a las siglas Ca, La, Da, S75, Me, B1, 8300 y 72 (1) (Cuadro 5).

Paralelamente se efectuaron pruebas de conservación del hongo mediante rondelas de cultivo en PDA introducidas en agua estéril y mantenidas a las temperaturas de -18 y 1°C. Cada seis meses se efectuaba un control de supervivencia mediante la siembra de cinco de las rondelas de cada tratamiento en medio PDA a 22°C. Como testigo se utilizaban cultivos sobre PDA de las cepas ensayadas, mantenidos en la micoteca del Servicio de Investigación Agraria de la D.G.A. a la temperatura standard de 15°C. Las cepas ensayadas fueron tres, correspondiendo a las siglas CA, LA y DA. La duración de esta fase del ensayo fue de dos años.

Verticillium dahliae

En el caso de *V. dahliae* se efectuaron controles del crecimiento sobre medio de cultivo PDA con 2 cepas a las temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C. Cada tratamiento comportó tres repeticiones, midiendo a los 20 días el diámetro en mm. de cada colonia. En los casos de crecimiento nulo, tras el control se pasaron las placas a estufa a 22°C para comprobar si la temperatura poseía efecto fungistático o fungicida.

Las cepas ensayadas habían sido aisladas sobre pimiento, correspondiendo a las siglas de VD-H5.ID y VD-D7.

Paralelamente, se efectuaron pruebas de conservación del hongo en agua estéril mediante adición a la misma de rondelas de cultivo sobre PDA, o de una suspensión de conidios del hongo. Las temperaturas ensayadas fueron -18 y 1°C. Cada seis meses se efectuaba control de supervivencia mediante siembra de cinco rondelas de cada tratamiento en medio PDA a 22°C. Como testigo se utilizaron cultivos sobre PDA de la cepa ensayada, que, en este caso fue VD-D7, mantenidos en la micoteca del Servicio de Investigación Agraria de la D.G.A. a la temperatura standard de 15°C. La duración de esta fase del ensayo fue de dos años.

Cuadro 5.—Denominación y características de los aislamientos de *Phytophthora capsici* utilizados. (Todos fueron aislados a partir de pimiento (*Capsicum annuum* L.))

Denominación	Origen localidad	Zona de donde se aisló	Observaciones
B1	Alagón (Zaragoza)	Tallo (zona próxima al cuello)	
Ca	Calahorra (La Rioja)	»	
Da	Montañana (Zaragoza)	»	
Ej	Ejea (Zaragoza)	»	
I	Montañana (Zaragoza)	»	Cultivo de invernadero
La	Alicante	»	Cultivo de invernadero de la variedad «Lamuyo»
Me	Medellín	Tallo (zona próxima al cuello)	
S75	Libano	»	Cedida por INRA (Montfavet-Francia)
72(1)	Bulgaria	Tallo (porción aérea)	Cedida por M. Vitanov
N2	»	»	»
47(1)	»	»	»
51(2)	»	»	»
54(1)	»	»	»
72(1)	»	»	»
6554	México	Tallo	Cedida por INIA (México)
8300	México	»	»
8302	México	»	»
8303	México	»	»

Para la comprobación del poder patógeno de estas cepas, transcurrido el período de conservación, se inocularon diez plantas de pimiento «Morrón I-224» por tratamiento, en estado de 4 hojas, mediante una inmersión de 3 minutos en una suspensión a la concentración de 100 millones de conidios por ml. y posterior riego de 5 ml. de esa suspensión, aplicado al cuello de la planta. El ensayo incluía un lote testigo de 10 plantas. A los 30 días se efectuó un control de plantas infectadas por *V. dahliae*, con síntomas claros de marchitez (fig. 7).

Transmisión por semilla de *Verticillium dahliae*

A partir de plantas de pimiento «Morrón» I-224 presentando fuertes ataques de *V. dahliae* se recolectaron semillas de los frutos existentes. Estas semillas se dividieron en dos grupos. El primero se desinfectó manteniéndolo durante un minuto en una disolución de hipoclorito cálcico a 60 g/l, con posterior enjuagado por tres pases sucesivos en agua destilada estéril. Una vez secadas las semillas fueron sembradas sobre medio

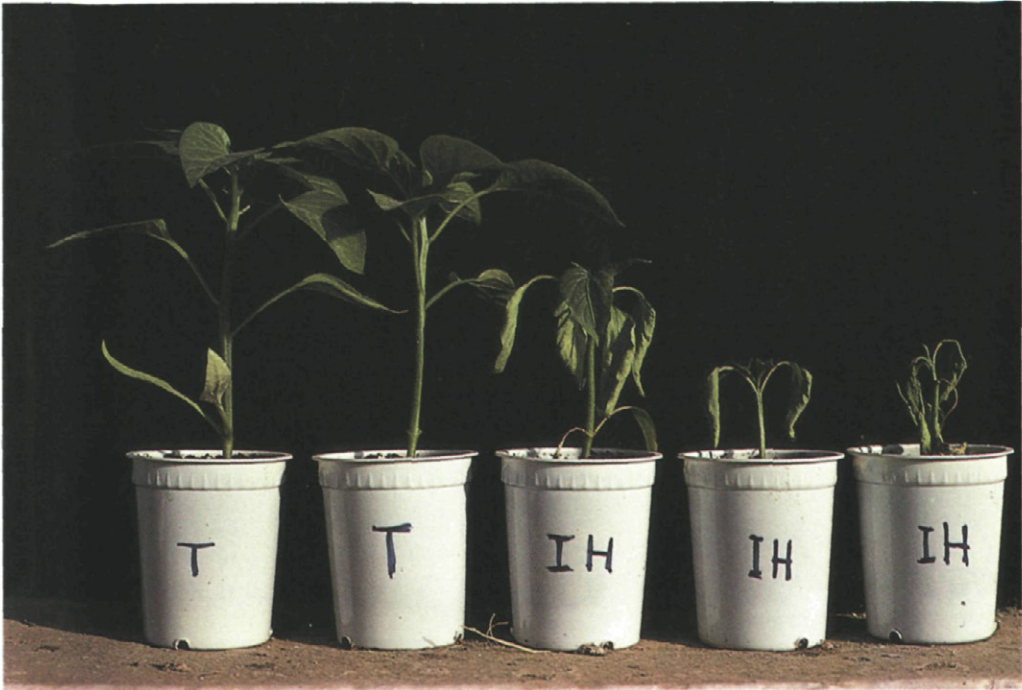


Fig. 7.—Plantas inoculadas con *V. dahliae* mostrando síntomas de marchitez. Testigos a la izquierda.

PDA, a razón de cinco semillas por cada placa Petri. Las semillas del segundo grupo fueron maceradas en agua estéril, sembrando después por el método de diluciones utilizando una relación 1/1, 1/10 y 1/100. Posteriormente se comprobaba si entre las colonias fúngicas aparecidas existía alguna que se correspondiese con *V. dahliae*.

Especificidad de las especies de los hongos causantes de la «Tristeza»

Phytophthora

Se efectuaron dos tipos de Experiencias. En la primera se inocularon diversas especies de *Phytophthora*, aisladas a partir de diferentes huéspedes, sobre plantas de pimiento «Morrón I-224» en estado adulto y cultivadas en maceta. En la inoculación se utilizó el método de disco miceliar de Pochard-Chambonnet, con un dispositivo de diez plantas por especie ensayada. A los catorce

días se efectuó el control de la longitud de tallo necrosada. Las cepas utilizadas y los huéspedes de los que procedían fueron *P. capsici* B1 (pimiento), *P. cactorum* P-18 (manzano), *P. cryptogea* (desconocido) y *P. parasitica* (tomate).

En la segunda, se inocularon diversas cepas de *P. capsici* aisladas de pimiento sobre diferentes huéspedes en estado juvenil cultivados en maceta. La inoculación se realizó mediante el riego de las macetas con 25 ml. de una suspensión de zoosporas producidas según la técnica de KIMBLE y GROGAN. Se dispuso de 12 repeticiones por cada cepa y huésped ensayado, reservando 12 plantas testigo por cada uno de los huéspedes, que fueron regadas con 25 ml. de agua. A los 15 días de la inoculación se realizó el control de plantas muertas, transformando las cifras en los porcentajes correspondientes, dentro de cada tratamiento. Las cepas y huéspedes utilizados en la Experiencia fueron los siguientes:

Cepas de *P. capsici*: B1, Da, S75 y 6554 (su origen y características vienen recogidos en el Cuadro 5).

Huéspedes ensayados: Pimiento «Morrón», Berenjena «Semi-Redonda Jaspeada», Melón «Branco Ribatejo», Pepino «Marketmore-70» y Tomate «Ficantos», todos ellos en estado de 4 hojas verdaderas.

Verticillium dahliae

Con el objeto de poner de manifiesto la posible especificidad de las cepas españolas de *V. dahliae* aisladas en pimiento y otros cultivos hortícolas, se inocularon con ellas plantas de pimiento «Morrón», tomate «Tropic»¹ y berenjena «Long Purple», todas ellas en estado de 4-6 hojas verdaderas.

Las cepas utilizadas y su origen vienen recogidas en el Cuadro 6. El número de repeticiones por cepa y huésped fue de 15 plantas, cultivadas en maceta.

La inoculación se efectuó por inmersión de las plántulas en una suspensión de inóculo durante cinco minutos, antes de su repicado en maceta. La concentración de conidios de *V. dahliae* en la suspensión osciló entre 300 y 350 millones de conidios por ml.

Cuadro 6.—Nomenclatura y origen de las cepas de *Verticillium dahliae* utilizadas en las pruebas de especificidad

Cepa	Huésped	Origen
VD-D7	Pimiento «Morrón»	Zaragoza
VD-AC2	Alcachofa «Blanca»	Alicante
VD-T1	Tomate «Bornia»	Alicante
VD-B1	Berenjena «Bonica»	Murcia
VD-FR1	Fresón	

Los controles se efectuaron cincuenta y cinco días después de la inoculación, realizando un conteo de plantas enfermas de cada una de las especies huésped y el pesaje de la parte aérea de las plantas, una vez cortadas a nivel de inserción cotiledonar, que se evaluaba porcentualmente respecto al testigo.

Búsqueda de patotipos en las cepas españolas de *Verticillium dahliae*

El objetivo de este ensayo era demostrar la existencia de posibles patotipos de *V. dahliae* en dos grupos de cepas, caracterizadas por su origen sobre plantas de pimiento con síntomas de enanismo y defoliación respectivamente.

El material vegetal utilizado lo constituían plantas de la variedad «Morrón» INIA 65-4. Los grupos de cepas de *V. dahliae* estaban constituidos del modo siguiente:

Grupo VD-E: mezcla de diferentes cepas aisladas a partir de pimientos con síntomas claros de enanismo procedentes de Falces (Navarra) y Montañana (Zaragoza).

Grupo VD-D: mezcla de diferentes cepas aisladas a partir de pimientos con claros síntomas de defoliación, procedentes de Montañana (Zaragoza).

El método de inoculación utilizado consistió en el riego de las macetas con 10 ml. de una suspensión de conidios de *V. dahliae* a la concentración de 400 millones de conidios por ml. Se emplearon dos momentos de inoculación. Uno de ellos justo en el momento del trasplante con la planta en estado de 4-6 hojas verdaderas, y el otro 30 días después de efectuar aquél. Cada tratamiento comportaba 20 repeticiones.

El control se efectuó 135 días después del trasplante, midiendo la longitud en mm. del tallo de las plantas entre el nivel del suelo y el ápice de las mismas.

RESULTADOS

Capacidad de persistencia en el suelo de las especies fúngicas responsables de la «Tristeza»

Phytophthora capsici

Los resultados del Cuadro 7 muestran claramente que la persistencia de *P. capsici* en una parcela de un año a otro es nula.

Cuadro 7.—Persistencia de *P. capsici* durante 12 meses en parcelas infectadas artificialmente

Bloque	1	2	3	4
Plantas muertas	0/50	0/50	0/50	0/50
Pétalos de clavel con esporangios de <i>P. capsici</i>	0/30	0/30	0/30	0/30

Esta ausencia de persistencia puede ir relacionada con el tipo de compatibilidad de las cepas, recogido en los Cuadros 8, 9 y 10.

De este ensayo puede deducirse que las cepas españolas ensayadas pertenecen todas al tipo A1 y, consecuentemente, no han formado oosporas.

Estos resultados confirman la identidad de las cepas Ca, La, Ej, B1 y Da como

Cuadro 8.—Resultados de la compatibilidad entre cepas españolas de *P. capsici* de tipo desconocido y cepas búlgaras del tipo A1. Observaciones a los 30 días del emparejamiento sobre presencia (+) o ausencia (—) de oosporas en el medio de cultivo

Cepas españolas	Cepas búlgaras (A1)				
	N2	47(1)	51(2)	54(1)	72(1)
La	—	—	—	—	—
Ej	—	—	—	—	—
Ca	—	—	—	—	—
Da	—	—	—	—	—
B1	—	—	—	—	—

Cuadro 9.—Resultados de la compatibilidad entre cepas españolas de *P. capsici*. Observaciones a los 30 días del emparejamiento sobre presencia (+) o ausencia (—) de oosporas en el medio de cultivo

Cepas	S-75	Ca	La	Ej	B1	Da
S-75	—	+	+	+	+	+
Ca	—	—	—	—	—	—
La	—	—	—	—	—	—
Ej	—	—	—	—	—	—
B1	—	—	—	—	—	—
Da	—	—	—	—	—	—

Cuadro 10.—Resultados de la compatibilidad entre cepas españolas de *P. capsici* de tipo conocido (A1) y cepas mejicanas de tipo desconocido. Observaciones a los 30 días del emparejamiento sobre presencia (+) o ausencia (—) de oosporas en el medio de cultivo

Cepas	Da	B1	La	8300	8302	8303	6554
Da	—	—	—	+	—	—	—
B1	—	—	—	+	—	—	—
La	—	—	—	+	—	—	—
8300	—	—	—	—	+	+	+
8302	—	—	—	—	—	—	—
8303	—	—	—	—	—	—	—
6554	—	—	—	—	—	—	—

pertenecientes al tipo A1, mientras que la cepa S-75 es de un tipo sexual distinto al resto.

De los resultados se deduce que sólo una cepa mejicana, la 8300, es de tipo A2, siendo las restantes del tipo A1. Esto confirma la existencia de cepas de los dos tipos de compatibilidad en México, lo que justifica la abundante presencia de oosporas citada en las referencias de este país, con el reflejo de una mayor persistencia del hongo en el suelo y el carácter endémico de la enfermedad sobre pimiento.

Verticillium dahliae

Los Cuadros 11, 12 y 13 recogen los resultados de la encuesta sobre antecedentes culturales de parcelas en relación con el porcentaje de ataque de *V. dahliae*. En ellos se observa la gran incidencia del patógeno en parcelas con antecedentes durante tres años de cultivos, que no se consideran huéspedes del hongo. Incluso en parcelas con antecedentes de manzano, después de 18 años de ausencia de pimiento, se han producido ataques de *V. dahliae* que alcanzan el 31,2 por ciento de las plantas.

Presencia de *Phytophthora capsici* en el agua de los principales canales del Valle Medio del Ebro

El Cuadro 14 recoge los resultados obtenidos en 1979.

Cuadro 11.—Incidencia y origen de la «Tristeza» en Lodosa, 1985

Nº finca	% de plantas afectadas			Cultivos previos			Ultimo año de pimiento
	<i>P. capsici</i>	<i>V. dahliae</i>	Asfixia	1982	1983	1984	
1	0	1,5	0	ESPA	ESPA	ESPA	1978
2	0	2,8	0	ESPA	ESPA	ESPA	1965
3	0	3,1	0	ESPA	ESPA	ESPA	1967
4	0	69,4	0	ESPA	ESPA	PMTO	1984
5	0	31,9	0	PMTO	BARB	PATA	1982
6	0	22,8	0	COLF	PMTO	PATA	1983
7	0	61,9	0	?	?	?	?
8	0	1,3	0,2	ESPA	ESPA	ESPA	1970
9	0	37,7	0	ESPA	PMTO	PATA	1983
10	0	9,2	0	ESPA	ESPA	ESPA	1981
11	0	51,4	0	PATA	PMTO	PATA	1983
12	0	25,8	0,6	ESPA	ESPA	ESPA	1975
13	0	14,2	0	?	?	?	?
14	0	18,6	0	PMTO	PATA	COLF	1982
15	0	40,4	0	?	?	?	?
16	0	31,2	0	MANZ	MANZ	MANZ	1967
17	0	55,8	0	PMTO	PATA	PMTO	1984
18	0	35,7	0	ESPA	ESPA	ESPA	1965
19	0	6,2	0	?	?	?	?
20	0	51,0	0	?	?	TOMA	1980
21	0	10,9	0	MLCT	MLCT	MLCT	1962
22	0	14,4	0	?	?	?	?
23	0	31,4	0	PMTO	PATA	PATA	1982
24	0	4,0	0	ESPA	ESPA	ESPA	1965
25	0	67,8	0	TOMA	PATA	REMO	1980
26	0	41,9	0	MANZ	MANZ	PMTO	1984
27	0	34,5	0	PMTO	PATA	PMTO	1984
28	0	40,0	0	?	?	?	?
29	0	14,1	0	MLCT	MLCT	MLCT	1981
30	0	28,6	0	COLF	PMTO	PATA	1983
31	0	14,5	0	PERA	PERA	PERA	?
32	0	45,6	0	PATA	PMTO	PATA	1983
33	0	25,1	0	PMTO	PATA	COLF	1982
34	0	16,8	0	ESPA	ESPA	PATA	1975
35	0	8,5	0	PATA	PATA	COLF	1981
36	0	39,2	0	ESPA	ESPA	ESPA	1975
37	0	8,5	0	ESPA	ESPA	ESPA	1972
38	0	37,4	0	ESPA	ESPA	ESPA	1975
39	0	52,7	0	ESPA	COLF	PATA	1965
40	0	21,5	0	MANZ	MANZ	MANZ	1965
41	0	1,4	0	MANZ	MANZ	MANZ	1970
42	0	45,0	0	ESPA	ESPA	PATA	1979
43	0	10,0	0	?	?	CERE	1963
44	0	43,1	0	ESPA	ESPA	PATA	1976
45	0	70,4	0,1	ESPA	ESPA	PATA	1950
46	0	18,8	0,1	ESPA	ESPA	PMTO	1984
47	0	39,9	0	ESPA	ESPA	ESPA	1975
48	0	7,8	0	PATA	PMTO	ESPI	1983
49	0	26,8	0	COLF	PMTO	PATA	1983

El Cuadro 15 resume los resultados obtenidos en 1983 aplicando el método de

cebos de pétalos de clavel en los mismos puntos que indica el Cuadro 14.

Cuadro 12.—Incidencia y origen de la «Tristeza» en Falces, 1985

Nº finca	% de plantas afectadas			Cultivos previos			Ultimo año de pimienta
	<i>P. capsici</i>	<i>V. dahliae</i>	Asfixia	1982	1983	1984	
1	0	5,1	0,6	PMTO	TRIG	MAIZ	1982
2	0	4,0	0,1	?	?	?	?
3	0	4,0	0,1	TRIG	TOMA	CEBA	1981
4	0	1,7	0,1	?	?	?	?
5	0	0,6	0,5	MAIZ	TRIG	TRIG	1978
6	0	3,5	2,3	?	?	?	?
7	0	0,9	0,1	?	?	?	?
8	0	12,6	0,7	PMTO	REMO	TRIG	1982
9	0	5,3	0,2	?	?	?	?
10	0	0,6	0,1	?	?	?	?
11	0	0,3	0,6	?	?	?	?
12	0	2,6	0	PMTO	TRIG	TOMA	1982
13	0	36,4	2,6	TOMA	PMTO	HABA	1983
14	0	22,6	0	PMTO	MAIZ	PMTO	1984
15	0	10,9	0,3	REMO	MAIZ	TOMA	?
16	0	0,4	0,5	TOMA	REMO	TRIG	?
17	0	0,7	0,6	?	?	?	?
18	0	0,3	0,2	TRIG	PMTO	MAIZ	1983
19	0	32,6	0,1	CEBA	TOMA	AJO	1978
20	0	3,5	1,6	?	?	?	?
21	0	1,7	0,4	MAIZ	TRIG	TOMA	1980

Cuadro 13.—Incidencia y origen de la «Tristeza» en Cortes, 1985

Nº finca	% de plantas afectadas			Cultivos previos			Ultimo año de pimienta
	<i>P. capsici</i>	<i>V. dahliae</i>	Asfixia	1982	1983	1984	
1	0	0,3	0,4	ALFA	ALFA	MAIZ	NUNCA
2	0	0,1	0,4	TRIG	MAIZ	MAIZ	1974
3	0	0,3	0,8	MAIZ	TRIG	PMTO	1984
4	0	0,6	0,2	?	?	MAIZ	1974
5	0	0,5	0,7	MAIZ	TRIG	PMTO	1984
6	0	41,5	0,3	MAIZ	TRIG	MAIZ	1979

Cuadro 14.—Resultados del test de la fresa sobre agua de los principales canales de riego del Valle Medio del Ebro. Las cifras señalan el número de fresas sobre el total de las 3 placas que presentan micelio no tabicado en su superficie (*)

	Fecha 28/7/79	Fecha 4/8/79
Canal de Lodosa	3/27	9/27
Canal de Tauste	6/27	7/27
Canal Imperial	7/27	2/27
Testigo	0/27	0/27

Cuadro 15.—Resultados del test de pétalos de clavel sobre agua de los principales canales de riego del Valle Medio del Ebro. Las cifras señalan el número de pétalos sobre el total de las 3 placas que presentan esporangios en su superficie

	Fecha 28/7/79	Fecha 4/8/79
Canal de Lodosa	0/45	0/45
Canal de Tauste	0/45	0/45
Canal Imperial	0/45	0/45
Testigo	0/45	0/45

(*) En ningún caso se obtuvieron esporangios.

De la consideración conjunta de los Cuadros 14 y 15 puede deducirse que los métodos utilizados no permiten detectar la presencia de *P. capsici* en los principales canales de riego del Valle Medio del Ebro.

Influencia de las temperaturas en la conservación y desarrollo de las cepas de hongos causantes de la «Tristeza»

Phytophthora capsici

Los Cuadros 16 y 17 muestran la escasa resistencia de *P. capsici* a bajas temperaturas.

Verticillium dahliae

Los resultados obtenidos en relación a la

influencia de las temperaturas sobre el crecimiento y la conservación del hongo se reflejan en los Cuadros 18 y 19, respectivamente.

Cuadro 18.—Diámetro (en mm) de las colonias de 2 cepas de *V. dahliae* sometidas a diferentes temperaturas de incubación. Las cifras corresponden a la media de 3 repeticiones

Temperatura	Cepa H5-ID	Cepa D-7
5°C	0	0
10°C	31,3	33,2
15°C	51,8	57,0
20°C	72,0	70,8
25°C	83,0	83,0
30°C	38,3	40,7
35°C	0	0
40°C	0	0

Cuadro 16.—Desarrollo de las colonias de diferentes aislamientos de *P. capsici*, en función de la temperatura, a los 4 días de la siembra. Las cifras corresponden al diámetro (mm.) de las colonias. Media de 3 repeticiones

Cepa	Temperatura °C							
	0	5	10	15	20	25	30	35
B1	0	0 (*)	19,5	31,8	46,5	68,6	37,3	1,7
Ca	0	0 (*)	8,2	23,8	40,0	49,3	46,0	8,7
La	0	0 (*)	4,5	23,5	47,5	62,6	20,2	6,6
Da	0	0 (*)	1,3	35,0	46,3	57,3	37,7	2,1
S75	0	0 (*)	21,2	27,0	71,5	77,0	73,0	0 (*)
8300	0	0 (*)	19,6	32,4	44,2	49,4	47,5	7,1
Me	0	0 (*)	3,5	21,6	42,6	50,3	30,7	2,0
72 (1)	0	0 (*)	8,2	25,4	42,7	43,5	41,2	19,5

(*) Las colonias crecieron posteriormente al incubarlas a 22°C.

Cuadro 17.—Viabilidad de 3 cepas de *Phytophthora capsici* después de 6 meses de conservación por diferentes métodos

Método de conservación	Cepa Ca	Cepa La	Cepa Da
Disco miceliar en agua a 1°C	—	—	—
Disco miceliar en agua a -18°C	—	—	—
Cultivo en placa de Petri a 15°C (*)	+	+	+

(*) Los cultivos en placa Petri han continuado siendo viables después de 24 meses de conservación a 15°C.

Cuadro 19.—Viabilidad de 2 cepas de *Verticillium dahliae* después de 24 meses de conservación por diferentes métodos

Método de conservación	Cepa H5-ID	Cepa D7
Disco miceliar en agua a 1°C	+	+
Disco miceliar en agua a -18°C	+	+
Conidios en agua a 1°C	+	+
Cultivo en placa de Petri a 15°C		+

Las cepas con crecimiento nulo a temperaturas de 5°C y de 35°C presentaron un desarrollo normal cuando se incubaron posteriormente a una temperatura de 22°C, situación que no se produjo con las incubadas a la temperatura de 40°C.

La comprobación del poder patógeno de las cepas conservadas según la metodología anteriormente indicada en el apartado C) 2. se recoge en el Cuadro 20, mostrando que ambas cepas mantenían su virulencia tras dos años de conservación.

Cuadro 20.—Porcentaje de plantas de pimiento «Morrón» I-224 que muestran síntomas de marchitez, a los 30 días de la inoculación con *Verticillium dahliae*, conservado por diferentes métodos

Método de conservación	Cepa H5-ID	Cepa D7
Disco miceliar en agua a 1°C	100	100
Disco miceliar en agua a -18°C	100	100
Conidios en agua a 1°C	100	100
Conidios en agua a -18°C	100	100
Cultivo en placa de Petri a 15°C	100	100

El testigo sin inocular no mostró ninguna planta afectada.

Transmisión por semilla de *Verticillium dahliae*

La aplicación de la metodología descrita

en el apartado anterior no ha permitido detectar la transmisión de *V. dahliae* a partir de las semillas de plantas infectadas, por ninguno de los procedimientos utilizados.

Especificidad de las especies de los hongos causantes de la «Tristeza»

Phytophthora

El cuadro 21 resume los resultados del ensayo efectuado por inoculación sobre pimiento con diferentes especies de *Phytophthora* aisladas sobre diversos huéspedes.

Solamente *P. capsici* produjo la muerte de las plantas, dado que su progresión no se detuvo hasta la base del tallo. Por su parte, *P. cryptogea* y *P. parasitica* son muy irregulares y junto a algunos casos de muerte de la planta, presenta otros en que la progresión de la infección ha sido prácticamente nula, deteniéndose a unos milímetros del punto de la inoculación.

Cuadro 21.—Longitud media de las necrosis producidas por diferentes especies de *Phytophthora* inoculadas sobre pimiento «Morrón» mediante el método del disco miceliar. Las cifras corresponden a la media (en mm) de 10 repeticiones, a los 14 días de la inoculación

Especie	Cepa	Huésped	Longitud de la necrosis
<i>P. capsici</i>	B1	Pimiento	89 a
<i>P. cactorum</i>	P-18	Manzano	0 c
<i>P. cryptogea</i>	—	—	23 b
<i>P. parasitica</i>	—	Tomate	12 bc
Testigo			0 c

Los tratamientos seguidos por letras distintas difieren significativamente, según test Newman-Keuls (nivel 5 p. 100).

Los resultados de la segunda Experiencia realizada, por la que se inoculaban diferentes huéspedes con diversas cepas de *P. capsici*, vienen recogidos en el Cuadro 22, en el que se observa una gran especificidad de la mayoría de las cepas ensayadas, que sólo son capaces de infectar al pimiento, excepto la cepa B1 activa también contra berenjena.

Cuadro 22.—Porcentaje de plantas muertas de diferentes especies hortícolas inoculadas con cepas de *P. capsici* de diversas procedencias

Huésped	Cepa de <i>Phytophthora capsici</i>			
	B1	Da	S75	6554
Pimiento «Morrón»	100	100	100	100
Berenjena «Semi-redonda Jaspeada»	75	0	0	0
Melón «Branco-Ribatejo»	0	0	8,3	0
Pepino «Marketmore-70»	0	0	0	0
Tomate «Ficantos»	8,3	0	0	0

Verticillium dahliae

Los Cuadros 23 y 24 resumen los resultados obtenidos sobre la especificidad de diferentes cepas de *V. dahliae* aisladas sobre diversos huéspedes.

Búsqueda de patotipos en las cepas españolas de *Verticillium dahliae*

El Cuadro 25 resume los resultados obtenidos mediante las inoculaciones con mezclas

de cepas pertenecientes a aislamientos de plantas que manifiestan enanismo (E) y defoliación (D), respectivamente.

El análisis estadístico muestra que existen diferencias entre las longitudes de los lotes inoculados en el momento del trasplante y las de los restantes tratamientos, no existiendo diferencias entre los dos grupos de cepas cuando se comparan en un mismo momento de inoculación.

DISCUSION

Los resultados obtenidos han permitido confirmar la escasa capacidad de persistencia de *P. capsici* en el terreno de cultivo, ya citada por otros autores (RAMÍREZ y ROMERO, 1980; ANSANI y MATSUOKA, 1983 b; TELLO, 1984) a pesar de haber incorporado al terreno los restos de las plantas del cultivo de pimiento anterior, ampliamente infectado por el patógeno.

Todos los aspectos epidemiológicos estudiados en este trabajo apuntan o indican la especial dificultad para que *P. capsici* pueda conservarse de un año a otro en condiciones propicias para desencadenar la enfermedad. La ausencia de clamidosporas en las cepas estudiadas, el carácter heterotálico de la

Cuadro 23.—Porcentaje de plantas enfermas en diferentes especies hortícolas inoculadas con cepas de *V. dahliae* de diversas procedencias

Huésped	Cepa de <i>Verticillium dahliae</i>					
	VD-D7	VD-AC2	VD-T1	VD-B1	VD-FR1	Testigo
Tomate «Tropic»	0	6,7	40	13,3	26,6	0
Pimiento «Morrón»	66,7	0	33,3	0	66,7	0
Berenjena «Long Purple»	0	0	6,7	0	20	0

Cuadro 24.—Porcentaje de peso de las plantas inoculadas con cepas de *V. dahliae* respecto a la media de los testigos

Huésped	Cepa de <i>Verticillium dahliae</i>				
	VD-D7	VD-AC2	VD-T1	VD-B1	VD-FR1
Tomate «Tropic»	136	127	126	123	103
Pimiento «Morrón»	5	171	148	164	175
Berenjena «Long Purple»	73	162	79	49	71

Cuadro 25.—Longitud media del tallo de plantas de pimiento de la variedad «Morron INIA 65-4» inoculadas en diferentes estados fenológicos con distintos grupos de cepas de *V. dahliae*. Las cifras corresponden a la media (en mm) de 20 repeticiones

Características	Momento de la inoculación		Testigo
	Trasplante	30 días después	
Mezcla de cepas aisladas de plantas con síntomas de enanismo	34 a	148 a	167
Mezcla de cepas aisladas de plantas con síntomas de defoliación	36,5 a	125,5 a	157

Separación de medias según test de Newman-Keuls, nivel 5 p. 100. Para la expresión gráfica de dicha separación, se han utilizado letras en las comparaciones en sentido vertical y líneas en las de sentido horizontal.

especie y la falta de tipos conjugados en las cepas autóctonas del Valle Medio del Ebro, que permitirían la formación de oosporas, son características determinantes en ese sentido.

También hay que tener en cuenta que las condiciones climáticas de la zona considerada no favorecen precisamente el desarrollo del patógeno, al producirse numerosas heladas invernales y mantenerse las temperaturas medias de las mínimas próximas a los valores letales ensayados en las cepas de *P. capsici*. La escasa pluviometría anual de las zonas objeto del estudio es un factor muy importante a considerar, si tenemos en cuenta los trabajos experimentales de RAMÍREZ y ROMERO (1980) y TELLO (1984), en los que atribuyen al agua un papel fundamental en la conservación del hongo.

Un hecho importante a destacar lo constituye, sin duda, la gran especificidad de las cepas ensayadas de *P. capsici*, pues, a pesar de las innumerables citas bibliográficas que le atribuyen una considerable gama de huéspedes, no ha podido demostrarse una clara acción patógena sobre melón, tomate, pepino y berenjena, lo que dificultaría aún más las posibilidades de conservación a causa de la ausencia de hospedantes. El caso inverso es también muy significativo, puesto que, de las cuatro especies de *Phytophthora* inoculadas sobre pimiento, solamente *P. capsici* produjo la muerte de todas las plantas, mientras que *P. cryptogea* y *P. parasítica* mostraron un comportamiento muy irregular.

La imposibilidad de detectar propágulos

contaminantes de *P. capsici* en las aguas de los principales canales del Valle Medio del Ebro, no es más que la consecuencia lógica de una escasa presencia en los suelos de la zona, admitiendo que el agua es uno de los vehículos más destacables en la diseminación de la enfermedad.

La situación epidémica producida en los cultivos de pimiento en la década de los años setenta plantea grandes interrogantes sobre la manera en la que el patógeno pudo conservarse en el suelo, que inevitablemente generan hipótesis explicativas del hecho. Coincidiendo con TELLO (1984) no puede excluirse la posibilidad de formación de órganos sexuales en el suelo en un momento determinado, bien sea dentro de la misma especie o incluso mediante hibridaciones interespecíficas. La imposibilidad de clasificar, atendiendo a criterios morfológicos, algunas cepas aisladas de pimiento, apoyaría esta hipótesis (GIL *et al.*, 1987). La inducción al homotalismo puede producirse de hecho por algunos productos fungicidas, así como por las excreciones radiculares de algunas plantas (ZENTMYER, 1952; NOON y HICKMAN, 1974) y por otros hongos como *Trichoderma viride* (BRASIER, 1975).

Las condiciones climáticas, especialmente la pluviometría, deben jugar también un papel decisivo en la conservación del patógeno, pudiendo ser la causa de la variabilidad observada en los años en que los ataques revistieron especial gravedad.

El comportamiento de *V. dahliae* es, sin embargo, radicalmente opuesto. Las caracte-

rísticas morfológicas del hongo le confieren, mediante los microesclerocios, una especial adaptación a las condiciones difíciles de supervivencia, que puede producirse, incluso, en ausencia de hospedantes. Los resultados de la encuesta efectuada en las zonas productoras de Navarra han sido bastante concluyentes, puesto que los ataques de *V. dahliae* se han producido con independencia de los antecedentes culturales, si bien solamente se registraban los datos de los tres últimos años.

La grave incidencia del patógeno en parcelas en las que el cultivo del pimiento estuvo ausente durante diez e incluso quince años, puede poner en entredicho aquellas recomendaciones de lucha basadas en las rotaciones culturales apropiadas. En este sentido, sorprende igualmente la incidencia de un 41,5 p. 100 de plantas enfermas sobre parcelas con antecedentes culturales de maíz-trigo-maíz durante tres años y en las que no se cultivaba pimiento desde hacía seis años, lo que confirmaría las observaciones realizadas por ISAAC (1967) y MARTINSON y HORNER (1962), en las que atribuyen a los cereales la capacidad de albergar al patógeno, a pesar de no estar considerados como huéspedes del mismo.

Los resultados obtenidos sobre las temperaturas óptimas de desarrollo permiten confirmar los resultados de ISAAC (1967), JIMÉNEZ DÍAZ *et al.* (1984) y KENDRICK y MIDDLETON (1959). El crecimiento máximo se produce en torno a los 25°C, aunque el patógeno presenta un buen desarrollo entre 10 y 30°C. La ausencia de crecimiento a 35°C podría explicar el hecho señalado por GIL *et al.* (1986) de que los ataques de *V. dahliae* en el Valle Medio del Ebro se manifestan con especial gravedad en los últimos días del verano y comienzo del otoño, que corresponden a los períodos en que las temperaturas comienzan a ser soportadas por el patógeno, que puede haber iniciado previamente la infección en los últimos días de la primavera y encontrarse en un estado de infección latente.

No ha podido demostrarse, en las condiciones ensayadas, la posibilidad de que *V. dahliae* pueda ser transmitido por la semilla de los frutos de pimiento, a pesar de que

éstos correspondían a plantas con síntomas graves de marchitez.

La especificidad de las cepas de *V. dahliae* utilizadas ha sido puesta en evidencia en lo que respecta al huésped pimiento, lo que concuerda con los resultados obtenidos por VIGOUROUX y LAUGIE (1967). La manifestación de síntomas en plantas de pimiento inoculadas con cepas aisladas de tomate y fresón podría plantear algunas dudas sobre dicha especificidad, que se disipan totalmente al realizar las notaciones del porcentaje en peso de las plantas, respecto a la media del testigo no inoculado, que se recogen en el Cuadro 24. En él se aprecia claramente como el huésped pimiento solamente se ve afectado por la cepa aislada de pimiento, mientras que la berenjena confirma su tradicional comportamiento que la convierte en uno de los huéspedes más sensibles a cepas de *V. dahliae* de procedencia diversa. Estos resultados, complementados con las observaciones derivadas de la encuesta anteriormente citada, proporcionan un futuro más que preocupante a los cultivos de pimiento del Valle Medio del Ebro, en el que parece incidir una «presión de selección», dentro de la flora patógena presente en el suelo, hacia aquellas cepas de *V. dahliae* patógenas sobre pimiento, que lo incluyen como huésped preferencial.

La gran superficie dedicada al cultivo del pimiento y tomate para industria en la zona citada, con unas alternativas basadas en cultivos como espárrago, cereal, patata y, en menor proporción alfalfa, no parece justificar la especificidad de las cepas de *V. dahliae*, sin embargo, los ataques sobre tomate, patata y alfalfa son prácticamente inexistentes. Esto confirmaría los resultados de las experiencias de VIGOUROUX y LAUGIE (1967), quienes señalaban que, en la práctica, la especificidad de las cepas de *V. dahliae* estaría determinada en función del número de huéspedes preferenciales más que de los huéspedes posibles.

Los trabajos realizados con los dos grupos de cepas regularmente encontrados en el Valle Medio del Ebro, enanizantes y defoliantes, han permitido conocer uno de los aspectos de mayor trascendencia para el cultivo como es el período crítico de infec-



Fig. 8.—No hay patotipos en las cepas de *V. dahliae* aisladas de pimiento. Los síntomas sólo dependen del momento de la infección. Izqda.: Testigo. Centro: Infección en estado 8-10 hojas. Dcha.: Idem 4 hojas.

ción. La búsqueda de posibles patotipos horizontales correspondiendo a dichos grupos de cepas era una cuestión de extraordinaria importancia, si tenemos en cuenta que las plantas afectadas por el grupo «enanizante», aunque representan un porcentaje reducido dentro de las observaciones y prospecciones efectuadas a lo largo de los últimos años, resultan casi improductivas. Por el contrario, las afectadas por el grupo «defoliante» pueden llegar a dar una producción normal, dependiendo de la intensidad de los ataques. Los resultados obtenidos demuestran claramente que la sintomatología observada de-

pende, exclusivamente, del momento de la infección (fig. 8), siendo los períodos que siguen al trasplante altamente críticos en lo referente a las infecciones por *V. dahliae* que, en caso de producirse, inevitablemente impedirían el normal desarrollo de las plantas, deteniendo su crecimiento.

Los síntomas de defoliación observados, corresponden, por el contrario, a aquellas infecciones producidas en una fase más avanzada del cultivo, dependiendo su gravedad del momento de la infección y de las condiciones climáticas, especialmente temperatura, que sigan a la misma.

ABSTRACT

PALAZÓN, C.; I. PALAZÓN (1989): Estudios epidemiológicos sobre la «tristeza» del pimiento en la zona del Valle Medio del Ebro. *Bol. San. Veg. Plagas*, 15 (3): 233-262.

Given the great importance that the knowledge of the different epidemiological aspects can have when planning the strategy for the control of foliar blight and crown rot of pepper, the aim of this work is to study and analyse important aspects such as: persistence in the soil of the pathogens *Verticillium dahliae* Kleb. and *Phytophthora capsici* Leon., influence of temperature on their development, transmission of *V. dahliae* from infected plants seeds, specificity of *P. capsici* and *V. dahliae* strains versus the main species that can appear in traditional crop rotations of the Ebro Middle Valley as well as the presence of *V. dahliae* pathotypes.

The results obtained raise reasonable doubts on the efficiency that crop rotations can have on the control or prevention of the disease, as well as the special difficulty of *P. capsici* to survive in the soil of the considered area. Early transplants may promote infections by *V. dahliae*, since favourable temperature conditions for the pathogen as well as a more receptive to infection crop growth stage come together.

Key words: Pepper, crown rot, *P. capsici*, *V. dahliae*, epidemiology.

REFERENCIAS

- ALFARO, A. y VEGH, I. (1971): La «Tristeza» o «Seca» del pimiento producida por *Phytophthora capsici* Leonian. *Ann. INIA, Ser. Prot. Vegetal*, 1: 9-42.
- ANÓNIMO (1968): *Le piment à gros fruit*. 90 p. Monografías I.N.V.U.F.L.E.C.
- ANSANI, C. V. y MATSUOKA, K. (1983 a): Efeito de densidade de zoosporos e idade de mudas de pimentao (*Capsicum annuum*) na infectividade de *Phytophthora capsici*. *Fitopatologia Brasileira*, 8 (2): 263-268.
- ANSANI, C. V. y MATSUOKA, K. (1983 b): Sobrevivencia de *Phytophthora capsici* no solo. *Fitopatologia Brasileira*, 8 (2): 269-276.
- ARAGAKI, M. y UCHIDA, J. Y. (1978): A new papaya fruit rot in Hawaii caused by *Phytophthora capsici*. *Plant Disease Reporter*, 62 (9): 765-768.
- BAZAN, C. (1958): La marchitez o wilt del aji en el Perú. *Informe n° 105*, 19 p. Estación Experimental Agrícola de «La Molina», Lima (Perú).
- BELL, A. A.; SIMPSON, M. E.; MARSH, P. B. y HOWELL, C. R. (1971): Abs. in Beltwide Cotton Production Research Conference.
- BENEDICTO, J. L. (1988): Comunicación personal.
- BERNSTEIN, L. (1970): Salt tolerance of plants. *U.S.D.A. Inform. Bull.*, 283: 23.
- BEWLEY, W. F. (1921): «Sleepy disease» or wilt of the tomato. *Ann. Rept. Exp. and Res. Stat. Nurs. and Mark. Gard. Ind. and Devel. Soc.*, 6: 26-38.
- BEWLEY, W. F. (1922): «Sleepy disease» of the tomato. *Ann. Appl. Biol.*, 9: 116-134.
- BEWLEY, W. F. (1923): «Sleepy disease» of the tomato. *Jour. Min. Agr. (Gt. Brit.)*, 30: 450-457.
- BEWLEY, W. F. (1928): *Diseases of glasshouse plants*. 208 p. Ernest Benn (London).
- BEYRIES, A.; LEROUX, J. P. y MESSIAEN, C. (1965): Essais de lutte contre *Phytophthora capsici* Leon. par addition de fongicides solubles aux eaux d'arrosage. *Phytopathologia Mediterranea*, 4: 173-175.
- BRASIER, C. M. (1975): Stimulation of sex organ formation in *Phytophthora* by antagonistic species of *Trichoderma*. I. The effect «in vitro». *New Phytologist*, 74: 183-194.
- BUSCH, L. V. y EDINGTON, L. V. (1967): *Canadian Journal of Botany*, 45: 691-693.
- BUSCH, L. V. y SCHOOLEY, H. D. (1970): *Canadian Journal of Botany*, 48: 1939-1941.
- CARLILE, M. J. (1966): The orientation of zoospores and germ tubes, 175-187. En MADELIN, M. F., *The Fungus Spore*. Butterworths, London.
- CARR, A. J. H. (1971): The role of wilt toxins produced by the lucerne strain of *Verticillium albo-atrum*. *Symposium*.
- CASTELLANI, E. (1963): Problemi fitopatologici della coltura del Peperone. *Riv. Ortoflorofruti. Ital.*, 47: 108-123.
- CURZI, M. (1925): Il parassitismo del «*Verticillium tracheiphilum* Curzi» e la diffusione della tracheoverticilliosis i del peperone in Italia. *Riv. Patol. Veg.*, 15: 145-160.
- CURZI, M. (1927): L'eziologia della «Cancrena pedale del Peperone». *Riv. di Patol. Veg.*, 17: 1-19.
- DAVILA, M. (1964): La enfermedad de la «Tristeza del Pimiento». *Boletín Informativo del Servicio de Plagas del Campo*, 18: 10-11.
- DEL RIVERO, J. M. y ROIG, F. J. (1969): Ensayos sobre el control de la podredumbre del pie del pimiento. *A.T.A.*, 9 (2): 254-257.
- DUFRENOY, J. y DUFRENOY, M. L. (1927): Hadromycoses. *Ann. Epiphyt.*, 13: 195-212.
- DUNIWAY, J. M. (1983): Role of Physical Factors in the Development of *Phytophthora* Diseases. 175-187. En ERWIN, D. C.; BARTNICKI-GARCÍA, S. y TSAO, P. H., *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. Ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- DUNLAP, A. A. (1937): Rust on teosinte and wilt of peppers in Connecticut. *Plant Dis. Repr.*, 21: 426.
- ELENKOV, E. y BAKHARIEVA, V. (1975): Mildew, *Phytophthora capsici*, a dangerous disease of pepper in Bulgaria. *Rastit. Zash.*, 23: 31-35.
- ENGELHARD, H. W. (1957): Host index of *Verticillium albo-atrum* Reinke and Berth. (including *V. dahliae*). *Pl. Dis. Repr., Suppl.* 244: 33-49.
- EVANS, G. y GLEESON, A. C. (1973): *Australian Journal of Biological Sciences*, 26: 151-161.
- GALINDO, J. y GALLEGLY, M. E. (1960): The nature of sexuality in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 50: 123-128.
- GARCÍA, M. y MIGUEL, A. (1978): La «Seca» o «Tristeza» del pimiento. *Revista de Extensión Agraria*, 17 (6): 176-179.
- GIL, R.; LUIS, M. y PALAZÓN, C. (1986): Luesia (INIA 225), variedad seleccionada de pimiento de conserva. Actas II Congreso Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, Córdoba.
- GIL, R.; LUIS, M. y PALAZÓN, C. (1987): Luesia (INIA 225), a selected pepper cultivar for processing. *Capsicum Newsletter*, 5: 22.
- HICKMAN, C. J. (1970): Biology of *Phytophthora* zoospores. *Phytopathology*, 60: 1128-1135.
- ISAAC, I. (1967): Speciation in *Verticillium*. *Annual Review of Phytopathology*, 5: 201-222.
- JIMÉNEZ DÍAZ, R.; BLANCO, M. y CABALLERO, J. M. (1984): La Verticilliosis del olivo en Andalucía. Co-

- municaciones Agrarias. Junta de Andalucía. *Serie Protección Vegetal*, 1: 32 p.
- KATSURA, K. y HOSOMI, T. (1963): Chemotaxis of zoospores for plant roots in relation to infection by *Phytophthora capsici* Leonian. *Sci. Rep. Kyoto Prefect. Univ. Agr.*, 15: 27-32.
- KEEN, N. T.; WANG, M. C. y LONG, M. (1970): Abs. in *Phytopathology*, 60, 1298.
- KENDRICK, J. B. y MIDDLETON, J. T. (1959): Influence of soil temperature and of strains of the pathogen on severity of *Verticillium* wilt of pepper. *Phytopathology*, 49: 23-38.
- KIMBLE, K. A. y GROGAN, R. G. (1960): Resistance to *Phytophthora* root rot in pepper. *Plant Disease Reporter*, 44 (11): 872-873.
- LEONIAN, L. H. (1922): Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology*, 12 (9): 401-408.
- LINDQUIST, J. C. (1932): Sobre la presencia de la *Phytophthora capsici* en la Rep. Argentina. *Physis*, 11: 170-171.
- MALAGUTI, G. y PONTIS, R. E. (1950): *Phytophthora capsici* in Venezuela. Estratto dalla *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, 1-3, 12 p.
- MARTINSON, C. A. y HORNBERGER, C. E. (1962): Importance of nonhost in maintaining the inoculum potential of *Verticillium*. *Phytopathology*, 52: 742.
- MAS, P.; BEYRIES, A. y MESSIAEN, C. (1965): Mise en évidence d'une interaction entre précocité et sensibilité au *Verticillium* chez la Tomate. *Phytopathologia Mediterranea*, 4: 25-30.
- MATTA, A.; CIRULLI, M.; D'ERCOLE, N. y CICCARESE, F. (1980): Indagini sulla specializzazione fisiologica di *Verticillium dahliae* Kleb in Italia. *Informatore Fitopatologico*, 30 (11/12).
- MATTA, A. y GARIBALDI, A. (1980): Su una necrosi basale del peperone dovuta a ristagni idrici. *Informatore Fitopatologico*, 30 (11/12): 17-20.
- MERCIER, S. (1970): La recontamination en sols désinfectés. INUVFLEC Journées d'études sur la Désinfection des sols (Rennes), 63-67.
- MOLOT, P. M. y NOURRISEAU, J. G. (1972): Mise en évidence et étude de la conservation du *Phytophthora cactorum* dans le sol. Actas III Congr. Un. Fitopat. Médit., Oeiras (Portugal), 22-28.
- MUCHOVEJ, J. J.; MAFFIA, L. A. y MUCHOVEJ, R. M. C. (1980): Effect of exchangeable soil aluminum and alkaline calcium salts on the pathogenicity and growth of *Phytophthora capsici* from green pepper. *Phytopathology*, 70 (12): 1212-1214.
- NEWHOOK, F. J.; WATERHOUSE, G. M. y STAMPS, D. J. (1978): Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers*, 143.
- NOON, J. P. y HICKMAN, E. J. (1974): Oospore production by a single isolate of *Phytophthora capsici* in the presence of chloroneb. *Can. J. Bot.*, 52: 1591-1595.
- PALAZÓN, C. (1988): Estudio de los posibles métodos de control de la «Tristeza» o «Seca» del pimiento. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. 231 p.
- PALAZÓN, C.; GIL, R. y PALAZÓN, I. (1977): Contribución al estudio de la enfermedad conocida como «Tristeza» o «Seca» del pimiento. Public. CRIDA 03. *Serie Protección Vegetal*.
- PALAZÓN, C.; GIL, R. y PALAZÓN, I. (1978): La «Tristeza» o «Seca» del pimiento. Estado actual del problema. *Información Técnica Económica Agraria*, 32: 56-62.
- PEGG, G. F. (1974): *Verticillium* diseases. *Review of Plant Pathology*, 53 (3): 157-182.
- PONCHET, J.; RICCI, P.; ANDREOLI, C. y AUGE, G. (1972): Méthodes sélectives d'isolement du *Phytophthora nicotianae* f. sp. *parasitica* (Dastur) Waterh. à partir du sol. *Ann. Phytopathol.*, 4 (2): 97-108.
- RAMÍREZ, J. y ROMERO, S. (1980): Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leon., agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia*, 39: 9-18.
- RUDOLPH, B. A. y SNYDER, W. C. (1937): *Verticillium* wilt of pepper. *Plant Dis. Repr.*, 21: 404.
- SAVAGE, E. J.; CLAYTON, C. W.; HUNTER, J. H.; BBRENNEMAN, J. A.; LAVIOLA, C. y GALLEGLY, M. E. (1968): Homotalism, heterotalism and interspecific hybridation in the genus *Phytophthora*. *Phytopathology*, 58: 1004-1021.
- SCHLUB, R. L. (1983): Epidemiology of *Phytophthora capsici* on bell pepper. *Journal of Agricultural Science*, 100 (1): 7-11.
- SNYDER, W. C. y RUDOLPH, B. A. (1939): *Verticillium* wilt of pepper, *Capsicum annum*. *Phytopathology*, 29: 359-3362.
- SOREJANNI, J. A. (1936): La Pourriture du collet des Solanées cultivées et la classification du genre *Phytophthora*. *Inst. Phytopath. Benaki Ann.*, 2: 35-52.
- TALBOYS, P. W. (1964): A concept of the host-parasite relationship in *Verticillium* wilt diseases. *Nature*, 202 (4930), 361-364.
- TELLO, J. C. (1984): Enfermedades criptogámicas de las hortalizas. *Comunicaciones I.N.I.A., Serie Protección Vegetal*, 22, 342 p.
- TSAO, P. H. (1983): Factors affecting isolation and quantitation of *Phytophthora* from soil. 219-236. En ERWIN, D. C.; BARTNICKY-GARCÍA, S. y TSAO, P. H. *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. Ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- TUCKER, C. M. (1931): Taxonomy of the Genus *Phytophthora* de Bary. *Res. Bul.*, 153, Missouri Agri. Exp. Sta.
- TUSET, J. J. (1977): Contribución al conocimiento del género *Phytophthora* de Bary en España. *Anales del INIA. Serie Protección Vegetal*, 7: 11-106.
- VAN DER MEER, J. H. H. (1925): *Verticillium*-wilt of herbaceous and woody plants. *Med. Landbouwhoo-gesch (Wageningen)*, 28: 1-82.
- VIGOUROUX, A. y LAUGIE, M. (1967): Etude de la spécificité du *Verticillium*. Rapport d'activité 1966-1967 INRA (Montfavet), 23-31.
- VIGOUROUX, A.; CONUS, M. y OLIVIER, R. (1972): Importance des mauvaises herbes dans la conservation du *Verticillium* dans les cultures. Actas III Congr. Un. Fitopat. Médit., Oeiras (Portugal), 105-109.
- WEBER, G. F. (1932): Blight of Peppers in Florida caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopath.*, 22: 775-780.
- WESTE, G. (1983): Population Dynamics and Survival of *Phytophthora*. 237-257. En ERWIN, D. C.; BARTNICKI-GARCÍA, S. y TSAO, P. H., *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. Ed.

- The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- WILHELM, S. (1950): Vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in soils. *Phytopathology*, **40**: 368-376.
- WILHELM, S. (1955): Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. *Phytopathology*, **45**: 180-181.
- WOLLENWEBER, H. W. (1922): Tracheomykosen und andere Welkekrankheiten nebst Aussichten ihre Abwehr. *Angew. Bot.*, **4**: 1-14.
- WRIGHT, D. S. C. (1969): *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **12**: 228-239.
- ZENTMYER, G. A. (1952): A substance stimulating sexual reproduction in *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, **42**, 24.

(Aceptado para su publicación: 20 marzo, 1989).