

EVALUACIÓN DE LA COLECCIÓN DE GERMOPLASMA DE *CAPSICUM* SPP. FRENTE A *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *VESICATORIA* (DOIDGE) DYE

Odalys Barrios, Maribel González-Chávez, Gloria Acuna, Sergio Abreu y Dalila de Armas.

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT). Email: obarrios@inifat.co.cu

RESUMEN

Se estudiaron 138 accesiones de la colección de *Capsicum* spp. del Banco de Germoplasma del INIFAT, de las especies *C. annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens*. Los cultivares se evaluaron empleando caracteres cualitativos: Tipo de fruto y Pungencia y el carácter cuantitativo: Índice de Infección frente a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. El comportamiento frente a la mancha bacteriana se registró durante dos años en diferentes momentos de evaluación, utilizando un control susceptible '*California Wonder*' para la comparación del desarrollo de la enfermedad. Fueron registradas además, las variables climáticas: temperatura, humedad relativa, velocidad de viento y precipitaciones. Los datos así obtenidos se procesaron empleando un Análisis Factorial de Correspondencia Simple para la clasificación del germoplasma y sobre esta base se seleccionaron los mejores cultivares. Los valores promedio de temperatura y humedad de 24.7 oC y 87.5% y las bajas velocidades del viento entre 6.9 y 7.3 km/h resultaron favorables para la diseminación de la mancha bacteria. Se formaron trece grupos de interés; siete de ellos pertenecen a la especie *C. annuum*, cuatro a *C. frutescens* y dos a *C. chinense*. Fue observada una amplia variabilidad en el genofondo estudiado; se destacaron 46 accesiones con bajos índices de infección; lo que representa que el 33% del germoplasma evaluado ofrece resistencia a la mancha bacteriana en condiciones de infección natural, por lo que constituyen cultivares valiosos para programas de mejoramiento genético.

EVALUATION OF GERMOPLASM *CAPSICUM* COLLECTION AGAINST TO *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *VESICATORIA* (DOIDGE) DYE

ABSTRACT

138 accessions from the *Capsicum* collection of the INIFAT genebank belonging to the species *C. annuum*, *C. chinense* and *C. frutescens* were studied. The cultivars were evaluated using the qualitative characters: Fruit type and Pungency and the quantitative character: Infection rate against *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. The behavior of the accessions were registered during two years in different evaluation moments, using a susceptible control '*California Wonder*' for the comparison of the diseases development. The climatic variables were considered too, temperature, humidity, wind speed and rains. The data obtained were processed using a Factorial Analysis of Simple Correspondence in order to the germplasm classification and the best cultivars were selected. The average values of temperature and humidity 24.7 oC and 87.5%, also the wind speed between 6.9 and 7.3 km/h facilitated the bacterial spot incidence. They were formed thirteen interest groups; seven of them, belong to the *C. annuum* species, four belong to *C. frutescens* and two belong to *C. chinense*. A wide variability was observed in the germplasm studied; 46 accessions showed that very low visible sign of susceptibility; what represents that 33% germplasm evaluated offers resistance to the bacterial spot under natural infection conditions, for what they constitute valuable cultivars for genetic improvement programs.

INTRODUCCION

El género *Capsicum* comprende 27 especies, confinadas todas a las Américas, hasta el presente solo se han reportado cinco especies domesticadas: *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. chinense* Jacq., *C. baccatum* L. y *C. pubescens* R. y P., (Pickersgill, 2000).

En la última década un gran número de accesiones han sido colectadas en Cuba; se han encontrado tres de las especies domesticadas que son reconocidas actualmente, las cuales conforman el Complejo *Capsicum annuum-chinense-frutescens*, con una gran variabilidad en la morfología de sus frutos, (Barrios, 2000).

Las producciones de pimientos según Szenthanyl y Hevesi, (2001), han sido afectadas por el patógeno *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, el cual causa grandes daños en el cultivo del pimiento, y cuando el ataque se produce en etapas tempranas provoca defoliación y manchas en los frutos que inhabilitan su comercialización.

Actualmente esta enfermedad se encuentra diseminada por todos los lugares donde se cultiva el pimiento extensivamente, y a pesar de que su riesgo global es catalogado como moderado según EPPO CABI (1999), los daños causados por este patógeno alcanzan a nivel mundial cifras de hasta 50% de pérdidas.

La mancha bacteriana ocasionada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* se reportó por primera vez en Cuba a principios de la década del 70 por Hevesi *et. al.* (1971) y se estimaron pérdidas de alrededor de 120 caballerías por daños ligeros en campo y 1.34 caballerías por daños ocasionados en semilleros.

En Cuba, a pesar de que se han desarrollado investigaciones con este fin, así como se ha estudiado el comportamiento de variedades comerciales e introducidas, la mancha bacteriana continua presentándose campaña tras campaña, ocasionando grandes pérdidas, fundamentalmente si aparece en fase de semillero (Amat,1999).

Por tal motivo se desarrollaron estudios con la colección nacional del género, dirigidos a evaluar los cultivares y seleccionar los que ofrecieran resistencia a la bacteria, con posibilidades para los programas de mejoramiento genético de este cultivo.

MATERIALES Y METODOS

El estudio de evaluación de 138 accesiones de *Capsicum* spp. (Tabla 1), se desarrolló en el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical-INIFAT, durante dos años. El experimento se dispuso en parcelas de 5 m de longitud con una distancia entre plantas de 0,30 m por 1,40 m entre hileras y un total de 3 hileras para evaluar cada accesión.

El grado de afectación frente a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, se evaluó sobre cinco plantas por accesión, con una periodicidad semanal desde la aparición de la enfermedad hasta la cuarta cosecha. La variedad '*California Wonder*' fue utilizada como testigo susceptible para comparar el desarrollo de la enfermedad en condiciones de infección natural, (Marrero y Barrios, 1985).

Para la evaluación de la enfermedad se empleó la escala de Wenzl de 0-5 grados (Wenzl, 1963), donde:

0- Inmune (I): sin afectación

1-Altamente resistente (AR): algunas manchas aisladas en la planta

2-Resistente (R): hasta 10% de la superficie foliar afectada

3-Moderadamente resistente (MR): hasta 25% de la superficie foliar afectada

4-Moderadamente susceptible (MS): hasta 50% de la superficie foliar afectada

5-Susceptible (S): más del 50% de la superficie foliar afectada

El índice de infección fue calculado utilizando la fórmula de Townsend y Heuberger (1943).

$$I = \frac{\sum(n \times v)}{i \times N} \times 100$$

I: índice de infección (%)

n: número de observaciones asignadas a cada grado de la escala

v: grado respectivo de la escala

i: grado máximo de la escala de evaluación empleada

N: número total de observaciones

Fueron registradas durante los años de estudio, las variables climáticas: temperatura media, humedad relativa promedio, velocidad de viento y precipitaciones (Figura 1).

Análisis de Datos. Para la clasificación de la colección en cuanto al grado de afectación frente a la bacteria; se sometieron los datos a un Análisis Factorial de Correspondencia Simple y se utilizó para ello, el programa STAT-ITCT. Se construyó el gráfico de los registros climáticos utilizando el programa Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Análisis Factorial de Correspondencia Simple reveló que el 97% de la variabilidad total fue acumulada en los dos primeros factores. El Índice de infección ocasionado por la bacteria (60.1%) y la Forma del fruto (38.5%) en el primer factor fueron los que mayor contribución aportaron a la variabilidad retenida por ambos factores.

La Figura 2 refleja la formación de 19 grupos, distribuidos en tres planos. En la parte superior izquierda se agruparon los pimientos utilizados para el consumo como hortaliza fresca, en el plano inferior derecho aparecieron los ajíes empleados como condimento fresco y en el mismo plano hacia el extremo izquierdo se reunieron los cultivares más susceptibles.

Los cultivares e índices de infección alcanzados frente a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* en cada uno de los grupos representados en el gráfico, aparecen en la Tabla 2. De los grupos formados, siete presentaron Alta Resistencia (AR) y Resistencia (R) frente a la mancha bacteriana (Grupos I, IV, VI, VIII; IX, XIII; XIV), lo que resultó de interés, si se tiene en cuenta las perspectivas que ofrecen los cultivares de sabor dulce para el consumo como hortaliza de uso directo o condimento y los de sabor picante para la elaboración de encurtidos. Las accesiones de 'Ají cachucha' pertenecientes al Grupo XI, a pesar del alto nivel de resistencia al patógeno, las cuales alcanzaron en condiciones de infección natural solo 3% de afectación, presentaron frutos pungentes debido posiblemente a la alogamia presente en el género; lo mismo sucedió con las accesiones de los Grupos XVIII y XIX, que se corresponden con cultivares de los tipos 'Chile

picante', 'Ají guagüao' y 'Ají cachucha', en los cuales apenas se observaron síntomas visibles de la enfermedad.

Fueron clasificados como Moderadamente Resistente (MR) seis grupos (II, V, VII a, X, XV, XVII), los cuales alcanzaron hasta 19% de afectación, claramente diferenciados del control susceptible, el cual superó el 45% de infección bajo las mismas condiciones de evaluación. Los cultivares incluidos en estos grupos, mostraron interés en lo que respecta al estudio de los efectos epifitológicos y los tipos de resistencia que pudieran estar presente en los mismos.

Se constató que hubo retraso en el inicio de la enfermedad en los Grupos II, V, VII a y X, la cual comenzó a manifestarse a los 75 días con respecto al testigo '*California Wonder*', en la que se evidenciaron los primeros síntomas a los 52 días de sembrada. Los Grupos XV y XVII, a pesar de que la manifestación de los síntomas ocurrió a los 50 días después de la siembra, se caracterizaron por el lento progreso en el desarrollo de la enfermedad, logrando estabilidad en la intensidad de la infección que se desarrolló. Estos grupos están compuestos por frutos del tipo 'Chile', los cuales no han sido intensamente cultivados, motivado posiblemente, porque la preferencia de los mismos para el consumo como condimento es menor, esto permite que se conserve en cierta medida la diversidad genética y por consiguiente la respuesta de estos cultivares antes los estreses biológicos es mejor. El grupo está representado además, por el 'Ají de jardín' utilizado solamente con fines ornamentales.

Solo en cuatro Grupos (III, VII b, XII y XVI) se detectaron índices de infección por encima del 25%, y se clasificaron estos cultivares como Moderadamente Susceptible (MS), no se observó en ningún caso, cultivares que mostraron índices de infección superiores a 55% en condiciones de infección natural.

Rodríguez Soto (2003), evaluó en condiciones de infección artificial, el 26% del germoplasma que mostró resistencia a la bacteria en condiciones de infección natural, para probar la resistencia de las accesiones frente a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, al ser inoculadas con los aislados más virulentos (XT 107, XT 115 y XT 116) de la bacteria. El estudio aportó que los cultivares P-5 (Chile), P-32 (Ají cachucha) y P-35 (Ají tomate), mostraron resistencia a los tres aislados, detectando así, fuentes de resistencia a la mancha bacteriana en el germoplasma autóctono.

Entre los factores que estimularon la expresión de la enfermedad, se encontraron las variables climáticas, estudios realizados sobre la epidemiología de la enfermedad por Hansen (2000), revelaron que, en las regiones de clima tropical la mancha bacteriana es un gran problema durante la estación de verano, donde las temperaturas oscilan sobre los 25 °C y 30 °C y el ambiente húmedo (80% de humedad relativa), favorecen el establecimiento y desarrollo del patógeno. (Andermino, 2000), expresó que *Xanthomonas campestris* se desarrolla más rápidamente a una temperatura continua de 24 °C.

Las condiciones ambientales durante los dos años de estudio, mostraron valores promedio de temperatura y humedad relativa de 24.7 °C y 87.5%, respectivamente; este ambiente resultó favorable para la manifestación de la enfermedad, expresado a través de los índices de infección alcanzados por los cultivares evaluados frente a la afectación provocada por la bacteria.

Otro factor que contribuye a la diseminación del patógeno es la precipitación, Bustamante y Gamboa (2002), enfatizaron la importancia que presenta la época lluviosa unida a la diseminación a través del viento húmedo, considerando que las altas precipitaciones, ya sea a través de la lluvia o por irrigación son altamente favorables para el desarrollo de esta patología.

Rista (2003), refirió la importancia que tiene el escurrimiento de agua de lluvia cuando la bacteria se disemina por medio de la semilla, entre las condiciones predisponentes la bacteria esta favorecida por las temperaturas (óptima 25 °C) y por fuertes precipitaciones. En la estación lluviosa, según Tegegn (2003), el agente causal de la mancha bacteriana podía constituir una severa enfermedad sobre áreas cultivadas de pimiento.

Investigaciones desarrolladas en Cuba por Amat (1999), demostraron que, durante la época lluviosa la infección es severa, pero se puede desarrollar después de fuertes precipitaciones durante cualquier mes del año. El factor determinante no es que caiga una cantidad elevada de mm de lluvia en el día, sino que exista lluvia, que aunque escasa, sea de forma consecutiva; se constató además que, el riego por aspersión unido a la dirección e intensidad del viento favorecieron la diseminación de la enfermedad.

Durante el período de evaluación del germoplasma de *Capsicum* spp., se acumuló un promedio de precipitaciones de 158.3 mm y 145.5 mm en cada año de estudio; en la Figura 1 se puede observar que los picos de precipitaciones en el primer año se destacaron en los meses de julio a septiembre con valores que oscilaron entre 205.2-335.3 mm de lluvia caída. En el segundo año se alcanzaron de igual manera, en los meses de junio-septiembre valores entre 202.7-513.6 mm lluvia caída, ambos años fueron considerados como lluviosos, factor que propició en cierta medida, el desarrollo y diseminación del patógeno.

Por otra parte se ha observado por Black *et. al.* (2001) y OEPP/EPPO (2002) que, la velocidad del viento es un elemento básico para la incidencia natural y diseminación de la bacteria. Rowell *et.al.* (2001), argumentaron que su desarrollo esta condicionado en gran medida por el viento, donde la infección generalmente ocurre a través de las heridas mecánicas producidas por este en las hojas, también por los insectos o por la presión de las gotas de lluvia sobre las plantas.

Las velocidades del viento durante los dos años se mantuvieron bajas, con valores promedio de 6.9 y 7.3 km/h respectivamente; este factor, al parecer no tuvo una influencia marcada en la diseminación de la bacteria. Sin embargo, fue notable la incidencia de áfidos en las áreas de evaluación, lo que justifica la afectación simultanea de la virosis en los cultivos de ajíes y pimientos que fue observada al momento de la evaluación, este hecho infiere que los insectos provocaron daños de conjunto en las hojas y favorecieron la entrada de la bacteria.

CONCLUSIONES

Las variables climáticas resultaron favorables para el desarrollo de la mancha bacteriana, con valores de temperatura de 24.7°C, humedad relativa de 87.5%, velocidades del viento bajas entre 6.9 y 7.3 km/h y precipitaciones por encima de 100 mm de lluvia.

Trece grupos mostraron resistencia frente a la bacteriosis en condiciones de infección natural, siete representados por la especie *C. annum*, cuatro por la especie *C. frutescens* y dos de la especie *C. chinense*.

Se detectaron 46 accesiones, con resistencia a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, lo que representa que el 33 % del germoplasma de *Capsicum* spp. ofrece interés para el mejoramiento de la resistencia a la mancha bacteriana.

REFERENCIAS

- 1.Amat, Zenaida. (1999). Mancha bacteriana del tomate y del pimiento, aspectos epidemiológicos y de control. Tesis en Opción del Título Académico de Maestro en Ciencias en Microbiología, Mención Microbiología General. Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 60 pp
- 2.Andermino, Sr.; Schereuder, W.; y Grobler. P. (2000). Bacterial leaf spot control strategies. AgriSuportOnline a sh., Melbourne, Australia. <http://www.agrisuportonline.com/bacterial.htm>

- 3.Barrios, Odalys.(2000). Estudio de los Recursos Genéticos del Género *Capsicum* (ají y pimiento) en Cuba. Tesis para Optar por el título de Maestro en Ciencias Biológicas. Facultad de Biología, Universidad de la Habana. 70 p
- 4.Black, R.; Seal, S.; Abubakar, Z.; Womdim, R. N.; y Swai, I. (2001). Bacterial spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) of tomato and sweet pepper in Tanzania. *Plant Pathology*, 50 (6): 810
- 5.Bustamante, E.; y Gamboa, A. (2002). Mancha bacteriana de la hoja y fruto de chile y tomate. Hoja Técnica. RMIP No. 58. Area de Agricultura Tropical Sostenible, CATIE, Turrialba, Costa Rica. pp: 5
- 6.EPPO CABI. (1999). EPPO el Banco de datos de PQR. París, Francia.
- 7.Hansen, Mary-Ann. (2000). Bacterial spot of pepper. Virginia Pest Management Guide for Home Grounds and Animals (VCE Publication 456-018), <http://www.ext.vt.edu/pubs/pmg>
- 8.Hevesi, María; Larrea, O.F.; y Velazco, D. F. (1971). Mancha bacteriana del pimiento y el tomate causada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doige) Dowson en Cuba. *Rev. CENIC*, 3: 145-155
- 9.Marrero, Aleida y Barrios, J. G. (1985). Comportamiento de variedades de pimiento (*Capsicum annuum* L.) frente a *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria*. *Ciencias de la Agricultura*, 23:12-19
- 10.OEPP/EPPO (2002). Data sheets on quarantine organism. No. 45. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Bulletin OEPP/EPPO. Bulletin 22: 247-252
- 11.Pickersgill Bárbara.(2000). Peppers and chillies. *En Encyclopedia of Food Sciencies and Nutrition*. Ed. B. Caballero, L. Lugo and P. Finglas. Academic Press
- 12.Rista, L. M. (2003). Enfermedades de cultivos en invernaderos: III. Tomate y pimiento: Enfermedades causadas por bacterias. Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ciencias Agrarias, Cultivos Intensivos, Documentación de Extensión No. 31, Argentina/Untitled.htm
- 13.Rodríguez Soto,W.(2003). Caracterización de aislamientos de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, e identificación de fuentes de resistencia en el germoplasma del género *Capsicum* en Cuba. Tesis en opción del título académico de Maestro en Sanidad Vegetal, Mención Fitopatología. INIFAT-Universidad Agraria de la Habana. pp: 96
- 14.Rowell, B; Jones, R. T.; Nesmith, W.; Sataneek, A.; y Snyder, J. C. (2001). Bacterial spot resistance, yield, and quality of bell and specialty peppers. *Horttechnology*, 11 (4): 648-657
- 15.Szenethanyl, O. y Hevesi., M. (2001). Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* strains by pepper lines possessing different resistance genes. *Novenyvedelem*. Hungría. 37 (2): 53-58
- 16.Tegegn, T. (2003). A review of bacterial leaf spot of peppers (*Capsicum annuum* L.) caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doige) Dye and some methods of its control. Its act Horticulture 158: X African Symposium on Horticultural Crops
- 17.Townsend, G. R.; y Heubeger, J. W. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report* . 27 (17): 340-343
- 18.Wenzl, H. (1963). Zur unterscheidung von Y- und A im abreibeverfahren (Schalentest) auf *Solanum demissum* A6. *Pflanzenschutz Berichte*. Tomo III. No. 11/12: 161-172

Tabla 1. Composición del germoplasma de *Capsicum* spp. evaluado.

Cultivares	No. muestras	Especie	Cultivares	No. muestras	Especie
California Wonder	4	C.a	Ají tomate	3	C.a
Pimiento morrón	10	C.a	Ají jardín	4	C.a
Español	4	C.a	Ají cachucha	13	C.c

Medalla de Oro	4	C.a	Chile	30	C.f
Ají chay	31	C.a	Ají agujeta	12	C.f
Cayena	6	C.a	Ají guaguao	17	C.f

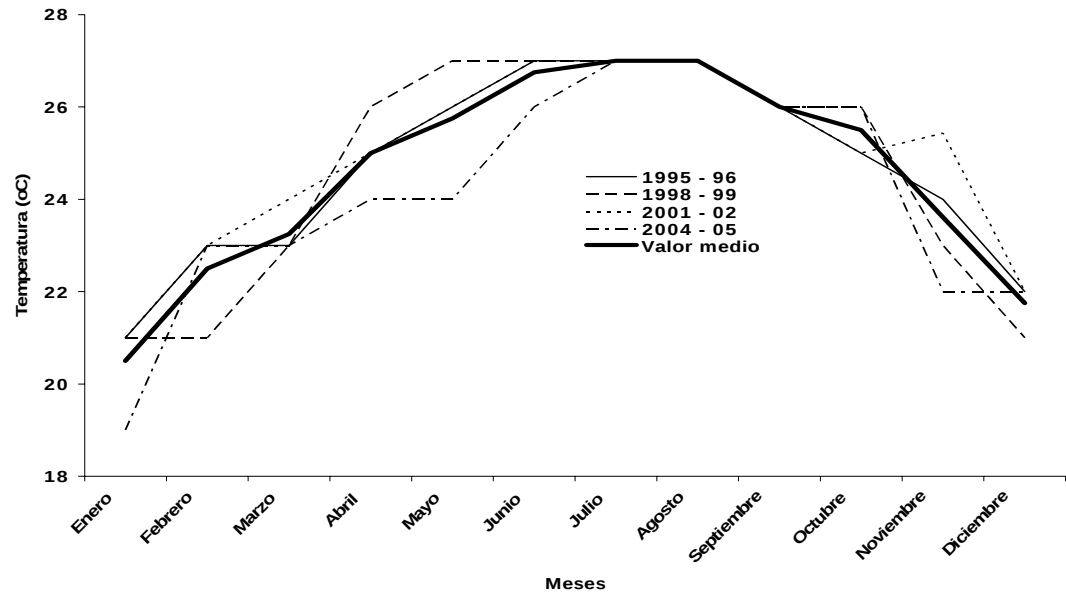
C. a: *Capsicum annum*, **C. f :** *Capsicum frutescens*, **C. c:** *Capsicum chinense*

Tabla 2. Índices de infección alcanzado por los cultivares frente a la bacteriosis

Grupos		Forma del Fruto	Bacteria	
			Infección (%)	Grupo de resistencia
I	I a	California Wonder	0 - 6	R
	I b	Ají chay	0 - 7	R
II	II a	California Wonder	13 - 15	MR
	II b	Ají chay	10 - 19	MR
III		California Wonder-Chay	44 - 50	MS
IV	IV a	Medalla de Oro	0.7	AR
	IV b	Pimiento morrón	0.7	AR
V	V a	Medalla de Oro	11 - 15	MR
	V b	Pimiento morrón	13 - 17	MR
VI		Español	6 - 10	R
VII	VII a	Español	14 - 19	MR
	VII b	Español-M. Oro-P. Morrón	25 - 27	MS
VIII		Ají tomate	0 - 10	R
IX		Ají cachucha	0 - 5	R
X		Ají cachucha	7 - 15	MR
XI		Ají cachucha	0 - 3	R
XII		Cachucha-Tomate-Cayena	33 - 52	MS
XIII		Chile picante-Cayena	0 - 3	R
XIV		Ají guaguao-Ají agujeta	0.1	A R
XV		Chile picante-Ají de jardín	5 - 15	MR
XVI		Chile pte-Guaguao-Agujeta	28 - 55	MS
XVII		Chile dulce	0 - 12	MR
XVIII		Chile picante	0.1	AR

XIX	Ají guagua-Ají cachucha	0	I
-----	-------------------------	---	---

Figura 1. Comportamiento de las variables climáticas durante los años de estudio.



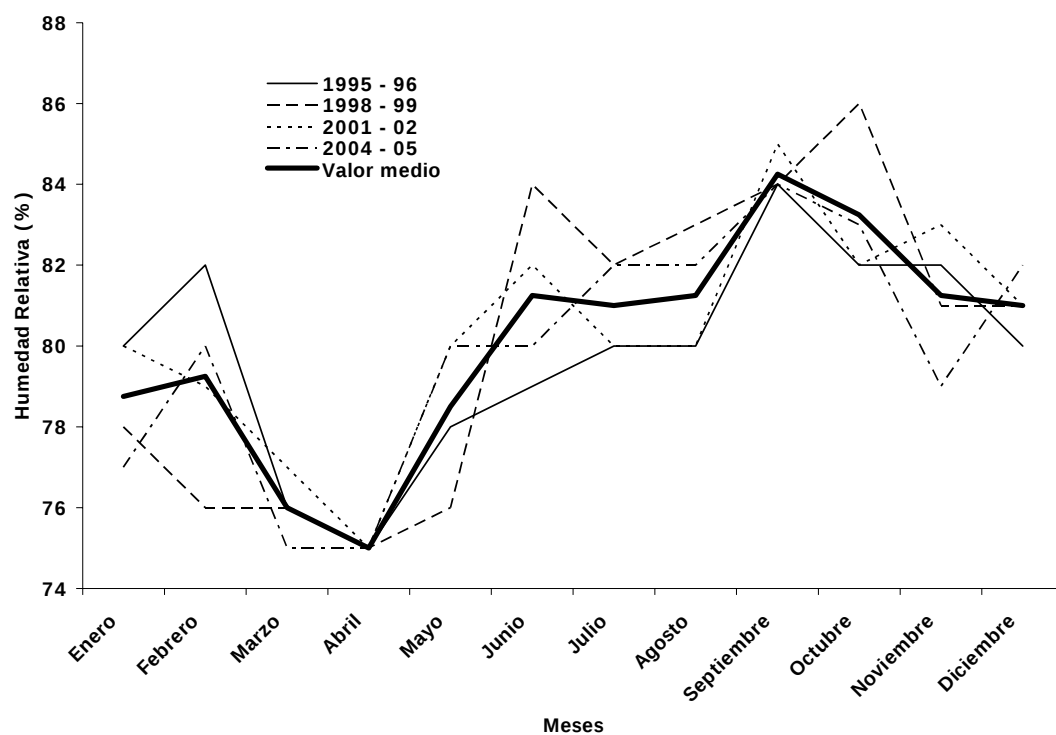
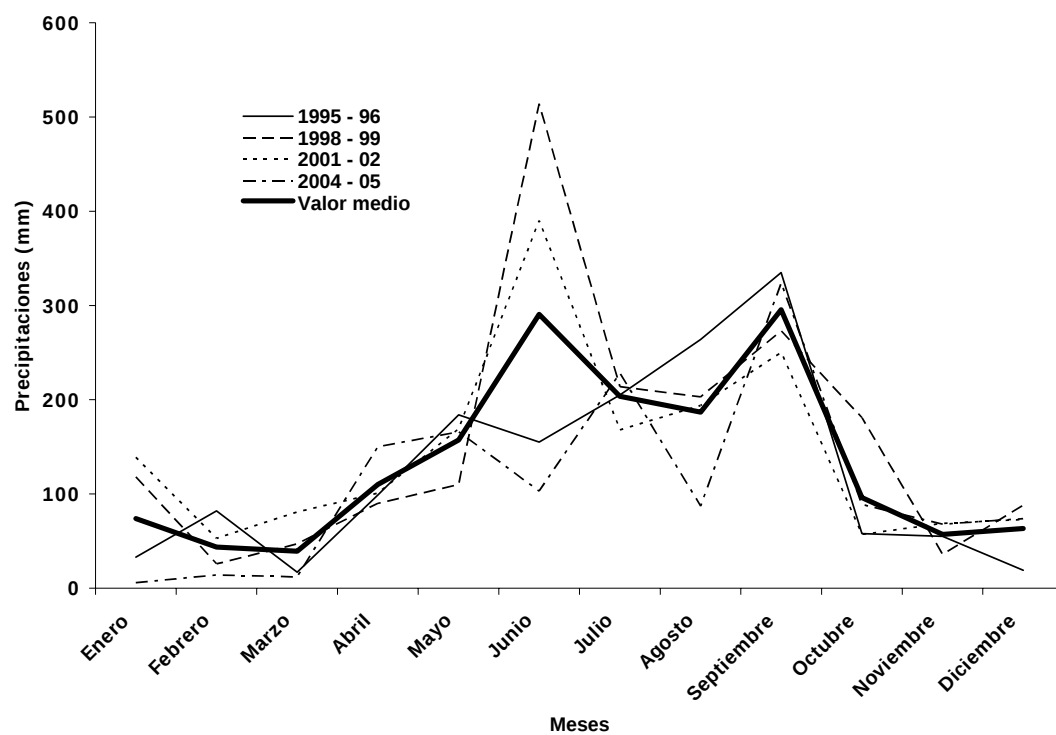


Figura 1. Continuación



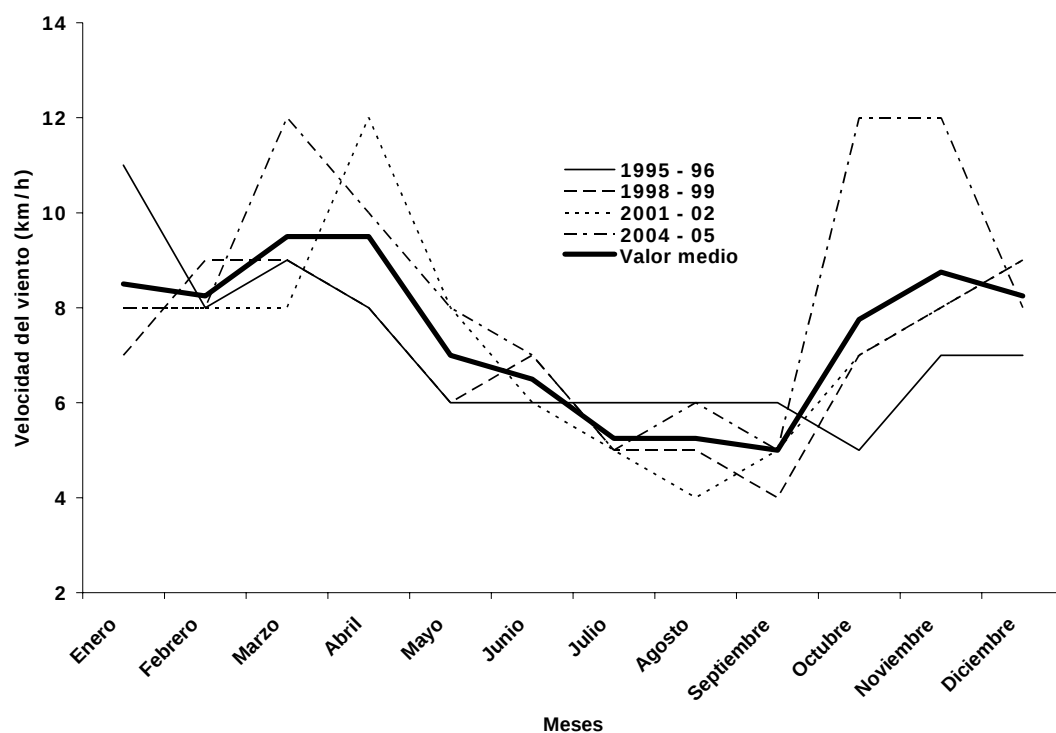


Figura 2. Clasificación de la colección de *Capsicum* spp. de acuerdo a la resistencia frente a la mancha bacteriana en condiciones de infección natural.

