

# PATÓGENOS DEL SUELO EN EL CULTIVO DE PIMENTÓN EN LA ZONA BAJA DEL MUNICIPIO JIMÉNEZ, ESTADO LARA, VENEZUELA

Yoleidy Escalona<sup>1</sup>, Dorian Rodríguez<sup>1</sup>, Nancy Contreras<sup>1</sup> y Nixon Jiménez<sup>1</sup>

## RESUMEN

La producción de pimentón (*Capsicum annum* L.) ocupa el cuarto lugar en relación a otras hortalizas en Venezuela. Entre las enfermedades más importantes causadas por patógenos del suelo que afectan al cultivo se encuentran la marchitez, amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo, síntomas que han sido observados en la parte baja del municipio Jiménez. Con la finalidad de determinar la identidad de los patógenos involucrados en dicho problema se llevó a cabo el presente trabajo, mediante el muestreo de fincas cultivadas con pimentón, ubicadas en las parroquias Tintorero, Cuara, Cabo José Dorante, Coronel Mariano Peraza y Juan Bautista Rodríguez del municipio. Se colectaron plantas con síntomas de estas enfermedades, así como muestras de suelo. Empleando técnicas usuales de diagnóstico, se determinó que *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* sp., *Erwinia* sp., *Fusarium oxysporum* y *Ralstonia solanacearum* están asociados con la marchitez; así mismo, los nemátodos *Tylenchorhynchus annulatus*, *Rotylenchulus reniformis*, *Helicotylenchus dihystra*, *Aphelenchoides* sp. y *Meloidogyne incognita*, también afectaron a las plantas. La presencia de estos patógenos en la zona amerita tomar medidas de control para prevenir mayores daños al cultivo. **Palabras clave adicionales:** *Rhizoctonia*, *Erwinia*, *Ralstonia*, *Fusarium*, *Meloidogyne*, diagnóstico

## ABSTRACT

### Soil pathogens in bell pepper grown at the low basin of the Jimenez county of Lara State, Venezuela

Bell pepper (*Capsicum annum* L.) is the fourth most cultivated vegetable in Venezuela. It is affected by several diseases being, the most important those caused by soil pathogens, such as wilt, yellowing and/or poor development, which are found in the basin of Jimenez County. To determine the identity of the pathogens involved in such problems, the present study was conducted by means of sampling farms located in the following places: Tintorero, Cuara, Cabo José Dorante, Coronel Mariano Peraza y Juan Bautista Rodríguez. Sampling included soils and symptomatic plants. By conventional diagnostic techniques it was found that *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* sp., *Erwinia* sp., *Fusarium oxysporum*, and *Ralstonia solanacearum* are associated with the wilt. Likewise, the nematodes *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis*, *Tylenchorhynchus annulatus*, *Helicotylenchus dihystra*, and *Aphelenchoides* sp. were also affecting the crop. The presence of these pathogens in the area suggests that control measures should be taken to prevent major damages to the crop.

**Additional key words:** *Rhizoctonia*, *Erwinia*, *Ralstonia*, *Fusarium*, *Meloidogyne*, diagnostic

## INTRODUCCIÓN

El pimentón es una hortaliza que en Venezuela ocupa el cuarto lugar en relación a otras hortalizas, siendo su producción para el 2005 de 88.000 toneladas métricas. La producción y la superficie sembrada ha disminuido en los últimos años; no obstante, el rendimiento se ha incrementado principalmente por la utilización de materiales híbridos y por mejoras en el riego y fertilización (FAO, 2006).

El problema fitosanitario más frecuentemente diagnosticado en el estado Lara es la marchitez (Pineda et al., 2003), enfermedad que puede presentarse en cualquier edad del cultivo y causar pérdidas en la cosecha de hasta un 100% (Pérez et al., 2002). Los hongos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Phytophthora capsici* Leonian han sido asociados con la marchitez en pimentón en otros países (Johnston, 1999; Pérez et al., 2002; Romero et al., 2003). Así mismo, las bacterias *Ralstonia solanacearum* y *Erwinia caratovora* subsp.

---

Recibido: Noviembre 25, 2005

Aceptado: Abril, 28, 2006

<sup>1</sup> Posgrado de Fitopatología. Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela. e-mail: eyoleidy@yahoo.es; rdorian@ucla.edu.ve

*caratovora* han sido aisladas de diversas especies de *Capsicum* (Contreras et al., 1999; Fiori y Shaffino, 2004). Entre los nemátodos mencionados que pueden causar problemas de amarillamiento y poco desarrollo vegetativo en pimentón se han señalado a *Meloidogyne incognita* como uno de los más importantes (Resende, 1997).

En plantaciones de pimentón ubicadas en la parte baja del municipio Jiménez, actualmente se presentan problemas de marchitez en cultivos con normal suministro de humedad. Adicionalmente, se observa un lento desarrollo vegetativo o enanismo en algunas plantas, pero no se dispone de documentación sobre agentes causales ni las superficies afectadas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio consistió en identificar los patógenos asociados con los síntomas observados en el cultivo, así como determinar su nivel de incidencia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en fincas de las parroquias Tintorero, Cuara, Coronel Mariano Peraza, Cabo José Dorante y Juan Bautista Rodríguez del municipio Jiménez, cultivadas con pimentón entre octubre 2003 y junio 2004. La zona se encuentra a aproximadamente 670 msnm con un clima semiárido, precipitación entre 300 y 500 mm al año y temperatura media de 25,1 °C. En cada parcela se realizó un estimado de la población o área total del cultivo y de la población o área con síntomas de marchitez, pudrición, amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo. El muestreo fue dirigido a las plantas con síntomas.

De las plantas con síntomas de marchitez se tomó la raíz y parte del tallo, las cuales se colocaron en bolsas de polietileno. De las plantas que presentaron poco desarrollo vegetativo y amarillamiento se colectaron 5-10 muestras por cada síntoma encontrado, y se tomó la raíz con aproximadamente 1 kg de suelo.

### **Incidencia de marchitez, amarillamiento y/o poco desarrollo**

Se contabilizó el total de fincas muestreadas, el número de fincas que presentaban síntomas, la población total de cada finca y la población de plantas con síntomas. Se determinó la incidencia de la enfermedad en cada finca muestreada y en la

zona de estudio.

### **Aislamiento, identificación y pruebas de patogenicidad de hongos**

El material vegetal se lavó con agua y se hicieron cortes que fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 1,2 % y se colocaron en cápsulas con agar agua (AA). Se incubó a temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ) y una vez observado el crecimiento se transfirió a cápsulas con agar papa dextrosa (PDA).

Para la identificación de las especies de *Fusarium* se siguió la metodología de Nelson et al. (1983). Se realizaron cultivos monospóricos y se sembraron en tubos con PDA, en placas con agar agua y hojas de clavel (AAC) para promover la formación de clamidosporas. Posteriormente se realizaron láminas con lactofenol y azul de algodón que fueron observadas en el microscopio óptico y se realizaron mediciones de 100 conidios, conidióforos y células conidiogénicas, cuantificando el número de septos en cada conidio. Para la inoculación de estas cepas se preparó una suspensión de inóculo con colonias puras del hongo. La concentración de la suspensión se determinó con un hematocímetro, ajustando la concentración a  $1 \times 10^7$  microconidias·mL<sup>-1</sup>.

Para la identificación de *Phytophthora* sp. se prepararon fiolas con 250 mL de ADE, se colocaron trozos de grama esterilizadas de 5 mm de largo y 3 discos de 4 mm del micelio del hongo cultivado en PDA. Las fiolas se incubaron a  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 10-15 días. Una vez observado el crecimiento micelial se realizaron observaciones al microscopio en láminas portaobjeto teñidos con azul de algodón y lactofenol. También se observaron láminas preparadas de micelio desarrollado en AA, agar avena, agar harina de maíz y agar vegetales. Posteriormente se realizaron mediciones de las estructuras reproductivas (oogonios, anteridios y oosporas). Para la inoculación se prepararon fiolas con grama esterilizada y micelio, similarmente al procedimiento anterior, luego se procedió al licuado, filtrado y conteo de las zoosporas liberadas por las oosporas. Este conteo se realizó con un hematocímetro ajustándose la concentración a  $1 \times 10^8$  zoosporas·mL<sup>-1</sup>.

Para la especie *Rhizoctonia* se siguió el método de Sneh et al. (1991) el cual consiste en

realizar la caracterización nuclear de la cepa mediante la tinción de núcleos con azul de anilina al 0,5% y se observaron al microscopio las características de las hifas. Así mismo, se hicieron observaciones sobre el color de la colonia y la producción de esclerocios.

Para las pruebas de patogenicidad se utilizaron plantas de pimentón del híbrido Camelot, sembradas en bolsas de polietileno de 20 x 25 cm, con una mezcla de sustrato de suelo y cáscara de arroz en proporción 2:1, esterilizado con vapor. La inoculación se realizó cuando las plantas tenían 50 a 60 días de edad. En las cepas de *Fusarium* se aplicó el método de inoculación utilizado por Martínez et al. (1996), el cual consistió en eliminar el cepellón a la planta, realizar pequeños cortes a las raíces y sumergirlas en la suspensión de inóculo durante una hora. Se inocularon tres plantas dejando dos como testigo para cada cepa. Con las cepas de *Phytophthora* sp. se procedió de igual forma colocando las plantas en cámara húmeda durante 24 horas.

Para inocular *Rhizoctonia* sp. en el hoyo de plantación se colocaron 20 g del arroz inoculado previamente con el hongo y las raíces fueron tratadas de igual manera que con las cepas de *Fusarium*. Se utilizó el mismo número de plantas usadas para los otros hongos.

#### **Aislamiento, pruebas de patogenicidad e identificación de bacterias**

Se realizaron cortes del tallo con lesiones desinfectados que fueron colocados en cápsulas con agar nutritivo (AN). Las cápsulas se incubaron hasta observar el crecimiento bacteriano. Posteriormente, la bacteria fue transferida a AN por el método de dilución en serie para la obtención de colonias individuales a las cuales se les realizaron pruebas presuntivas con KOH al 3% para determinar la condición Gram y la tinción con rojo congo para determinar la forma de la célula bacteriana determinando así su fitopatogenicidad.

Las colonias que resultaron fitopatógenas fueron repicadas en AN trascurridas 48 horas para obtener un cultivo puro que se utilizó para la realización de las pruebas de patogenicidad y la identificación del patógeno.

De las cepas bacterianas puras desarrolladas en AN de 24 a 48 horas, se prepararon suspensiones con una concentración de  $10^8$  células·mL<sup>-1</sup> según

la escala de McFarland (Klement et al., 1990). Se utilizaron plantas de la variedad Júpiter de 60 días de edad cultivadas en bolsas de polietileno con la mezcla de sustrato descrita anteriormente. Para la inoculación de las dos cepas bacterianas se utilizó el método de aplicación directa para lo cual se realizó un ligero corte en el tallo, se colocó una pequeña mota de algodón estéril previamente sumergido en la suspensión de inóculo y se selló con envoltura plástica transparente. Un total de tres plantas por cepa fueron inoculadas y dos se dejaron como testigo. Las plantas se mantuvieron en cámara húmeda durante 72 horas. Se realizaron observaciones hasta observar los síntomas, luego se aisló la bacteria y se identificó.

Las cepas bacterianas se identificaron mediante la determinación de características culturales, morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. En el primer caso, se observaron características de borde, elevación, consistencia y color de las cepas individuales cultivadas en medio AN. Para el color de las colonias se usó el medio extracto de levadura dextrosa y bicarbonato (YDC), mientras que para las características morfológicas se observó en el microscopio óptico la forma de la célula mediante tinción de Gram y tinción con rojo congo (Schaad, 1994). Para la determinación de las características fisiológicas y bioquímicas se realizaron las pruebas de KOH al 3%, bactotioglicolato, de Hugh y Leifson, bactofoenol rojo dextrosa agar, Oxidasa, Catalasa, pudrición de papa y se sembraron en los medios selectivos de Kado y Heskett, el medio tetrazolium de Kelman (TTC) y el B de King (KB) (Schaad, 1994).

#### **Extracción e identificación de nemátodos**

Para la extracción de los nemátodos se utilizaron muestras de 100 cm<sup>3</sup> de suelo, las cuales se procesaron con un elutriador de Oostenbrink y se limpiaron con el embudo de Baerman. Las raíces se trituraron en licuadora durante 10 s a velocidad baja, la suspensión resultante se limpió utilizando el mismo método y se procedió luego a la identificación de géneros con el microscopio estereoscópico. Posteriormente, los nemátodos obtenidos fueron fijados en formol (2,5%) caliente (80 °C) y finalmente se montaron láminas siguiendo el método de Baker. Para la identificación de las especies se realizaron mediciones de las estructuras morfológicas y

anatómicas a 15 ejemplares de cada especie (Siddiqi, 2000).

### Frecuencia de obtención de fitopatógenos

Se determinó el porcentaje de obtención de los hongos, bacterias y nemátodos identificados como patogénicos, de acuerdo a los géneros y especies encontradas en las muestras analizadas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Incidencia de marchitez, amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo

De las 18 fincas visitadas en las parroquias del municipio Jiménez, 14 de ellas presentaron plantas con síntomas de marchitez, lo cual representó un 77,78% de las fincas afectadas durante el período de muestreo. Los síntomas de amarillamiento y poco desarrollo vegetativo se presentaron en 10 de las 11 fincas evaluadas (90,9 % de fincas afectadas). La incidencia de estos síntomas por finca fue muy bajo (Cuadro 1) oscilando entre el 0,05 y 10% de plantas por finca

afectada con problemas de marchitez y entre 0,5 y 6% con problemas de amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo.

### Aislamientos, identificación y pruebas de patogenicidad de las colonias de hongos

Se obtuvieron cinco especies diferentes de hongos. La especie 1 presentó colonias con micelio aéreo, de crecimiento rápido, color púrpura por ambas caras y esporodoquios de color azul. El estudio microscópico reveló la presencia de abundantes macroconidias, fusiformes o casi rectas, célula basal en forma de pie, con 1 a 2 septos, de  $8,8 \mu\text{m} \pm 1,7 \times 2,5 \mu\text{m} \pm 0,5$ ; microconidias abundantes de células simples, ovoides o reniformes, formadas en cadenas y falsas cabezas, de  $4,8 \mu\text{m} \pm 0,7 \times 2,5 \pm 0,6 \mu\text{m}$ ; conidióforo en monofialide y polifialide; clamidosporas ausentes. Estas características coinciden con las señaladas para la especie de *Fusarium proliferatum* Matsushima (Nelson et al., 1983) (Cuadro 2).

**Cuadro 1.** Población de plantas con síntomas de marchitez, amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo en cultivos de pimentón en cinco parroquias del municipio Jiménez, estado Lara, durante el período octubre 2003-junio 2004

Parroquias	Número de fincas evaluadas	Población total de plantas	Rango de incidencia de marchitez (%)	Rango de incidencia de amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo (%)
Tintorero	10	230.333	0-10	0-6 <sup>1</sup>
Cuara	1	35.720	6	NE
Cabo José Dorante	3	126.440	0-5	0,55-5
Juan Bautista Rodríguez	2	291.150	0-1,1	0,5-0,63
Coronel Mariano Peraza	2	75.930	0,1-2,5	1,1-2

<sup>1</sup> Sólo cuatro fincas evaluadas NE: No evaluada

La especie 2 presentó colonias con abundante micelio aéreo de crecimiento rápido, color ligeramente púrpura en su cara inferior y esporodoquios de color naranja. El estudio microscópico reveló la presencia de escasas macroconidias, con paredes delgadas, célula apical atenuada y célula basal en forma de pie, de 1 a 3 septos, de  $16,6 \mu\text{m} \pm 8,3$  de largo, ancho en el ápice  $2,6 \pm 0,6 \mu\text{m}$  y en la base  $3,4 \pm 0,6 \mu\text{m}$ ; microconidias abundantes generalmente de células simples, ovals o reniformes, producidas en falsas cabezas, de  $5,7 \mu\text{m} \pm 0,7 \times 2,5 \mu\text{m} \pm 0,5$ ; conidióforo de  $25,7 \mu\text{m} \pm 14,4$  de largo y ancho del ápice  $2,3 \pm 0,5$  y base  $3,3 \pm 0,5 \mu\text{m}$ , en monofialide; clamidosporas abundantes en forma

simple o en pares de  $14,9 \mu\text{m} \pm 7,4 \mu\text{m} \times 8,4 \mu\text{m} \pm 3,8 \mu\text{m}$ . Estas características coinciden con las señaladas para la especie de *Fusarium oxysporum* Schl. (Nelson et al., 1983) (Cuadro 2).

La especie 3 presentó colonias con micelio aéreo, de crecimiento rápido, color crema por su cara superior e inferior y esporodoquios de color crema. El estudio microscópico reveló la presencia de macroconidias abundantes, con paredes delgadas, generalmente cilíndricas, célula basal y apical redonda, de 1 a 3 septos, de dimensiones  $27,9 \mu\text{m} \pm 7,1$  de largo y ancho del ápice  $2,1 \mu\text{m} \pm 0,5$  y base  $3,1 \pm 0,5 \mu\text{m}$ ; microconidias presentes y abundantes, generalmente de células simples, ovaladas o

reniformes, de  $9,6 \mu\text{m} \pm 1,05$  x  $3,1 \mu\text{m} \pm 0,7$ ; conidióforos con una longitud de  $62,5 \mu\text{m} \pm 22,1$  y ancho de la base  $3,7 \mu\text{m} \pm 0,6$  y ápice  $2,8 \mu\text{m} \pm 0,6$ , ramificado o no ramificado en monofialide; clamidosporas presentes en forma simple o en cadenas de longitud  $20,1 \mu\text{m} \pm 10,6$  y ancho de la base  $6,5 \pm 1,5$  y ápice  $6,0 \pm 2, \mu\text{m}$ . Estas características coinciden con las señaladas para la especie de *Fusarium solani* Mart (Nelson et al., 1983) (Cuadro 2).

La especie 4 presentó colonias con escaso micelio aéreo, de crecimiento rápido, color crema por ambas caras y con esporodoquios de color crema. El estudio microscópico reveló la presencia de macroconidias con paredes delgadas, fusiformes o casi rectos, célula basal en forma de pie, con 1 a 2 septos, de  $19,8 \pm 4,4$  de longitud y ancho de la base  $3,2 \mu\text{m} \pm 0,5$  y ápice  $2,4 \pm 0,5$

$\mu\text{m}$ ; microconidios presentes generalmente de células simples, ovaladas, formadas en cadenas y falsas cabezas, de  $7,8 \mu\text{m} \pm 1,4$  de largo y ancho  $2,2 \mu\text{m} \pm 0,4$ ; conidióforo puede estar o no ramificado, en monofialide; clamidosporas ausentes. Estas características coinciden con las señaladas para la especie de *Fusarium moniliforme* Sheldon (Nelson et al., 1983) (Cuadro 2).

La especie 5 presentó colonias con abundante micelio aéreo, muy algodonoso, de crecimiento rápido y color blanco. El estudio microscópico reveló la presencia de oogonios de  $21,3 \mu\text{m} \pm 1,6$   $\mu\text{m}$ ; oosporas de  $16,6 \mu\text{m} \pm 2 \mu\text{m}$ ; anteridio tipo anfígeno y no se observaron esporangios. Estas características coinciden con las señaladas para el género *Phytophthora* sp. Leonian (Agrios, 1999) (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Patógenos aislados de plantas de pimentón que presentaron síntomas de marchitez, amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo y frecuencia de aparición de hongos, bacterias y nemátodos en las parroquias Tintorero, Cuara, Cabo José Dorante, Coronel Mariano Peraza y Juan Bautista Rodríguez del municipio Jiménez, estado Lara, durante el período octubre 2003-junio 2004

Patógeno	Especie	Lugar de colección	Variedad de pimentón	Total de aislados o muestras	Frecuencia de aparición (%)
Hongos	<i>Fusarium proliferatum</i>	La Costa	Camelot	33	3
	<i>Fusarium oxysporum</i>	La Costa y El Auyamal	Camelot	33	6
	<i>Fusarium solani</i>	Tintorero, El Jagüey, Cerro Pelón, Guadalupe, las Nigüitas, las Raíces, La Vigía y Canape	Camelot y Benigton	33	42,4
	<i>Fusarium moniliforme</i>	Las Galias, Las Raíces, El Tanquecito y Maguace	Camelot y Benigton	33	12,12
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Las Galias, Guadalupe y La Vigía	Camelot	33	15,15
	<i>Phytophthora</i> sp.	Cerro Pelón, El Jagüey	Camelot	33	9
Bacterias	<i>Erwinia</i> sp.	La Costa y El Pozón	Camelot	33	9
	<i>Ralstonia solanacearum</i>	El Pozón	Camelot	33	3
Nemátodos	<i>Tylenchorhynchus annulatus</i>	El Jagüey, Cerro Pelón, Las Raíces, La Vigía, Canape, El Tanquecito	Camelot y Benigton	40	30
	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	El Jagüey, Las Raíces, La Vigía, Maguace y El Auyamal	Camelot y Benigton	40	30
	<i>Aphelenchoides</i> sp.	El Jagüey, Cerro Pelón, Guadalupe, Las Nigüitas, Las Raíces y El Caujaral	Camelot y Benigton	40	20
	<i>Helicotylenchus dihystra</i>	Guadalupe, Las Raíces, El Tanquecito, El Auyamal	Camelot	40	17,5
	<i>Meloidogyne incognita</i>	Las Nigüitas, Las Raíces, Guadalupe, El Tanquecito y El Caujaral	Camelot y Benigton	40	17,5

La especie 6 presentó colonias con micelio de color marrón claro, de crecimiento rápido, con

esclerocios presentes, de forma irregular y color marrón. Microscópicamente se observaron hifas

formando un ángulo de 90°, con constricción cerca de la base. La tinción con azul de anilina permitió observar células somáticas multinucleadas. Estas características coinciden con las señaladas para la especie *Rhizoctonia solani* Kühn (Sneh et al., 1991) (Cuadro 2).

La inoculación de plantas con *Fusarium proliferatum* no reprodujo los síntomas observados en campo, lo que evidencia que *F. proliferatum* podría estar allí como saprofito; sin embargo, se aisló *Erwinia* sp. la cual sí indujo los síntomas observados en el campo. La inoculación para *Fusarium oxysporum* resultó efectiva observándose después de 40 días una clorosis ligera en las hojas, las cuales posteriormente se tornaron flácidas, a los 60 días la marchitez fue generalizada y a los 90 días ocurrió la muerte de la planta. Al realizar cortes transversales y longitudinales a nivel del cuello se observó una coloración marrón claro en la base con trayectoria ascendente, lo que evidencia que el hongo obstruyó los haces vasculares. En el reislamiento, se obtuvieron colonias características de *Fusarium oxysporum*.

Para *Fusarium solani* también resultó efectiva la inoculación, observándose a partir de 60 días una clorosis generalizada, seguida por la flaccidez leve y caída prematura de las hojas; en el cuello de la planta se observó una pudrición seca y la epidermis se desprendía con facilidad. En el reislamiento se obtuvieron colonias características a *Fusarium solani*.

La inoculación con *Fusarium moniliforme* produjo una leve clorosis en algunas hojas a los 60 días; en el reislamiento se obtuvieron colonias características de *Fusarium moniliforme*, aunque sólo de la parte externa del tallo y de la raíz. En la inoculación con *Phytophthora* sp. la inoculación resultó efectiva observándose a partir de 40 días una pudrición de color marrón en el cuello de la planta, la cual progresó en forma ascendente; aproximadamente a los 60 días, las hojas se tornaron amarillentas y las inferiores se desprendían, luego se observó la marchitez y posterior muerte de la planta, alrededor de los 80 días. En el reislamiento, se obtuvieron colonias características de *Phytophthora* sp.

La técnica de inoculación con *Rhizoctonia solani* resultó efectiva observándose a partir de los 30 días de la inoculación una marchitez leve en toda la planta, aumentando en severidad dos

semanas más tarde. En el cuello se observó una intensa necrosis de color marrón con el sistema radical reducido. En el reislamiento se obtuvieron colonias características de *Rhizoctonia solani*. Tanto en el caso de este hongo, como de *F. solani* y *Phytophthora*, se observó que ocasionaban una necrosis del peridermo que luego avanzaba y destruía los vasos conductores, induciendo una marchitez tardía.

Las localidades afectadas por *F. oxysporum* fueron El Pozón y El Auyamal, ambas de la parroquia Tintorero. *Fusarium solani* fue la especie más distribuida en el área muestreada, afectando localidades como Tintorero, El Jagüey, Cerro Pelón, Guadalupe, Las Nigüitas, Las Raíces, La Vigía y Canape (Cuadro 2). Estas dos especies poseen clamidosporas las cuáles son estructuras de resistencia que pueden sobrevivir en el suelo durante mucho tiempo, lo que se debe tomar en cuenta a la hora de sembrar progresivamente este rubro o al momento de la utilización de materiales susceptibles. Aunque Mustaq y Hashmi (1997) encontraron a *F. moniliforme* asociado con la marchitez, en este estudio no se evidenció que pudiera estar afectando significativamente el cultivo. No obstante, estuvo presente en Las Galias, Las Raíces, El Tanquecito y Maguace; en las dos primeras provenía de muestras de donde también se aislaron *R. solani* y *F. solani*, los cuales mostraron mayor severidad en las pruebas de patogenicidad.

*Phytophthora* sp. fue aislado de muestras procedentes de El Jagüey y Cerro Pelón que presentaban pudrición en el cuello y la raíz. En las pruebas de patogenicidad los síntomas observados fueron similares a los observados en el campo y aquellos observados por Velásquez et al. (2001), quienes también señalaron daños en los órganos reproductores y maduración irregular en el cultivo. La identificación de este patógeno fue la más difícil debido a que se no se evidenció su reproducción asexual, aun cuando fueron usadas diferentes metodologías que promovían la esporulación de este patógeno, por lo que se llegó sólo hasta la categoría de género. *R. solani* se encontró en Las Galias, La Vigía y Guadalupe, siendo esta última la más afectada. En las pruebas de patogenicidad resultó ser más agresivo ya que la enfermedad se desarrolló en menor tiempo que con los otros hongos. Los síntomas observados fueron similares a los descritos por Almeida et al.

(1980) en Brasil.

*Fusarium oxysporum* ha sido aislado de plantas de pimentón y ají con síntomas de marchitez en el municipio Colina del estado Falcón, en Venezuela (Romero et al., 2003). Además, las otras especies han sido reportadas en otros países; por ejemplo, en Pakistán, Saleen et al. (1997) aislaron *F. solani* y *R. solani* de plantas de pimentón que presentaban marchitez, pudrición del cuello y raíz. En España, Pomar et al. (2001) reportaron estos dos hongos como patógenos causantes de la “tristeza” del pimentón. *F. moniliforme* también se ha encontrado asociado a la marchitez en este cultivo en Pakistán (Mustaq y Hashmi, 1997). Pérez et al. (2002) identificaron a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Phytophthora capsici* como

hongos que causaban la marchitez del cultivo en México.

### Aislamiento, pruebas de patogenicidad e identificación de patógenos bacterianos

Al realizar el aislamiento se obtuvieron dos colonias bacterianas diferentes, una de color crema y la otra blanco cremoso; ambas presentaron formas de bastones cuando fueron observadas al microscopio de luz (100X) con la tinción de rojo congo. Con el KOH al 3 %, ambas resultaron ser Gram (-) (Cuadro 3) ya que formaron un hilo mucilaginoso (Klement et al., 1990). Al obtener los cultivos puros se procedió a realizar las pruebas de patogenicidad.

**Cuadro 3.** Pruebas realizadas a las bacterias identificadas en las parroquias Tintorero, Cuara, Cabo José Dorante, Coronel Mariano Peraza y Juan Bautista Rodríguez del municipio Jiménez, estado Lara, durante el período octubre 2003-junio 2004

Prueba	<i>Ralstonia solanacearum</i>	<i>Erwinia</i> sp.
KOH al 3%	+	+
Tinción con rojo congo	Célula bacteriana en forma de bastón	Célula bacteriana en forma de bastón
Bactotiglicolato (prueba de aerobiosis)	+	-
Hugh and Leifson (anaerobiosis)	-	+
Bactofenol rojo dextrosa agar (prueba de acidez)	+	+
Oxidasa	+	-
Catalasa	+	+
Crecimiento en agar nutritivo	+ Color crema	+ Color blanco cremosa
Crecimiento en extracto de levadura dextrosa y bicarbonato (YDC)	+ Color crema a marrón	+ Color blanco cremosa
Crecimiento en D1 de Kado y Heskett	-	-
Crecimiento en D3 de Kado y Heskett	-	+
Formación de colonias centro púrpura en medio Tetrazolium de Kelman (TTC)	+	NA
Fluorescencia en el medio B de King	-	NA

NA: No aplica

La inoculación con la bacteria color crema indujo síntomas a partir del tercer día. Las plantas mostraron marchitez sólo en una o dos hojas, las cuales se recuperaban durante las horas frescas del día, también se pudo observar un necrosamiento en el punto de inoculación. Entre los 8 y 10 días la marchitez fue generalizada causando la muerte de la planta aproximadamente a los 30-35 días. En el reaislamiento se obtuvo una colonia bacteriana a la cual se le realizaron las pruebas presuntivas las cuales coincidieron con las características de la bacteria inoculada.

Al inocular con la bacteria mencionada se observaron síntomas a los 3 días, los cuales

comenzaron con una lesión blanda en el cuello, marchitez general de la planta a los 8 días y muerte a los 20 días. Se realizó el reaislamiento y se obtuvo una colonia bacteriana con características similares a la usada para inocular.

Esta bacteria color crema presentó una colonia fluida con borde entero y superficie lisa en agar nutritivo, crema a marrón claro en el medio YDC. Las pruebas de bactotiglicolato, bactofenol rojo dextrosa agar, oxidasa y catalasa resultaron positivas mientras que la de Hugh y Leifson resultó negativa. No creció en D2 ni en D3, pero si se observó crecimiento y formación de colonias blancas con el centro púrpura en el medio TTC y

no hubo presencia de fluorescencia en medio B de King. De acuerdo con Schaad (1994), todas las características mencionadas coinciden con las descritas para *Ralstonia solanacearum* Smith (1896) (Cuadro 3).

Los síntomas obtenidos en las plantas inoculadas con *R. solanacearum* fueron similares a los obtenidos por Contreras et al. (1999). Esta enfermedad se encontró afectando el cultivo sólo en la localidad de El Pozón. Esta bacteria puede sobrevivir en el suelo por mucho tiempo, para su manejo se deben integrar medidas de tipo cultural para evitar la diseminación.

La bacteria de color blanco cremoso presentó forma de bastón en AN y YDC, mucosidad, bordes enteros y superficie lisa. Las pruebas del KOH al 3%, bacto-glicolato, Hugh y Leifson, bacto-fenol rojo dextrosa agar, oxidasa, catalasa y pudrición de la papa resultaron positivas. La bacteria creció en el medio D3 cambiando la coloración del medio de azul a rojiza. Todas estas características coinciden con las descritas para el género *Erwinia* grupo *caratovora* (Schaad, 1994) (Cuadro 3).

Los síntomas observados en las plantas inoculadas con esta bacteria fueron similares a los obtenidos por Fiori y Shaffino (2004) al inocular plantas susceptibles de pimentón con esta bacteria. La misma se encontró afectando el cultivo en las localidades de La Costa y El Pozón. De la muestra procedente de La Costa también se aisló a *F. proliferatum*, el cual al ser inoculado no produjo los síntomas observados lo que induce a pensar que el causante de la marchitez en esa localidad fue causada por *Erwinia* sp. y que el hongo se encontraba en forma saprofítica.

### **Extracción e identificación de nemátodos asociados con el cultivo de pimentón**

Un total de cinco especies de nemátodos fitoparasitarios fueron identificados (Cuadro 2). Se observaron hembras de *Helicotylenchus dihystra* Cobb (1893); Sher (1961), con cuerpo en forma de espiral y longitud (L) de 595 µm, región labial hemisférica con 4-5 anillos poco diferenciados. Estilete de 23 µm con protuberancias basales ligeramente proyectadas anteriormente. Poro excretor ubicado a 94-106 µm del extremo anterior del cuerpo; hemizonidio anterior al poro excretor. La posición de la vulva (V) con relación a la longitud del cuerpo del nematodo, en estos

especímenes la vulva ubicada post-ecuatorial (V=62-64%), espermateca diferenciada y sin esperma. Fasmidios ubicados 10-12 anillos anteriores a la abertura anal. Cola curvada dorsalmente con una ligera proyección ventral.

También se encontraron ejemplares juveniles de segundo estadio de *Meloidogyne incognita* Kofoid y White (1919) Chitw (1949), los cuales presentaron cuerpo un poco curvado ventralmente (L=342-420 µm). Región cefálica no contrastada formada por 2-4 anillos y disco labial pequeño y redondeado. Estilete de 10-12 µm de largo, protuberancias basales redondeadas y prominentes. Recto inflado. Terminación de la cola subaguda. Patrón perineal. Arco dorsal alto formado por estrías lisas o ligeramente onduladas. Algunas estrías bifurcadas cerca de las líneas laterales y no estuvieron claramente visibles.

Se observaron hembras jóvenes de *Rotylenchulus reniformis* Linford y Oliveira (1940), las cuales presentaron cuerpo delgado en forma de "C" o espiral (L = 378-415 µm). Región cefálica elevada, cónica, no contrastada, ligeramente esclerotizada y formada por 5-6 anillos. Estilete entre 16 y 18 µm de largo; protuberancias basales redondeadas y proyectadas posteriormente. Glándulas esofágicas solapando ventral o latero-ventralmente al intestino. Poro excretor ubicado a 78-84 µm del extremo anterior del cuerpo. Vulva post-ecuatorial (V = 66-73 %). Terminación de la cola redondeada y ahusada; porción hialina de 4-8 µm de longitud.

Así mismo, se observaron hembras de *Tylenchorhynchus annulatus* Cassidy (1930) Golden (1971). Éstas presentaron cuerpo curvado ventralmente en forma de "C" (L = 683 -717 µm). Cabeza redondeada, ligeramente contrastada, conformada por 2-3 anillos diferenciados. Estilete entre 17-19 µm de largo. Poro excretor ubicado a 110-118 µm del extremo anterior del cuerpo. Presencia de cuatro líneas longitudinales (tres campos laterales). Vulva ligeramente post-ecuatorial (V = 54-56 %); espermateca poco diferenciada, Cola subcilíndrica. Fasmidio en la parte anterior de la cola.

Finalmente, se observaron hembras de *Aphelenchoides* sp. Fischer (1894), con cuerpo ligeramente curvado (L=524-550 µm), estomatoestilete pequeño (5-5,5 µm) con

protuberancias basales visibles, bulbo medio del esófago muy desarrollado, esófago aphelenchoideo, vulva en el tercio posterior (V=68-70%). Cutícula marcada con estrías transversales. Ovario monodelfico con saco postuterino, cola cónica y mucronada.

La mayor población de nematodos juveniles de *Meloidogyne incognita* por gramo de raíces fue de 33 (Cuadro 4), encontrada en las raíces de plantas de pimentón cultivadas en la localidad de Las Nigüitas, aunque estuvo presente en otras localidades (Cuadro 2). Las plantas que presentaron este nivel de infección no mostraron agallas, pero si mostraban síntomas caracterizados por poco desarrollo vegetativo y deficiencias nutricionales. A nivel mundial *Meloidogyne* sp. ha sido señalado como un nematodo asociado capaz de originar grandes daños al cultivo de pimentón (Resende, 1997; Oka et al., 2004). La frecuencia de aparición de este nematodo en las parroquias muestreadas fue de 17,5 %.

*H. dihystra* se encontró en diferentes localidades (Cuadro 2) pero la mayor población fue de 110 individuos·cm<sup>-3</sup> de suelo (Cuadro 4) en la localidad de El Tanquecito. Las plantas con este

nivel de infección presentaban amarillamiento y poco desarrollo vegetativo. Este género también fue encontrado asociado con este cultivo por Khan et al. (2004) en Pakistán mientras que *T. annulatus* fue encontrado con una población de 55 ejemplares·cm<sup>-3</sup> de suelo (Cuadro 4) en la localidad de Las Raíces. Igualmente, Khan et al. (2004) encontraron al género *Tylenchorhynchus* asociado con el pimentón.

Por otra parte, *R. reniformis* se presentó con una población máxima de 35 ejemplares·cm<sup>-3</sup> de suelo (Cuadro 4) en la localidad de Maguace en plantas que mostraban poco desarrollo vegetativo, sistema radical reducido y clorosis en las hojas; estos síntomas son similares a los señalados por Vicente y Acosta (1992) en el mismo cultivo. Este nematodo ha sido reportado en varias especies de *Capsicum* en diversas latitudes (Siviero, 2003).

El género *Aphelenchoides* a pesar de ser considerado nematodo fitoparasítico no ha sido señalado como patógeno de importancia en el cultivo, lo que se pudo evidenciar en este trabajo, puesto que las plantas donde éstos se encontraron no se observaban muy afectadas.

**Cuadro 4.** Máximas poblaciones de nematodos encontradas en plantaciones de pimentón en las parroquias Tintorero, Cuara, Cabo José Dorante, Coronel Mariano Peraza y Juan Bautista Rodríguez del municipio Jiménez, estado Lara, durante el período octubre 2003-junio 2004

Nematodos	Nº de ejemplares·cm <sup>-3</sup>	Localidad
<i>Tylenchorhynchus annulatus</i>	55	Las Raíces
<i>Rotylenchulus reniformis</i>	35	Maguace
<i>Aphelenchoides</i> sp.	35	Las Raíces
<i>Helycotilenchus dihystra</i>	110	El Tanquecito
<i>Meloidogyne incognita</i>	33 ejemplares·g <sup>-1</sup> de raíz	Las Nigüitas

#### Frecuencia de aparición de hongos, bacterias y nemátodos fitopatogenos

Se obtuvo un total de 54 aislamientos de hongos y bacterias, de los cuales sólo 33 resultaron ser patógenos. El género *Fusarium* presentó la mayor frecuencia, del cual *F. solani* se aisló del 42,4 % de las muestras seguido por *F. moniliforme*, *F. oxysporum* y *F. proliferatum* con la menor frecuencia (3 %), luego *Rhizoctonia solani* con un 15,2 % seguido por *Phytophthora* sp. y *Erwinia* sp. y por último *Ralstonia solanacearum* con 3 % (Cuadro 2).

El porcentaje de frecuencia de aparición de patógenos representa el número de fincas que para la época del muestreo presentaban síntomas de

marchitez, el cual era superior a 70 %. Aunque este porcentaje es relativamente alto, el porcentaje de incidencia de la marchitez por fincas fue muy bajo (Cuadro 1). Esto puede atribuirse a la utilización de materiales híbridos resistentes a enfermedades, o a la implementación de riego por goteo en algunas fincas con lo cual se reduciría la diseminación de las enfermedades, o bien a la práctica de rotación de cultivos. Smits (1981) evaluó la marchitez causada por *F. oxysporum* en tomate, en fincas ubicadas en la población de Quíbor del municipio Jiménez y señaló que el mayor porcentaje de infección estaba relacionado principalmente con la población de patógenos en el suelo, la presencia de un hospedante susceptible

y las condiciones nutricionales y ambientales que favorecían la infección.

Sanogo (2003) sugiere algunas prácticas que ayudan a reducir esta enfermedad, causada por *R. solani*, *Fusarium* sp. y *Phytophthora capsici*, entre las que destacan la utilización de materiales resistentes, disminución de condiciones de suelos saturados de agua, utilización de semillas de buena calidad y buen control fitosanitario. Estas prácticas también pueden ser usadas para disminuir la enfermedad causada por *Erwinia* sp. Además, Fiori y Shaffino (2004) señalan que deben evitarse las heridas en las plantas.

De las 40 muestras analizadas, *Tylenchorhynchus annulatus*, *Rotylenchulus reniformis*, *Helicotylenchus dihystra*, *Meloidogyne incognita* y *Aphelenchoides* sp. se encontraron entre 17,5 y 30% (Cuadro 2) lo que demuestra la amplia distribución de estos patógenos en la zona estudiada.

### CONCLUSIONES

En la parte baja del Municipio Jiménez se encontraron problemas de marchitez y pudrición del cuello y la raíz en los cultivos de pimentón, los cuales se hallaron asociados a los hongos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora* sp. y las bacterias *Ralstonia solanacearum* y *Erwinia* sp. Se detectaron, además, problemas de amarillamiento y poco desarrollo vegetativo de donde se identificaron los nematodos *Aphelenchoides* sp., *Helicotylenchus dihystra*, *Rotylenchulus reniformis*, *Tylenchorhynchus annulatus* y *Meloidogyne incognita* asociados a este problema.

La incidencia de la marchitez, amarillamiento y/o poco desarrollo vegetativo del cultivo en la parte baja del municipio Jiménez fue mayor del 70% mientras que la incidencia por finca fue sólo del 3,3% para el primer síntoma y del 2,7% para los dos últimos. La frecuencia de aparición de estos patógenos fue de baja a moderada, por lo que se deben tomar medidas de control para prevenir mayores daños en el futuro.

### LITERATURA CITADA

1. Agrios, G. 1999. Fitopatología. Editorial Limusa. México.

2. Almeida, O., C. Robbs, F. Ariba y O. Kimura. 1980. A new pepper disease caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn in Brazil. Fitopatología Brasileira 5: 7-10.
3. Contreras, N., N. Gómez, A. Carrasco y J. Camino. 1999. Biovar de *Ralstonia solanacearum* afectando ají dulce. Fitopatología Venezolana 12: 35.
4. FAO (Food and Agriculture Organization). 2006. Datos agrícolas de FAOSTAT. Índices de producción. <http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=agricultura&language> (consulta del 14/04/06).
5. Fiori, M. y A. Schaffino. 2004. Bacterial stem rot in greenhouse pepper (*Capsicum annum* L) in Sardinia (Italy): Occurrence of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Journal of Phytopathology 152: 28-33.
6. Johnston, S. 1999. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. Plant Disease 83: 1080-1089.
7. Khan, A., F. Gamar, S. Shaukeit y A. Jafry. 2004. An eco friendly approach for management of nematodes with chile. Pakistan Journal of Cientific and Industrial Research 47: 135-137.
8. Klement, Z., K. Rudolph y D. Sands. 1990. Methods in Phytobacteriology. Akadedémiai Kiado, Budapest. 568 p.
9. Martínez, G., N. de Albarracin, A. Arcia, L. Subero y M. Albarracin. 1996. Pudrición basal del ajo causado por *Fusarium oxysporum*. Agronomía Tropical 46: 265-273
10. Mustaq, M. y M. Hashmi. 1997. Fungi associated with wilt disease of *Capsicum* in Sindh-Pakistan. Pakistan Journal Botany 29: 217-222.
11. Nelson, P., T. Toussoun y W. Marasas. 1983. *Fusarium* species. An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press University Park. London. 193 p.

12. Oka, Y., R. Affenbach y S. Pivonia. 2004. Pepper rootstock graft compatibility and response to *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology 36: 137-141.
13. Pérez, L., L. Durán y J. Sánchez. 2002. Identification of fungi that cause "pepper wilt" in The Bajío Region. Proceeding of the 16<sup>th</sup> International Pepper Conference. Tampico, Tamaulipas-México. P. 1.
14. Pineda, J., D. Rodríguez, N. Contreras, J. Montilla y J. Renaud. 2003. Enfermedades en hortalizas diagnosticadas en la región centro-occidental durante 2000-2001. IX Congreso de Hortalizas San Cristóbal-Venezuela. Resúmenes p. 144.
15. Pomar, F., M. Bernal, J. Collar, J. Díaz, C. Caramelo, M. Novo, C. Galloso, C. Prego, A. Saavedra, C. Silvar y F. Merino. 2001. Capsicum & Eggplant Newsletter 20: 90-93.
16. Resende, J. 1997. Resistencia de lenhagens, híbrido f1 e cultivares de pimentão a *Meloidogyne incognita*. Horticultura Brasileira 15:98
17. Romero, Y., J. Velásquez, B. Doal, L. Palacios y D. Rodríguez. 2003. Pudrición basal del tallo de ají dulce (*Capsicum chinense*) y pimentón (*Capsicum annum*) causado por *Fusarium oxysporum* en el estado Falcón. Recomendaciones para el manejo de la enfermedad. IX Congreso de Hortalizas San Cristóbal, Venezuela. Resúmenes p. 137.
18. Saleen, A., M. Bokhari, K. Hameed y M. Ansar. 1997. Pakistan Journal of Phytopatology 9: 80-84.
19. Sanogo, S. 2003. Chile pepper and wilt diseases. Plant Health Progress April. pp. 1-5.
20. Schaad, N. 1994. Laboratory Guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria. The American Phytopathological Society, APS Press. St. Paul, Minnesota.
21. Siddiqi, M. 2000. Tylenchida parasites of plants and insects. CABI Publishing. New York.
22. Siviero, P. 2003. Sweet pepper depressed by fungal pathologies. Colture Protette 32: 41-44.
23. Smits, G. 1981. Presencia de *Fusarium oxysporum lycopersici* en los suelos de la depresión de Quíbor. Tesis. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto, Venezuela. 66 p.
24. Sneh, B., L. Burpee y A. Ogoschi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. The American Phytopathological Society, APS Press. St. Paul, Minnesota.
25. Velásquez, R., M. Medina y J. Ruiz. 2001. Symptomatology and genera of pathogens associated with pepper (*Capsicum annum* L.) root rots in Nort-Central Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 175-181.
26. Vicente, N. y N. Acosta. 1992. Biological and chemical control of nematodes in *Capsicum annum* L. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 79: 172-176.