

Estudio sobre la fisiología de la *Phytophthora capsici* Leonian productora del «Mildiu o Tizón» del pimiento en la Argentina

POR EL JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS ING. AGR. CESAR J. M. CARRERA

Al optar por este tema sobre fisiología de la *Phytophthora capsici* Leonian, lo he hecho precisamente, teniendo en cuenta la importancia económica que tiene este parásito del pimiento, productor de la enfermedad denominada vulgarmente «mildiu o tizón», muy grave por los severos perjuicios que ocasiona, como también por su amplia difusión en el país, especialmente en la región hortícola del norte (Salta y Jujuy), y otras donde se cultiva la mencionada hortaliza.

Este estudio fisiológico que realizo, debe ser considerado como prueba de orientación, con el fin de establecer cuales actividades fisiológicas del microorganismo citado, pueden tener interés científico, sirviendo de base para el encarado de algún tratamiento de lucha posterior.

ANTECEDENTES

En el extranjero la primera señalación de la *Phytophthora capsici* se debe a Leonian H.L. (13), quien la determina como nueva especie en el año 1922 y comprueba su poder patógeno, reproduciendo la enfermedad en Chile pepper, mediante inoculaciones artificiales.

Vogliano en Italia, durante el año 1913, describe una enfermedad de los pimientos causante de un marchitamiento y muerte, atribuyéndolo como agente causal de la *Phytophthora cactorum* (?), clasificación que según Tucker (38) sería errónea.

En 1927 Trotter determina una *Phytophthora* sp. que ataca las pe-

* Primer trabajo de adscripción a la cátedra de Fitopatología.

queñas plantitas de pimiento, produciendo un estrangulamiento en la región basal; muy probablemente se haya querido referir a la *P. capsici*, pero no la clasificó.

También en 1927, Curzi (Italia), al ocuparse de la «Eziología della cancrena pedale» del *Capsicum annum*, la atribuye a una nueva especie que él describe con el nombre de *Phytophthora hydrophila* n. sp., que hoy día según Tucker (38) la considera sinonimia de *Phytophthora capsici*.

El citado autor manifiesta que produce lesiones en tallos y frutos próximos al suelo.

Tucker (38), pone en evidencia en su trabajo, haber observado en 1928, cierto obscurecimiento y colapso de tallos tiernós, manchas castaño-verdoso en las hojas de jóvenes plantas de pimiento en Puerto Rico. Comparando los aislamientos con los obtenidos por Weber en Florida, le permitió constatar que se trataba de la *Phytophthora capsici*.

Durante el año 1932, Weber (41) al describir por segunda vez para Estados Unidos la *Phytophthora capsici*, constatada en Homestead (Florida), durante el año agrícola 1930-1931, sobre las variedades de pimiento Ruby King y California Wonder, da a conocer los síntomas y realiza pruebas de inoculación, empleando cultivos puros de *Phytophthora capsici*, aislada por él en Florida, cultivos puros de *Phytophthora capsici* aislada por Leonian en New México y *Phytophthora terrestris*. Los resultados fueron idénticos en cuanto a poder patógeno para las dos primeras especies, mientras que *Phytophthora terrestris* no produjo ataque alguno, ya sea en plantas como en frutos.

Los síntomas comprobados a campo con ambas *Phytophthoras capsici*, difieren en algo y eso lo atribuye Weber (41) a la influencia de las variedades, como así también a la diferencia de las condiciones climáticas que se registran en ambas localidades, sobre todo de humedad.

Referente a Grecia, Sarejanni (30) en 1936, al referirse a *Phytophthoras* spp. que atacan la papa, tabaco, tomate y pimiento, luego de establecer que la infección es favorecida por humedad y temperatura superior a 28°C., como también dadas las características y medidas de los esporangios (papilado) de las *Phytophthoras* que atacan los huéspedes citados, manifiesta que todas las *Phytophthoras* presentan clamidosporos, menos la que ataca al pimiento. Clasifica como *P. parásitica* a las que determinó sobre papa, tabaco y tomate, y *P. capsici* la que determinó sobre pimiento. Con referencia a esta última dice el autor que produce el 70 % de pérdidas en Macedonia, donde fué observada por primera vez en el año 1933.

En el país, la *Phytophthora capsici* fué señalada por primera vez por

el Ing. Agr. Juan B. Lindquist (19), en el año 1931-1932, sobre pimientos procedentes de cultivos ubicados en los alrededores de La Plata (Buenos Aires).

Posteriormente la División de Fitopatología (21), durante el transcurso del año 1936, la señala para cultivos de Colonia Alvear y San Rafael (provincia de Mendoza), ya sea en almácigo, como en plantas bien desarrolladas. Esta misma repartición (22), la vuelve a señalar para el Dpto. de Chicoana (provincia de Salta) en el año 1937.

Godoy (6) en su publicación del año 1940, señala la *Phytophthora capsici* en Ledesma (provincia de Jujuy), para fines del año 1937 y principios del año 1938, en pimientos dulces y pimientos picantes para el pimentón. En almácigos la nota el citado autor también a principios del año 1938 en Betaña (Salta) y en la zona hortícola de Güemes (Dpto. El Carmen) y en la localidad de Fraile Pintado (Jujuy).

Durante el año 1940, la División de Fitopatología, señala la presencia de la *Phytophyhora capsici* en los cultivos de pimiento de Villa María (provincia de Córdoba) y sobre éstos aislamientos que se han efectuado se realiza el presente estudio fisiológico.

Brevemente expuestos los conocimientos que hasta la fecha se tienen sobre la enfermedad del pimiento, daré una nómina de las experiencias que he realizado, cuya finalidad fué determinar:

- 1) Existencia de toxinas en cultivos y relación con el marchitamiento.
- 2) Poder patógeno de la *Phytophthora capsici*.
- 3) Influencia de diversos medios de cultivo sobre su crecimiento. Del medio sintético que se haya comportado mejor, determinar la influencia de cada componente de fórmula.
- 4) Influencia del Ph. o potencial hidrógeno, sobre el crecimiento en medios de cultivo.
- 5) Acción de diversos ácidos orgánicos sobre el crecimiento en medios de cultivo.
- 6) Acción de diversas concentraciones de ácido tartárico-tánico y cítrico, en el desarrollo micelial en medio de cultivo.
- 7) Acción de la temperatura sobre el crecimiento de la *Phytophthora capsici* en medios de cultivo.
- 8) Influencia de ciertas sustancias químicas, agregadas al medio de cultivo sobre el crecimiento de la *Phytophthora capsici*.
- 9) Influencia de ciertas sustancias colorantes tóxicas, agregadas al medio del cultivo sobre el crecimiento de la *Phytophthora capsici*.

DETERMINACIÓN DE LA EXISTENCIA DE TOXINAS EN CULTIVOS
PRODUCCIDA POR LA PHYTOPHTHORA CAPSICI Y SU RELACIÓN
CON EL MARCHITAMIENTO

Teniendo en cuenta la forma en que se produce la muerte de las plantas y plantitas atacadas por la *Phytophthora capsici*, indujo al subscripto a realizar una investigación a fin de dilucidar la causa que actúa en forma tan rápida, puesto que si bien por la anatomía patológica se ha constatado la invasión del micelio en el parenquima cortical y prolongación de los rayos medulares e introducción dentro de las células, causando cierta desintegración de los tejidos, esto no justifica un marchitamiento en tan poco tiempo (de 24 a 26 horas en pequeñas plantitas de almá-cigos y de 48 a 60 horas en plantas adultas, según Godoy (6).

El fenómeno podría explicarse por la posibilidad de secreciones por parte del hongo en cuestión y es sobre este motivo que al igual de otras investigaciones realizadas en el extranjero, (Wolf 44), siguiendo los mismos métodos, he tratado de determinar las posibles toxinas que producirían la *Phytophthora capsici* y su acción sobre huéspedes sanos.

Para tal efecto se procedió a desarrollar la *Phytophthora capsici* en un medio nutritivo líquido, en este caso, caldo papa glucosado 2% dentro de frascos Erlenmeyer de 250 cc. de capacidad.

La presencia de toxinas fué probada luego de haber hecho desarrollar el hongo durante 10 días a 24°C. en el medio nutritivo; el caldo fué filtrado a través de filtro Büchner y observado microscópicamente para estar seguro de que no existiera ningún resto de micelio o fructificación. Posteriormente se sumergieron en él, las raíces de pequeñas plantas de pimientos sanos, previamente lavadas y libres de tierra; lo mismo se hizo empleando plantas de tomate, los resultados después de 60 minutos fueron negativos, comportándose las plantas colocadas en el caldo, con probable contenido de toxinas, como en los testigos.

Utilizando caldos en los que se había desarrollado la *Phytophthora capsici* durante 20 y 44 días, lo mismo que en la prueba anterior los resultados fueron negativos.

Dado que las mencionadas pruebas no satisficieron al subscripto, será necesario realizarlas nuevamente, a fin de poder llegar a conclusiones más concretas.

DETERMINACIÓN DEL PODER PATÓGENO DE LA P. CAPSICI

Luego de haber sido descripta la *Phytophthora capsici* como especie nueva por León H. Leonian (13), para el *Capsicum annum* en el año

1922, la bibliografía posterior al respecto la hace específica al huésped citado. Es así que en el año 1931, Tucker C.M. (38), en su trabajo sobre Taxonomía del género *Phytophthora* de Bary, manifiesta que las especies *Phytophthoras* en algunos casos pueden ser identificadas por su facilidad de atacar ciertos huéspedes, como ser, pimiento y tabaco, únicamente para los casos de *P. capsici* y *P. parasítica* v. *nicotianae* respectivamente.

Durante el año 1931, Bodine, al estudiar un marchitamiento de los pimientos de la región de Colorado EE.UU., aísla la *Phytophthora capsici* y comprueba el poder patógeno sobre el mencionado huésped; paralelamente establece que las infecciones en berenjenas (*Solanum melongena*) son debidas en dicha región a la *Phytophthora capsici*.

En 1937, Kreutzer W.A. (11), al ocuparse de una podredumbre de los frutos de pepino (*Cucumis sativus*) aísla una *Phytophthora* sp., con la cual reproduce artificialmente la enfermedad en su huésped, como así también en el pimiento (*Capsicum annum*).

El hecho de atacar el pimiento y por la similitud en cultivo con la *Phytophthora capsici*, le hacen pensar en una nueva raza de esta especie.

Durante el mismo año Tompkis C.M. y Tucker C.M. (37) aíslan en Honey dews melones (*Cucumis melo* v. *inodorus*) una *Phytophthora* sp. cuya identificación resultó ser *Phytophthora capsici* y manifiestan que puede atacar también a *Persea persea*, frutos de peral, duraznero, manzano y tomates.

Posteriormente y durante el año 1939, Wiant J.S. (42) aísla diversas *Phytophthoras* sp. de melones Honey dews (*Cucumis melo* v. *inodorus*) y melones Cantaloups (*Cucumis melo* L. v. *reticulatus*) que presentaban cierta podredumbre. Las determinaciones realizadas coincidieron con *Phytophthora capsici*.

En 1940, Wiant J. C. y Tucker C.M. (43) en su publicación sobre una podredumbre de Queen water melon, causada por *Phytophthora capsici*, comprueban que el mismo parásito puede atacar los frutos de pimiento, (*Capsicum annum*), tomate (*Lycopersicum esculentum*), manzano, melon cantaloups (*Cucumis melo* v. *reticulatus*), pepino (*Cucumis sativus*) y calabaza (*Cucurbita máxima*).

En el mismo año Kreutzer W.A., Bodine E. W. y Durrell L. W., al describir una enfermedad del zapallo y podredumbre de los frutos de tomate, causada por *Phytophthora capsici*, atribuyen a este parásito como causante de lesiones en *Citrullus vulgaris* Schrad.

Godoy E. F. (6), al ocuparse del «mildiu o tizón del pimiento» en nuestro país, luego de describir la enfermedad, características del parásito, etc.,

etc., manifiesta no haber conseguido infectar tomates, berenjenas, tabaco y papa.

Con el fin de tener una prueba experimental sobre la acción parasitaria de este microorganismo y comprobar su especificidad o polifagia, se realizaron diversos ensayos de infecciones artificiales en el invernáculo existente en la Estación Cuarentena de Plantas del M. de A. de la Nación, que posee en José C. Paz, sobre diversos huéspedes en distintos estados de desarrollo.

1) Prueba realizada el 14 de marzo de 1941, infección sobre:

- a) Pimiento dulce (plantas pequeñas de 10 a 12 cms. de alto).
- b) Pimiento dulce (plantas en floración.)
- c) Tomates (plantas pequeñas de 10 a 12 cms. de alto).
- d) Tomates (plantas en floración).
- e) Nicotiana glutinosa.
- f) Tabaco (plantas pequeñas).

Siendo la temperatura ambiente no constante (22°C. de día y 10-12°C. aproximadamente de noche), la infección fué notada recién a los 11-12 días, es decir entre el 25-26 del mismo mes. Las plantas atacadas fueron: pimientos-tomates en ambos estados; nicotiana glutinosa y tabaco dieron resultado negativo, manteniéndose las plantas infectadas en la misma condición que los testigos.

2) Prueba realizada el 1° de abril de 1941, infección sobre:

- a) Plantitas de tomate trasplantadas el 28 de marzo de 1941.
- b) Plantitas de pimiento dulce trasplantadas el 21 de marzo de 1941.
- c) Plantas de tabaco.

Siendo la temperatura ambiente similar a la de la prueba anterior, la infección se notó a las 72 horas solamente en pimiento y tomate; las plantas de tabaco infectadas se mantuvieron en las mismas condiciones que los testigos.

3) Prueba realizada el 22 de julio de 1941, empleando:

- a) *Tomates*, plantas procedentes de siembra efectuada el 4 de junio de 1941 y trasplantadas el 26 de junio de 1941.
- b) *Pimientos*, (picante), plantas procedentes de siembra efectuada el 17 de abril de 1941 y trasplantadas el 2 de julio de 1941.
- c) *Berenjenas*: Plantas de almácigo realizado el 21 de junio de 1941.
- d) *Papa*. Plantas pequeñas.

En esta prueba se dispuso de una cámara expresamente adaptada a fin de mantener la temperatura ambiente constante durante el día y la noche, alrededor de los 28 a 29°C.

Se constató infección en tomate, pimiento y berenjena a los 3 a 4 —

6 y 6 días respectivamente. En papa no se han evidenciado síntomas algunos.

De los resultados obtenidos queda demostrado que la *Phytophthora capsici* puede atacar a los siguientes huéspedes.

Tomate — Pimiento — Berenjena no se ha comprobado ataque en:

Papa — Tabaco — *Nicotiana glutinosa*.

Esto desvirtuaría la creencia de ciertos autores que suponen sea específica del pimiento y concuerda con las opiniones de otros, en el sentido de que puede atacar diversos huéspedes.

INFLUENCIA DE DIVERSOS MEDIOS DE CULTIVO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA *PHYTOPHTHORA CAPSICI* LEONIAN

Con el propósito de constatar el comportamiento de la *Phytophthora capsici*, frente a diversos substratos culturales, es que se realizaron estas experiencias, tendientes a determinar el mejor medio para su crecimiento.

A tal efecto se adoptaron diversas fórmulas, de las cuales una parte se agarizó y otras se mantuvieron líquidas, colocándose 10 cc. de los medios sólidos en cajas Petri de 10 cms. de diámetro y 50 cc. de los líquidos en Erlenmeyers 200-250 cc., esterilizándose el todo, en auto-clave a 110°C. durante 30 minutos. El micelio empleado para la siembra se cuidó fuera igual en todas las frecuencias; la temperatura de desarrollo fué de 24°C., y la observación se realizó después de los 10 días para los sólidos y después de los 15 días para los líquidos.

Los medios nutritivos que se emplearon fueron:

MEDIOS LÍQUIDOS	FÓRMULA
1) Peptonas Duncan Ph. 5,8	{ Peptonas 10 grs. Cloruro sodio 5 grs. Agua destilada 1 litr.
2) Fermi Ph. 5,4	{ Ver: Max Levine, fórm. 49, página 18.
3) Richard Ph. 4,3	{ Ver: Rawlins T.E. pág. 85.
4) Petri Ph. 5,3	{
5) Cohn Ph. 5,8	{ Fosf. monopotásico 5 grs. Fosf. de calcio 0,5 grs. Sulfato magnesio 5 grs. Tartrato sodio 10 grs. Cloruro potasio 0,5 grs. Agua destilada 1000 cc.
6) Uschinsky Ph. 4,6	{ Ver: Max Levine, form. 418 página 119.

- | | |
|---|--|
| 7) Mayer's synthetic solut. Ph. 5,2 | { Ver: H.C. Young y C.W. Bennet-
«Growth of some parasitic»
form. 3 pág. 460. |
| 8) Caldo zanahoria Ph. 6,8 | { Zanahoria 300 grs.
Agua dest. 1000 cc. |
| 9) Pfeffer's solution Ph. 4,3 | { Idem n° 7 form. 4 pág. 460. |
| 10) Currie's solution Ph. 5 | { Idem anterior f. 6 pág. 460. |
| 11) Coon's Ph. 4,7 | { Ver: Coons J. H y M.C. Strong:
The diagnosis of species of
Fusarium pág. 4 Tech Bull
115 1931. |
| 12) Solución Asparagina 1 % Ph. 4,1 | { Asparagina 10 grs.
Agua dest. 1000 cc. |
| 13) Solución glucosa 1 % Ph. 6,1 | { Glucosa 10 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 14) Solución sacarosa 1 % Ph. 6,1 | { Sacarosa 10 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 15) Solución maltosa 1 % Ph. 5,9 | { Maltosa 10 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 16) Czapeck Ph. 7,3 | { Ver: M. Levine f. 344 pág. |
| 17) Caldo peptonado 2 % Ph. 6 | { Peptona 20 grs.
Caldo de carne 1000 cc. |
| 18) Caldo harina avena Ph. 6,2 | { Harina avena 50 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 19) Caldo harina maíz Ph. 6,2 | { Harina maíz 30 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 20) Caldo papa glucosado 2 % Ph. 6,9 | { Glucosa 20 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 21) Nutrient solution (Leonian) Ph. 4,2 | { Ver: H. I. Leonian en Growth
differential of Phytophthora.
American Journal of Bot
15:671 677 año 1930. |

MEDIOS SOLIDOS

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1) Agar papa glucosado 1 % Ph. 6,9 | { Papa 300 grs.
Glucosa 10 grs.
Agar 20 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 2) Agar papa glucosado 2 % Ph. 6,9 | { Papa 300 grs.
Glucosa 20 grs.
Agar 20 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 3) Agar zanahoria Ph. 6,8 | { Zanahoria 300 grs.
Agar 20 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 4) Agar asparagina 1 % Ph. 4 | { Sol. asparagina 1 %.
Agar Difco. 20 grs. |

- | | | |
|--|---|---|
| 5) Agar Extracto de Malta Ph. 4,7 | } | Bacto Malt. Extracto Agar (synthetic) Difco dehydrated 33,6 gramos para cada 1000 cc. agua destilada. |
| 6) Agar harina maíz Ph. 6,8 | | Harina maíz 30 grs.
Agar 20 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 7) Agar harina avena Ph. 6,8 | } | Harina avena 50 grs.
Agar 20 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 8) Agar arroz Ph. | | } |
| 9) Agar asparagina 0,5 % más glucosa 1 % | } | Asparagina 5 grs.
Glucosa 10 grs.
Agar 20 grs.
Agua destilada 1000 cc. |
| 10) Cilindros de papa | | } Cilindros de papa en tubos Roux. |
| 11) Cilindros de zanahoria | } | Cilindros de zanahoria t. Roux. |

Los resultados obtenidos después del tiempo indicado fueron los siguientes:

Fórmula	Término ½ peso micelio en gramos	Observaciones
1) Peptona Duncan	0,083	Reg. a bastante desarrollo.
2) Medio Fermi	0,0385	Poco desarrollo
3) Medio Richard	0,027	Muy poco desarrollo
4) Medio Petri	0,037	Poco desarrollo
5) Medio Cohn	0,016	Escaso desarrollo
6) Medio Uschinsky	0,026	Muy poco desarrollo
7) Mayer's (Syntetic solución)	0,053	Poco desarrollo
8) Caldo zanahoria	0,0666	Regular desarrollo
9) Pfeffer's solution	0	Ningún desarrollo
10) Currie's solution	0,005	Poquísimos desarrollo
11) Coon's	0,0355	Poco desarrollo
12) Solución asparagina 1 %	0,010	Escaso desarrollo
13) Solución glucosa 1 %	0,0655	Regular desarrollo
14) Solución sacarosa 1 %	0,0395	Poco desarrollo
15) Solución maltosa 1 %	0,0235	Muy poco desarrollo
16) Medio Czapeck	0,029	Muy poco desarrollo
17) Caldo peptonado 2 %	0,059	Poco a regular desarrollo
18) Caldo harina avena	0,155	Bastante desarrollo
19) Caldo harina maíz	0,045	Poco desarrollo
20) Caldo papa glucosado 2 %	0,203	Bastante desarrollo
21) Nutrient solution	0,0735	Regular a bastante desarrollo.

MEDIOS SÓLIDOS

- 1) *Agar papa glucosado 1 %.*

A las 48 horas el diámetro de la colonia fué de 20 a 22 mm., de aspecto compacto, caracterizándose a los 10 días por tener 73 a 75 mm. de diá-

metro con el mismo aspecto compacto, regular cantidad de micelio aéreo blanco. No se han observado fructificaciones ni clamidosporos.

2) *Agar papa glucosado 2 %*.

A las 48 horas el diámetro de la colonia fué de 24 $\frac{1}{2}$ a 25 mm., de aspecto compacto, caracterizándose a los 10 días por tener 67 a 75 mm. de diámetro, con el mismo aspecto compacto, regular cantidad de micelio aéreo blanco. No se han observado fructificaciones ni clamidosporos.

3) *Agar zanahoria*.

A las 48 horas el diámetro de la colonia fué de 21 a 22 mm., regularmente compacto, caracterizándose a los 10 días por tener aproximadamente 78 mm. de diámetro, de aspecto más laxo que las anteriores, con menos micelios aéreos. No se observaron fructificaciones ni clamidosporos.

4) *Solución de asparagina 1 %*.

A las 48 horas el diámetro de la colonia fué de 15 mm. con micelio aéreo laxo, bastante fino, dando el aspecto de un tejido, caracterizándose a los 10 días la colonia por tener de 53 a 55 mm. de diámetro, con micelio sumergido, sin aéreo, colonia de aspecto aracnoideo, fino, apenas visible. No se observaron fructificaciones ni clamidosporos.

5) *Agar extracto de malta*.

A las 48 horas el desarrollo es pobre, midiendo las colonias unos 15 mm. de diámetro, caracterizándose a los 10 días por tener 71 a 78 mm., sin micelio aéreo, más bien sumergido, con características similares a la anterior. No se observaron fructificaciones ni clamidosporos.

6) *Agar harina maíz*.

A las 48 horas la colonia demostró muy poco desarrollo, midiendo de 13 a 13 $\frac{1}{2}$ mm. de diámetro, muy poco compacta, laxa, a los 10 días el diámetro fué de 45 a 55 mm. sin micelio aéreo, y en el caso de haberlo fué muy escaso. No se observaron fructificaciones ni clamidosporos.

7) *Agar harina de avena*.

A las 48 horas el diámetro de la colonia fué alrededor de 20 mm., demostrando un buen desarrollo, siendo compacta y bien visible, a los 10 días el diámetro osciló entre los 80 mm. y más, apareciendo la colonia sumergida, sin micelio aéreo, regularmente compacta. No se observaron fructificaciones ni clamidosporos.

8) *Agar arroz.*

A las 48 horas el diámetro de la colonia fué de 31 a 31,5 mm., bien desarrollada, compacta y bien visible, a los 10 días las medidas fueron de 81 a 90 mm., con micelio aéreo más abundante que en agar papa glucosado al 1 y 2 % blanco y compacto. No se observaron fructificaciones ni clamidosporos.

9) *Agar asparagina 0,5 % y glucosa 1 %.*

A las 48 horas el diámetro de la colonia fué de 17 a 20 mm., con micelio fino, laxo, algo más compacto que en agar asparagina, después de 10 días la colonia midió 77 a 81 mm., con textura más compacta que en agar asparagina y extracto de malta, sin micelio aéreo. No se observaron fructificaciones ni clamidosporos.

10 y 11) *Cilindros de papa y zanahoria.*

En estos medios de cultivo, después del décimo día, la producción del micelio aéreo fué abundante, de aspecto algodonoso, bien blanco.

Estas experiencias nos sugieren lo siguiente:

- 1) La *Phytophthora capsici* se desarrolla mejor en los medios nutritivos de origen natural, (papa glucosado, avena, zanahoria, arroz, etc., etc.) que en los medios sintéticos.
- 2) El único medio sintético en el cual se desarrolló mejor y el crecimiento fué regular, ha sido en el Nutrient solution, adoptado por Leonian. Esto se debe a la presencia de peptona en los componentes de la fórmula, tal como lo ha comprobado su autor (16); en peptona Duncan también se desarrolló bastante regularmente.
- 3) El potencial hidrógeno o sea el Ph. del medio nutritivo, al parecer nada tiene que ver con el desarrollo del hongo, que muy probablemente esta influenciado por la clase y cantidad de los componentes de cada fórmula.
- 4) Entre los medios nutritivos líquidos naturales, podemos clasificar los seis primeros por orden, en los cuales se desarrolló mejor el hongo, en la siguiente forma:

1° Caldo papa glucosado 2 %.

2° Caldo harina avena.

3° Peptona.

4° Caldo zanahoria.

5° Glucosa 1 %.

6° Caldo peptonado 2 %.

Entre los medios líquidos sintéticos, los que se destacan son:

- 1° Nutrient solution Leonian.
- 2° Mayer's synthetic solution.
- 3° Fermi.

De los sólidos diré que el mejor ha demostrado ser el agar arroz, siguiéndole en orden el agar harina avena y luego agar glucosado 1 y 2 %.

INFLUENCIA DE CADA COMPONENTE DEL MEDIO NUTRITIVO SINTÉTICO
NUTRIENT SOLUTION SOBRE EL DESARROLLO DE LA
PHYTOPHTHORA CAPSICI

Este ensayo tiene por finalidad determinar la importancia que tiene tal o cual componente de la fórmula nutrient solution, sobre el desarrollo vegetativo del citado microorganismo.

El mencionado medio se adoptó por ser el que mejor favoreció el desarrollo, del hongo, comparado con los demás y para tal efecto se preparó el nutrient solution como lo aconseja el autor, de acuerdo a las prácticas corrientes. La fórmula fué la siguiente

Peptona proteose	2	grs.
Fosfato monopotásico	0.5	»
Sulfato de magnesio	0.5	»
Acido succinico	0.2	»
Dextrosa	5	»
Agua destilada	1000	cc.

Además de esta fórmula que se empleó como testigo, se prepararon otros medios, en los cuales fué eliminándose cada vez, uno de los distintos elementos. Se obtuvo así:

- Medio completo (testigo).
- Medio sin peptona.
- Medio sin fosfato monopotásico
- Medio sin sulfato de magnesio.
- Medio sin ácido succinico.
- Medio sin dextrosa (glucosa).

Como todos los demás medios, estos también fueron líquidos, colocándose en Erlenmeyers capacidad 200-250 cc., realizándose dos frecuencias y cuatro para el testigo; la temperatura de desarrollo fué de 24°C., y la observación y pesada a los 15 días.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

MEDIO DE CULTIVO	PESADA TÉRMINO MEDIO EN GRS. MICELIO
Completo.	0,0445
Sin peptona	0,0185
Sin fosfato monopotásico	0,028
Sin sulfato de magnesio	0,026
Sin ácido succínico	0,027
Sin dextrosa o glucosa	0,0115

Además de estas pruebas se ensayó substituir de la fórmula completa el ácido succínico, por el ácido cítrico, en la misma dosis del primero es decir, al 0,2 por mil, como así también al 0,5 por mil.

Las cifras dadas a conocer en el cuadro que antecede, como también los resultados de la substitución permiten establecer:

- 1) Sin dextrosa, como también sin peptona, el desarrollo micelial es reducido; estos dos productos son pues indispensables para el desarrollo de la *Phytophthora capsici*, puesto que careciendo de ellos, el medio, aún en presencia de los demás, parece no tener estímulo.
- 2) La ausencia de cada uno de los componentes (que se comportan casi del mismo modo), como ser: fosfato monopotásico, sulfato de magnesio, ácido succínico, que si bien producen cierta inhibición en el desarrollo, éste ha demostrado ser superior al que ha producido la peptona y la glucosa.
- 3) La substitución del ácido succínico por el ácido cítrico dió resultados satisfactorios, empleando este último a dosis de 0,5 por mil, se obtuvo un crecimiento micelial de 0,0385 gramos, próximo al que se registró con el ácido succínico a la dosis de 0,2 por mil.
Podría emplearse en la fórmula el ácido cítrico a dosis de 0,5 por mil (probablemente 0,6 o 0,7 por mil).

INFLUENCIA DEL PH. O POTENCIAL HIDRÓGENO DEL MEDIO NUTRITIVO SOBRE EL DESARROLLO DE LA PHYTOPHTHORA CAPSICI

La importancia dada al estudio del comportamiento de los hongos diversos, a la concentración de iones hidrógeno, me indujo a realizar las indagaciones correspondientes, a fin de establecer las concentraciones de hidrógeno, en la cuales la *Phytophthora capsici*, se halla en las mejores

Ph. 5	35	gotas de ácido clorhídrico apróx. N/10 en 50 cc.				
Ph. 5,4	25	>	>	>	>	>
Ph. 5,8	15	>	>	>	>	>
Ph. 6,8	10	>	>	>	>	>
Ph. 7	(sin agregado).					
Ph. 7,2	10	gotas de hidrato de sodio apróx. N/10 en 50 cc.				
Ph. 7,4	25	>	>	>	>	>
Ph. 7,8	50	>	>	>	>	>
Ph. 8	60	>	>	>	>	>
Ph. 8,2	70	>	>	>	>	>
Ph. 8,4	75	>	>	>	>	>

La esterilización del medio nutritivo y del ácido o alcali, se realizó por separado, agregándose luego en forma aséptica. La temperatura de estufa que se mantuvo durante la experiencia fué de 24°C., procediéndose a la observación a los 17 días.

El crecimiento micelial fué obtenido por el término medio de tres pesadas, correspondientes a tres repeticiones, como así también se volvió a determinar el Ph. del medio nutritivo al final de la experiencia.

Los resultados son dados a conocer en la planilla respectiva

PH. DEL MEDIO DE CULTIVO		TÉRMINO MEDIO DE LAS PESADAS PESO EN GRAMOS DE MICELIO
Inicial	Final	
2,8	—	No hubo desarrollo
3,1	—	> > >
3,4	—	> > >
3,8	4,2	0,241
4,2	4,8	0,248
4,6	4,9	0,247
5	4,9	0,249
5,4	5	0,300
5,8	4,8 a 4,9	0,280
6,8	5,1	0,352
7	5,1	0,312
7,2	4,9	0,105
7,4	4,1	0,090
7,8	3,5	0,135
8	—	Crecimiento nulo
8,2	—	> > >
8,4	—	> > >

De los resultados obtenidos, arriba consignados, se deduce que la *Phytophthora capsici*, puede desarrollarse en una escala bastante amplia de Ph., siendo sensible tanto a las elevadas acideces, como también a las elevadas alcalinidades. El Ph. óptimo para el desarrollo parece ser de Ph. 6,8, mientras que Ph. 2, 3-3, 1 y 3,4 han inhibido todo crecimiento; el Ph. 8,2 y 8,4 también inhibieron todo crecimiento o bien éste fué su-

mamente escaso casi imperceptible. A comenzar de Ph. 7,2 y siguiendo por 7,4 y 7,8 se observa un descenso apreciable. El punto isometabólico se encuentra alrededor del Ph. 5.

En línea general hay una tendencia a modificar el Ph. inicial del medio, acidificándolo.

ACCION DE DIVERSAS CONCENTRACIONES DE ACIDOS TARTÁRICO-TÁNICO
Y CÍTRICO SOBRE EL DESARROLLO MICELIAL DE LA
PHYTOPHTHORA CAPSICI

La interesante bibliografía que existe al respecto y teniendo en cuenta la acción inhibitoria o estimulante de algunos de estos ácidos, sobre otros microorganismos, dió lugar a la determinación de cual sería el comportamiento de la *Phytophthora capsici* frente a diferentes concentraciones de los ácidos mencionados. A tal efecto se prepararon 4 concentraciones, desde el $\frac{1}{2}$ al 3% ($\frac{1}{2}$ al 3 por mil), empleándose como medio nutritivo el caldo papa glucosado 1%, 50 cc. para cada Erlenmeyer de 200-250 cc. de capacidad, por triplicado. La temperatura de desarrollo fué de 24°C. y la observación se efectuó a los 15 días.

Los resultados obtenidos fueron:

Acido empl.	Concentr. 0/100	Ph. inicial	Ph. final	Término medio pesadas de micelio en gramos
Acido tánico	0,5	6,6	4,6	0,110
» »	1	6,2	4,3	0,096
» »	2	5,7	4	0,094
» »	3	5,3	3,8	0,112
» tartár.	0,5	4,1	3,4	0,110
» »	1	4	—	Desarrollo prác. nulo.
» »	2	3	—	No hay desarrollo.
» »	3	2,9	—	No hay desarrollo.
» cítrico	0,5	4,6	3,9	0,120
» »	1	4,2	3,5	0,100
» »	2	3,2	—	No hay desarrollo.
» »	3	3	—	No hay desarrollo.
Testigo	—	7,1	6,3	0,112

Del cuadro que antecede, se pone en evidencia lo que a continuación se expone:

- 1) La *Phytophthora capsici*, se desarrolla prácticamente como en los testigos, cuando al medio nutritivo se le agrega ácido tánico en dosis hasta el 3 por mil. Puede afirmarse que dicho ácido no inhibe mayormente su desarrollo; habría que probarlo a mayores concentraciones.
- 2) El ácido cítrico inhibe solo a concentraciones superiores al 2 por mil. Para dosis menores, es decir: del 0,5 y 1 por mil, el desarrollo en el primer caso parecería ser ligeramente estimulado, como lo demuestra el aumento de peso micelial; en el segundo hay una ligera inhibición, pero en línea general las cifras son similares al testigo.
- 3) El ácido tartárico demostró poseer un elevado poder inhibente, comprobando con ello que la *Phytophthora capsici*, es más sensible a este ácido que a los demás. En dosis desde el 1 al 3 por mil, no se constató crecimiento alguno; en cambio a dosis de 0,5 por mil fué próximo al observarlo en los testigos.

ACCIÓN DE DIVERSOS ÁCIDOS ORGÁNICOS SOBRE EL DESARROLLO DE LA PHYTOPHTHORA CAPSICI

Con el propósito de determinar la acción de diversos ácidos orgánico ; desde el punto de vista de su constitución molecular, como así también de su disociación, es que se realiza la presente investigación. A tal efecto se adoptó la siguiente fórmula de medio nutritivo:

Peptona	2	grs.
Fosfato monopotásico	0.5	»
Sulfato de magnesio	0.5	»
Glucosa	0.2	»
Agua destilada	1000	cc.

A la cual se le agregó el correspondiente ácido en dosis de 0,5°/°; colocando 50 cc. en Erlenmeyer de 200-250 cc. de capacidad. Luego de la correspondiente esterilización se procedió a la siembra de la *Phytophthora* con aproximadamente igual cantidad de micelio para cada una de las tres repeticiones.

La observación y pesada del micelio se realizó al décimo quinto día, siendo la temperatura de estufa 24°C.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Acido Orgánico	Ph. del medio	Térm. $\frac{1}{2}$ pesadas grs.	Observaciones
Acido acético.....	3,8	0	Sin desarrollo
» butírico.....	3,8	0	» »
» benzoico.....	3,8	0	» »
» salicílico.....	3,3	—	Muy escaso desarrollo.
» gálico.....	4	0,052	Poco desarrollo
» oxálico.....	3	0	Sin desarrollo.
» succínico.....	3,7	0,069	Poco desarrollo.
» láctico.....	3,4	0	Sin desarrollo.
» tartárico.....	3,3	0,0445	Muy poco desarrollo.
» cítrico.....	3,5	0,0825	Regular desarrollo.
Testigo (no acidificado)...	5,5	0,0835	Regular desarrollo.

Los datos dados a conocer en el cuadro que antecede, nos sugieren que el Ph., es decir la disociación de hidrógeno iones no tiene relación con el efecto inhibitor o acción tóxica sobre el desarrollo de la *Phytophthora capsici*. En general los mono-ácidos o ácidos monobásicos (ácido acético, butírico, benzoico y láctico) inhiben completamente todo desarrollo micelial, mientras los di-ácidos (ácido succínico, tartárico, etc., etc.), como así también los poli-ácidos o tribásicos (ácido cítrico) favorecen el desarrollo. En esta regla hay excepciones, como ser en ácidos mono-ácidos (ácidos monobásicos) ácido salicílico y gálico), el desarrollo es muy pobre y esto se debe probablemente a su relación con los taninos, que como se podrá observar en otra tabla, favorece al desarrollo y no lo inhibe, sino a concentraciones elevadas. En cuanto a los di-ácidos, es decir, el ácido oxálico, este es el más sencillo de todos los di-ácidos.

Trabajos de esta índole podemos citar los de Hemmi en 1920, quien realizó experiencias sobre la influencia del ácido cítrico, málico y tartárico, sobre el crecimiento del *Colletotrichum* y *Gloeosporium* sp. y los de Tochinali (33) en 1926 sobre fisiología del *Fusarium lini* y *Colletotrichum lini*, ensayando 16 ácidos orgánicos. Por último sobre *Fusarium* el trabajo de Leonian (14) realizado en 1929, en el que se determina la sensibilidad de diversas especies frente a concentraciones de ácido tartárico y fenilacético.

ACCIÓN DE LAS TEMPERATURAS SOBRE EL DESARROLLO DE LA PHYTOPHTHORA CAPSICI EN MEDIOS DE CULTIVO

Uno de los puntos que generalmente es incluido en los estudios de esta índole es el determinar la influencia de la temperatura sobre el

desarrollo y producción de órganos de reproducción de un organismo dado. Ello tiene sumo valor, ya sea bajo el punto de vista fisiológico, como patológico (fito).

Si bien es cierto que algunos autores al referirse sobre estas experiencias manifiestan que ellas presentan algunas dificultades debido a que en el laboratorio se pueden producir o disponer de temperaturas constantes, mientras que en la naturaleza, donde los determinados microorganismos parásitos, al estar expuestos a las diversas oscilaciones o alternativas de temperatura, éstas podrían influir sobre su desarrollo. Pasando revista a los trabajos realizados sobre este respecto, permiten darse una idea de que las temperaturas de estufa mínimas, óptimas y máximas para el desarrollo de los hongos en sus medios de cultivos, son próxima, sino idénticas a las mínimas, óptimas y máximas que necesitaría el hongo para desarrollarse y atacar al huésped en la naturaleza.

Variados y diversos son los trabajos que se realizaron y realizan sobre los efectos de la temperatura en el crecimiento, reproducción, características de colonias, fructificaciones, ataques, etc., etc. de hongos en general.

De la cuantiosa bibliografía que existe al respecto, citaré algunos ejemplos que confirman lo dicho, para luego referirme en particular sobre la *Phytophthora*.

Johnson (8) en el año 1921, al estudiar el marchitamiento del tabaco, producido por el *Fusarium oxysporum* Schl. v. *nicotianae* Johnson, al efectuar experiencias tendientes a comprobar la influencia de la temperatura del suelo, sobre el desarrollo del parásito, manifiesta que es significativo que el óptimo de desarrollo del *Fusarium oxysporum* v. *nicotianae* en medios de cultivos puros (28-30°C) sea casi exacto al que se registra a campo (28-31°C).

Para el *Fusarium lini* Bolley, Jones L.R. and Tisdale W.B. (9) 1922, determinan que la temperatura óptima a campo para el desarrollo de la enfermedad oscila entre los 24-28°, siendo aparentemente igual a la que se necesita para el óptimo del desarrollo vegetativo en medios de cultivo.

Tochinai (33), en 1926, al realizar un estudio comparativo sobre la fisiología del *Fusarium lini* y *Colletotrichum lini*, llega a lo que a temperatura se refiere para el primero, a la misma óptima obtenida por Tisdale W.B., es decir entre 28,5°C y 29,5°C.; para *Colletotrichum lini* 25°C.

Linford (18) en su trabajo sobre el marchitamiento de las arvejas, 1928, producido por *Fusarium orthoceras* v. *lisi*, determinó que la temperatura óptima del suelo necesaria para que el *Fusarium* produzca un

ataque severo, es un poco más baja que la temperatura óptima necesaria para el desarrollo en medios de cultivo agarizados.

Rudolph B.A. (28), al publicar su trabajo sobre el *Verticillium hadromycocis*, expone en el capítulo intitulado «relaciones de la temperatura», que la óptima de desarrollo de los *Verticillium* en cultivos puros, es muy aproximada a la óptima necesaria para el buen desarrollo de la planta. Esta deducción la hace teniendo en cuenta los resultados obtenidos por diversos investigadores (Bewley — Schoevers — Bennett — Pestchke — Czarnecki — Chaudhuri — Edson y Shapavalov), los cuales en sus respectivos trabajos, determinan las temperaturas mínimas-óptimas y máximas, ya sea en plantas, como en medio de cultivos.

Sobre el particular Verona O. y A. Ceccarelli (40), en el año 1935, realizan nuevas experiencias, cultivando *Verticillium* sp. a temperaturas de 12-15°C.; 24-26°C. y 35-37°C., demostrando que la temperatura óptima fué la 24-26°C.

Relacionado con *Rhizoctonia solani* Kühn, Richards B.L. (26-27), en 1921 y 1923 respectivamente, encuentra que la temperatura de desarrollo en medios de cultivo, se halla entre los 20-25°C., pero que el ataque al huésped generalmente se produce a una temperatura inferior de 4°C. de su óptima, es decir a 16-21°C.

Pasando al campo de las *Phytophthoras* sp., también nos hallamos ante numerosa literatura, en la que se hace mención de las temperaturas máximas, mínimas y óptimas del desarrollo de diversas especies. En general estos trabajos se encuentran resumidos en la tesis sobre: Taxonomía del género *Phytophthora* de Bary, del doctor C.M. Tucker (38) publicada en el año 1931.

En el capítulo que trata sobre la relación entre la temperatura y el crecimiento, el autor establece que el mismo se produjo a 35°C., en todos los aislamientos de *Phytophthora nicotianae* P. parasítica. P. Dreschleri y uno de P. capsici. Un grupo de aislamientos crecen profusamente a los 30-32°C. y 32.5°C., deteniendo su desarrollo a los 35°C., en él se hallarían las siguientes especies: P. arecae — P. P. boehmeriae — P. caetorum — P. cambivora — P. cynamomi — P. citricola — P. citrophthora — P. colocasiae — P. cryptogea — P. meadii — P. Mexicana — P. palmivora y un aislamiento de P. capsici.

Ninguna especie fué capaz de desarrollarse en forma apreciable a 35°C. *Phytophthora erythroseptica* a 30°C. — P. infestans se desarrolla de 5 a 25°C. — P. hibernalis y P. syringae no se desarrollan a 25°C.

Las temperaturas óptimas para el desarrollo vegetativo también las da el autor de la siguiente manera:

P. hibernalis — *P. infestans* — *P. richiardiae* — *P. syringae* — tienen una óptima bajo los 25°C.

La temperatura más favorable para el crecimiento de un número de especies ha sido de 25°C. — 27°C., citándolas como sigue

P. boehmeriae — *P. cactorum* — *P. cinnamomi* — *P. citricola* — *P. citrophthora* — *P. cryptogea* — *P. erythroséptica* — y *P. Mexicana*.

Las especies *P. arecae* — *P. cambivora* — *P. colocacieae* — *P. meadii* y *P. palmivora* se desarrollan mejor de 27 a 30°C.

Alrededor o por encima de 30°C. se desarrollan en forma profusa: *P. nicotianae* — *P. capsici* (1 aislamiento). *P. parásitica* y *P. dreschleri*.

La investigación realizada posteriormente por otros autores hasta la fecha, confirman las apreciaciones de Tucker (38), dado que los resultados obtenidos se encuadran dentro de las cifras dadas por este autor y que se hacen conocer en párrafo aparte.

Sobre *Phytophthora capsici* en particular, pocas son las citas al respecto, salvo las que a continuación menciono:

Sarejanni (30), de Grecia, en su trabajo del año 1936, en el que al referirse a ciertas *Phytophthoras* que atacan cultivos, como ser: papa, tabaco, tomate y pimiento, clasifica a esta última como *Ph. capsici* y manifiesta que la infección es favorecida por humedad y temperatura superior a 28°C. Ultimamente en el año 1940, Wiant J.S. and Tucker (43), al publicar un trabajo sobre una podredumbre de los melones, Winter Queen Water, causada por la *Ph. capsici*, manifiesta que en el cultivo tiene una temperatura óptima de 26, 6°C. a 29, 4°C., una máxima de 35 a 37,7°C. y una mínima de 5 a 8,6°C., el máximo de perjuicios en frutos inoculados se produjo a la temperatura de 29,5°C. No se desarrolló a la temperatura de 45°C.

A los efectos de comprobar el comportamiento de la *P. capsici*, aislada sobre material de pimientos procedentes de Villa Dolores (Córdoba), se cultivó el citado microorganismo sobre un determinado medio de cultivo, en este caso, caldo papa glucosado al 2%, colocándose el líquido en cantidad de 50 cc. para cada uno de los tres Erlenmeyers (repeticiones), cuya capacidad fué de 200-250 cc. y otra parte sólida, colocándose en cajas de Petri de 10 cms. (3 repeticiones); procedido a la esterilización se colocó igual cantidad de micelio y se llevaron unos y otros a las temperaturas siguientes: 0-2° — 5°a 6° — 8°a 8,5° — 17° — 22° — 22,5°a 23,5° — 23,5° a 24° — 30° a 31° — 37° y 41°.

La observación y pesada se realizó a los 7 días, obteniéndose los siguientes resultados:

Temperatura	Diámetro de la colonia medio sólido en mm.	Peso de micelio grs. medio líquido
0° C.	No hay desarrollo	No hay desarrollo
2° C.	» » »	» » »
5-6°	» » »	» » »
8-8,5°	» » apreciable	» » . apreciable
17°	0,0606	0,072
22°	0,0676	0,145
22,5-23,5°	0,0696	0,1545
23,5-24°	0,0763	0,1655
30-31°	0,0806	0,1825
37°	0,028	0,110
41°	No hay desarrollo	No hay desarrollo.

De los resultados obtenidos se deduce que la temperatura óptima de crecimiento, en la cual se obtuvo un desarrollo máximo fué de 30° a 31°, la máxima podría calcularse un poco más de 37°C. y la mínima menos de 8-8, 5°. Estas temperaturas coinciden en cierto modo a las dadas por Tucker C.M. y Weant G.S. y Tucker C.M.

Los cultivos realizados a 41° C. no demostraron desarrollo alguno después de 46 horas y colocados a temperaturas corrientes de 24°C., como así también en la óptima de 30-31° no se consiguió ningún crecimiento, demostrándose que dicha temperatura es letal al microorganismo.

No ocurrió lo mismo con las bajas temperaturas, puesto que después de haberse constatado la falta de crecimiento en las temperaturas de 0-2-5 a 6 y 8 a 8,5° C. los cultivos colocados como en el caso anterior, es decir a temperaturas de 24°C. y óptima de 30-31°C. reanudaron su crecimiento normal por lo que se demuestra que tales temperaturas no inhiben al microorganismo. La tardanza tanto mayor en los cultivos colocados a temperaturas de 0° en reanudar su crecimiento, hace pensar en que probablemente el punto letal está próximo a dicha temperatura.

INFLUENCIA DE CIERTAS SUBSTANCIAS QUIMICAS AGREGADAS AL MEDIO NUTRITIVO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA PHYTOPHTHORA CAPSICI

Al realizar las diversas experiencias sobre fisiología de la *Phytophthora capsici*, he creído oportuno incluir este capítulo; guiándome el propósito de observar el comportamiento del mencionado microorganismo frente a diversas sustancias químicas, a fin de establecer los límites hasta los cuales puede desarrollarse el hongo y probablemente más adelante servir de base para lograr los medios de lucha hacia el mismo.

A tal efecto se utilizaron compuestos orgánicos y sales metálicas por un lado y sustancias colorantes tóxicas por otro, agregados los del

primero y segundo grupo al medio de cultivo papa glucosado 2 ‰, en dosis variables desde el 1/8.000 hasta el 25 por mil; para cada caso se adoptó el medio líquido y sólido, utilizándose para el primero 50cc. de caldo papa glucosado 2 ‰, en Erlenmeyers capacidad 200-250 cc., para el segundo el mismo medio agarizado, 10 cc. para cada caja de Petri de 10 cms. de diámetro. En ambos casos las pruebas se efectuaron por triplicado, con testigos y la cantidad de micelio colocada en los medios de cultivo, se cuidó fuera siempre igual.

Referente al tercer grupo, es decir, de sustancias colorantes tóxicas, dada su elevada toxicidad, se emplearon en dosis menores, variables desde 1/500.000 a 1/16.000.000, adoptando como medios nutritivos el Nutrient solution y Nutrient agar, empleados por H. L. Leonian en sus investigaciones sobre «Differential growth of Phytophthoras under the action of malachite green», empleando la técnica seguida por el mismo autor. Del medio líquido se realizaron 5 frecuencias y del sólido 2, colocando el primero en tubos de ensayo de 5 cc. de solución y 10 cc. del segundo en cajas Petri de 10 cc. de diámetro.

En general se procedió a la esterilización durante 30 minutos a 110°C., luego de los repetidos agregados, procediéndose a la observación después de 10 días de haberse cultivado los de medio sólidos y a los 15 días para los cultivos en medio líquidos; la temperatura de estufa fué de 24°C.

No me dilataré sobre los diversos trabajos que existen al respecto por no considerarlo conveniente por lo innumerables que son, haciendo mención de algunos que se han realizado desde hace algunos años a esta parte.

Filippopoulos K. Giorgio (5), en el año 1927, al ocuparse de las enfermedades del olivo, realizó experiencias sobre «algunos hongos que pueden contribuir a la formación de la funagina del olivo» y «sobre la acción de algunos compuestos venenosos hacia estos últimos».

Utilizó el hongo *Alternaria tenuis* y las sustancias tóxicas agregadas al medio nutritivo agar de zanahoria, fueron: arsenito de sodio sulfato de cobre — Germisán — Uspulun — sulfato de hierro, a concentraciones desde 0,5 ‰ al 2 por mil y arseniato de plomo del 1 al 3 por mil. Los resultados obtenidos fueron:

- 1) *Arsenito de sodio*: no hubo desarrollo a concentración del 2 por mil. A las demás concentraciones, es decir, 0,5 y 1 por mil, el crecimiento fué pobre e inferior al testigo.
- 2) *Sulfato de cobre*: no hubo desarrollo a concentración del 0,5 ‰. A las demás concentraciones: 0,5-1 y 2 ‰ el crecimiento fué muy escaso, principalmente a 1 y 2 por mil.

- 3) *Germisan*: Las concentraciones de 0,5 y 1 por mil no permitieron el desarrollo de *Alternaria tenuis*.
- 4) *Uspulun*: Solo a la concentración del 2 por mil no hubo desarrollo. Al 0,5 y 1 por mil el crecimiento fué pobre.
- 5) *Sulfato de hierro*: no hubo desarrollo a concentraciones del 2 por mil y 0,5 por ciento. Para concentraciones de 0,5 y 1 por mil, el desarrollo fué superior e igual al testigo respectivamente.

Concluye el autor manifestando que *Alternaria tenuis* demostró una marcada sensibilidad a los productos que se citan a continuación:

Arsenito de sodio	2 por mil
Sulfato de cobre	0,5 %
Germisán	0,5 y 1 por mil.
Uspulun	2 por mil
Sulfato de hierro	0,5 por ciento y 2 por mil.

Por lo que a *Rosellinia necatrix* se refiere, Stanislaw Mercuri (23) en el año 1927, llega a los siguientes resultados:

Sulfato de cobre 0,5 % y 2 por mil — ningún desarrollo.

Sulfato de hierro 0,5 % — ningún desarrollo — al 2 por mil desarrollo apenas apreciable.

Uspulun Universal 1 y 2 por mil ningún desarrollo — al 0,5 por mil desarrollo apenas apreciable.

Germisan 1 y 2 por mil ningún desarrollo — al 0,5 por mil desarrollo apenas apreciable.

Arsenito de sodio 1 y 2 por mil ningún desarrollo al 0,5 por mil desarrollo apenas apreciable.

Este autor manifiesta que la *Rosellinia necatrix* es muy sensible al arsenito de sodio, germisan, y uspulun; menos sensible al sulfato de cobre y menos aún al sulfato de hierro al 1 por mil.

Rabinovitz D. Sereni (24), en el año 1931, estudiando la fisiología del *Herminthosporium gibberosporium* Curzi y en lo que se refiere a influencia de sales y sustancias diversas sobre la germinación de los esporos, llega a las siguientes conclusiones:

- 1) *Tanino*: no hay germinación a dosis del 1 %; a dosis de 1 y 2 por mil germinan como el testigo.
- 2) *Sulfato de cobre*: hasta dosis de 1/10.000 impiden la germinación, pero a 1/50.000 ella es normal.
- 3) *Sulfato de hierro*: Dosis del por mil, impidieron la germinación, para mayores diluciones el porcentaje fué mayor.

- 4) *Sulfato de aluminio*: No tiene ningún efecto nocivo.
- 5) *Sulfato de zinc*: no tiene ningún efecto nocivo.
- 6) *Acetato de plomo*: dosis de 1 por mil inhiben la germinación, mientras que 1/10.000, ella es normal como en el testigo.

El mismo autor (25), en el año 1932, al realizar un estudio sobre búsquedas fisiológicas sobre Rhizoctonia de los almácigos de citrus, refiriéndose a Rhizoctonia solani Kühn, obtiene los resultados que se darán a conocer a continuación, al comprobar la resistencia en el hongo hacia diversos compuestos fungicidas.

Polvo Caffaro: el hongo es resistente a este fungicida; la dilución elevada parece actuar como estimulante.

Sulfato de cobre: obtuvo desarrollo aún a diluciones del 4 por mil, comenzando la acción nociva de este producto a partir de esta dosis.

Caldo bordelés: la acción de este compuesto parece ser similar a la del sulfato de cobre.

Uspulun: el desarrollo del hongo es inhibido a dosis del 1/500 (2 por mil).

Bicloruro de mercurio: solo obtuvo crecimiento a dosis de 1/25.000 muy pobre.

Verona O. y A. Ceccarelli (40), en el año 1935, al estudiar una traqueomicosis del *Amaranthus tricolor*, producida por el *Verticillium amaranti* n. sp. y precisamente al ensayar la influencia que tienen ciertas sustancias químicas incorporadas al medio de cultivo, obtiene en lo que respecta a los productos por mí empleados:

Sulfato de cobre: para las 4 especies de *Verticillium* en general, el desarrollo fué nulo en diluciones del 1 %.

Sulfato de hierro: la concentración del 1 % inhibió el desarrollo de los siguientes *Verticillium*: *V. tracheiphilum* y *V. amaranti*, como también *Acrostalagumus cephalosporioides*, mientras *V. albo-atrum* y *V. dahliae* fué de desarrollo muy limitado.

Sulfato de zinc: no tuvo acción inhibente sobre los microorganismos citados.

Arsenito de sodio: Todos los microorganismos no han desarrollado.

Los productos utilizados en el presente trabajo fueron:

Compuestos orgánicos: Tanino — Uspulun — Germisan — Agallol.

Sales metálicas: Sulfato de cobre — sulfato de aluminio — sulfato de zinc — sulfato de hierro — arsenito de sodio — acetato de plomo — sulfato de amonio — bicloruro de mercurio.

Mineral: Boro.

ACCION DE LAS DIVERSAS CONCENTRACIONES DE SUBSTANCIAS TOXICAS SOBRE EL CRECIMIENTO

DE LA PHYTPHTHORA CAPSICI LEONIAN

Medio de cultivo: Caldo de papa glucosado 2 % Medios sólidos (a los 10 días)
 Temperatura de desarrollo 24° C. Medios líquidos (a los 15 días)

PRODUCTOS	Medios sólidos — Concentraciones — Diámetro de la colonia en mm.										
	1 8000	1 4000	1 2000	1 1000	2 1000	3 1000	5 1000	10 1000	15 1000	20 1000	25 1000
1 Sulfato de cobre.....	8-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Sulfato de zinc.....	—	—	82	79	45-50	45-50	20-21	12-15	0	0	0
3 Sulfato de aluminio.....	—	—	100	29-76	x	—	—	—	M. poco	0	0
4 Sulfato de hierro.....	—	—	100	35-40	0	—	0	0	0	0	0
5 Sulfato de amonio.....	—	—	86	86	82-84	—	45-55	60-65	70-76	60-68	55-65
6 Boro.....	—	—	85	60	10-20	—	0	0	0	0	0
7 Arsenito de sodio.....	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0
8 Acetato de plomo.....	—	—	65-67	40-53	Escaso	—	0	0	0	0	0
9 Bicoloro de mercurio.....	—	68-74	63-75	0	0	—	0	0	0	0	0
10 Tanino.....	—	—	73-80	68-70	65-75	—	65-75	55-60	x	x	x
11 Germisan.....	—	—	14-19	M. esc.	0	—	0	0	0	0	0
12 Uspulun.....	—	—	9-15	0	0	—	0	0	0	0	0
13 Agallol.....	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0

En general de 95 a 100 mm.

PRODUCTOS	Medios líquidos — Concentraciones — Peso en miligramos del micelio										
	1 8000	1 4000	1 2000	1 1000	2 1000	3 1000	5 1000	10 1000	15 1000	20 1000	25 1000
1 Sulfato de cobre.....	289	359	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Sulfato de zinc.....	—	—	270	262	302	229	0	0	0	0	0
3 Sulfato de aluminio.....	—	—	218	195	0	0	0	0	0	0	0
4 Sulfato de hierro.....	—	—	201	0	0	0	0	0	0	0	0
5 Sulfato de amonio.....	—	—	205	292	225	—	245	241	144	50.5	35.5
6 Boro.....	—	—	232	227	174	—	0	0	0	0	0
7 Arsenito de sodio.....	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0
8 Acetato de plomo.....	—	—	205	203	0	—	0	0	0	0	0
9 Bicoloro de mercurio.....	—	223	249	224	208	—	189	0	0	0	0
10 Tanino.....	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0
11 Germisan.....	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0
12 Uspulun.....	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0
13 Agallol.....	—	—	0	0	0	—	0	0	0	0	0

Testigo..... Desde 205 a 273 miligramos.

Seguendo la técnica indicada al principio y utilizando los medios líquidos y sólidos, se ha obtenido el resultado que a continuación se hacen conocer, en la tabla de la página 181:

SUGERENCIAS DE LA TABLA (1)

El estudio de la tabla que antecede, se puede observar el comportamiento de la *Phytophthora capsici* frente a los diversos productos agregados al medio de cultivo, lo que sugiere lo siguiente:

1) A una misma concentración de sal metálica — producto orgánico etc., etc., la acción inhibitoria en general, es menor en los medios sólidos que en los líquidos. Esto es debido a que la difusibilidad del producto químico es mayor en los líquidos, que en los sólidos.

2) Entre las sales metálicas, el arsenito de sodio, ya sea, en medio sólido como en medio líquido, demostró una acción inhibitoria absoluta; en efecto, a concentraciones bastante diluídas impidió el desarrollo micelial.

Le sigue el sulfato de cobre, que en medio sólido inhibe a la concentración de 1/4000 y en líquido al 1/2000. En tercer lugar tenemos el Biclouro de mercurio, cuya acción inhibitoria comienza en los medios sólidos al 1 por mil y en líquidos 1/2000. Vienen luego: el sulfato de hierro que inhibe todo desarrollo a concentración de 2 por mil en medio sólido, y 1 por mil en líquido; el acetato de plomo al 5 por mil en medio sólido y al 2 por mil en líquido; el sulfato de zinc al 2 ‰ en medio sólido y 5 por mil en líquido; el sulfato de aluminio, no pudo comprobarse su comportamiento, puesto que a dosis superiores al 1 por mil, impidieron la solidificación del medio sólido; en cambio se notó inhibición en medios líquidos a partir de una concentración del 2 por mil.

El sulfato de amonio demostró no tener poder inhibitoria sobre el crecimiento micelial, aún a concentraciones del 2,5 ‰.

Pasando a los productos orgánicos, observamos que con el producto Agallol no hubo desarrollo micelial a concentraciones diluídas del 1/2000, sea en medio sólido que en líquido. El Uspullun y Germisán inhibieron a concentraciones del 1 por mil y 2 por mil respectivamente, en medios

(1) Indicaciones de la tabla.

— No se realizó experiencia.

— No permite solidificación del medio nutritivo y por consiguiente no se tomó medida.

Los tres últimos productos: Germisán—Uspullun—y Agallol, son compuestos orgánicos del mercurio, empleados en la cura o tratamiento de las semillas de los cereales.

sólidos, siendo nulo el desarrollo a concentraciones del 2 por mil por parte de ambos en medios líquidos.

El tanino parece no tener mayormente acción inhibitoria a concentraciones hasta 1 % en medios sólidos, pero sí a partir del 1 % en medio líquido.

Referente al boro la inhibición comenzó ya sea en medio sólido como en líquido a partir del 5 por mil.

En conclusión: La *Phytophthora capsici* demostró tener una extrema sensibilidad a los siguientes productos: Arsenito de sodio y Agallol, sea en medios sólidos que en líquidos; sensibilidad al sulfato de cobre. Igualmente sensible frente al bicloruro de mercurio y Uspulun a concentraciones mínimas, algo menos sensible al Germisán — sulfato de hierro y probablemente al sulfato de aluminio, menos sensible aún al sulfato de zinc y probablemente tanino y completamente insensible al sulfato de amonio.

SUBSTANCIAS COLORANTES TÓXICAS

El empleo de colorante bajo forma de sustancias tóxicas, como medio selectivo para la diferenciación de microorganismos, comienza en Bacteriología alrededor del año 1912; siendo Churchman J. W. el primer investigador que estudio y publicó en la mencionada fecha sobre «la acción selectiva del Violeta genciana hacia las bacterias». En 1915, Petrof obtiene mediante el agregado de violeta genciana al medio de cultivo, diferencias al *Bacillus* de la tuberculosis.

Keumweide, Patt y Mc. Williams (1916) en su trabajo sobre el empleo del verde brillante para aislar el *Bacillus thyphosum*, utilizan dos concentraciones del mencionado producto.

Holt-Harris y Teague, durante el mismo año, 1916 en sus estudios sobre un nuevo medio para el aislamiento del *B. thyphosum*, emplean el Endo's fucsina-sulphite, para diferenciar las colonias de *B. thyphorum* del *B. coli*.

Kliger en 1918, determinó el poder inhibente del verde malaquita en las diluciones de:

1/300.000 para el *Staphylococcus aureus*.

1/400.000 para el *B. subtilis*.

1/40.000 para el *B. coli*.

1/30.000 para el *B. thyphosum*

Entre 1/250.000 y 1/300.000 para el *Bact.* de la disenteria.

El mismo autor determinó también el poder inhibente del verde brillante en las diluciones siguientes:

1/4000000 para estafilococcus.
 1/1.500.000 para B. subtilis.
 Entre 1/500.000 y 1/2.000.000 para Bact. de la disenteria.
 1/550.000 para B. coli.
 1/510.000 para B. thyphosum.
 1/100.000 para B. aerogenes.

Gay y Morrison que experimentaron la toxicidad del verde malaquita y verde brillante, obtienen inhibición a las siguientes concentraciones y gérmenes:

	<i>Verde malaquita</i>	<i>Verde brillante</i>
Estafilococcus	1/20.000	1/20.000
Estreptococcus	1/2000000	1/2000000
B. thyphosum	1/2.000	1/2.000

Sobre hongos, los ensayos de toxicidad respecto a estas substancias colorantes, comienzan con los trabajos de Coon H.J. (2) publicados en 1928, realizados sobre diversas especies de Fusarium, empleando diversas clases de substancias tóxicas. Constató que violeta genciana fué menos tóxico que verde malaquita y éste a su vez menos que verde brillante.

Las concentraciones empleadas fueron de 1/40.000 para el verde malaquita y 1/26.000 para el violeta genciana como máximo, notando que ellas inhiben el crecimiento de un número de especies.

En el año 1929, H. L. Leonian, (14) al realizar su trabajo sobre la variabilidad y disociación del género Fusarium, utiliza el verde malaquita agregado al medio de cultivo sintético, a seis concentraciones, variables desde el 0,0002 %, al 0,01 %, constatando que 11 especies no se desarrollaron a la concentración del 0,0002 % y un cierto número solo creció muy pobremente. A la dosis de 0,0005 % el número de organismos que fueron inhibidos en su crecimiento aumentó a más del cuarto, mientras otros se desarrollaron escasamente.

En el año 1930 el mismo autor (15), experimentó el efecto del verde malaquita sobre el crecimiento de diversas Phytophthoras sp. Adoptó soluciones de verde malaquita, agregadas en la proporción del 1-2-4-8 y 16.000.000, partes en el medio nutritivo y determinó que: 3 organismos fueron inhibidos cuando el verde malaquita estaba en dilución de 1/16.000.000.

21 organismos fueron inhibidos cuando el verde malaquita estaba en dilución de 1/8.000.000 y 29 organismos crecieron esporádicamente.

Sólo un organismo creció muy pobremente, cuando la dilución fué de 1/1.000.000.

Durante e año 1931, se publica un trabajo de Coons H.G. y Strong M.C. (3) en el que se emplean diversas substancias colorantes tóxicas, agregadas al medio nutritivo sintético. Estas substancias fueron: verde malaquita, cristal violeta, verde brillante y acroflávina, además se utilizó el sulfato de cobre. Las dosis fueron de: 1/10.000 y 1/2 millón para los 4 productos primeros y 1/1.000 y 1/40.000 para el último.

Cincuenta y cuatro especies y variedades de *Fusarium* fueron empleadas y los resultados obtenidos han permitido agrupar a estos microorganismos en grupos de acuerdo a la sensibilidad, hacia el verde malaquita, cristal violeta y otros productos.

Verona y Ceccarelli (40), en 1935, al determinar el comportamiento de algunas especies de *Verticillium*, frente a distintas concentraciones de verde malaquita, concluyen manifestando que la acción tóxica de esta substancia colorante fué acertada dentro de los límites 1/200.000 y 1/500.000.

En el presente trabajo he tratado de probar la acción del verde malaquita y violeta de genciana, empleando las dosis dadas por Leonian, es decir 1-2-4-8 y 16.000.000, utilizando los medios indicados por el citado autor, es decir:

MEDIO SÓLIDO-NUTRIENT AGAR	MEDIO LÍQUIDO-NUTRIENT SOLUTION
Extracto de malta	5 grs. Peptona 2 grs.
Fosfato monopotásico	0,5 » Fosfato monopotásico.. 0,5 »
Sulfato de magnesio	0,5 » Sulfato de magnesio 0,5 »
Ágar	20 » Acido succínico 0,2 »
Agua destilada	1000 cc. Dextrosa..... 5 »
	Agua destilada 1000 cc.

La técnica fué la misma que la indicada al comenzar este capítulo, y los resultados obtenidos después de 15 días 24°C. de temperatura fueron:

VERDE MALAQUITA	
MEDIO SÓLIDO	MEDIO LÍQUIDO
1/500.000	Colonia 70-75 mm. Sin desarrollo.
1/1.000.000	Colonia 65-70 mm. redondo borde aparentemente liso, tupido ramificado, micelio sumergido. Muy escaso desarrollo, esporádico.

	MEDIO SÓLIDO	MEDIO LÍQUIDO
1 2.000.000	Colonia 85 mm. idem al anterior, más compacta sin micelio aéreo.	Escaso a poco desarrollo.
1 4.000.000	Colonia 85 mm. idem al anterior con escaso micelio aéreo.	Desarrollo mayor que el anterior, esporádico.
1 3.000.000	Colonia 85 mm. más compacta que la anterior, regular cantidad micelio aéreo blanco.	Mayor desarrollo que el anterior.
1 16.000.000	Colonia 85 mm. y con características similares a la anterior, mayor cantidad de micelio.	Buen desarrollo micelial.

VIOLETA GENCIANA

	MEDIO SÓLIDO	MEDIO LÍQUIDO
1 500.000		Desarrollo muy escaso.
1 1.000.000	Colonia 75-78 mm. bordes ramosos, micelio sumergido, muy poco aéreo, veloso, menos compacto que el verde malaquita.	Desarrollo escaso a nulo.
1 2.000.000	Colonia 75-85 mm. características idem al anterior, poco micelio aéreo.	Desarrollo regular a pobre, más que verde malaquita.
1 4.000.000	Colonia 85 a 87 mm. características idem al anterior, micelio semi-sumergido.	Desarrollo regular, micelio más compacto.
1 3.000.000	Colonia 75 - 78 mm. bordes lobulados, ramificados, arborecentes, colonia sumergida, poco micelio aéreo.	Desarrollo y cantidad de micelio idem al anterior pero más compacta.
1 16.000.000	Colonia 85 mm. características idem a las anteriores, micelio aéreo pobre, pero más abundante que en los anteriores.	Buen desarrollo, compacto, más que en el anterior.

Los testigos demostraron un buen desarrollo y bien compacto. Ateniéndome a los resultados obtenidos, debo manifestar que el comportamiento de *Phytophthora capsici* en estudio, es similar al obtenido por Leonian H.C. en sus experimentos.

SUMARIO

Se realizó un estudio sobre fisiología de un aislamiento de *Phytophthora capsici* Leonian, productora de la enfermedad denominada «mildiu o tizón del pimiento», en Villa Dolores (Córdoba).

Luego de dar a conocer brevemente los conocimientos que hasta la fecha se disponen sobre la *Phytophthora capsici* Leonian en otras partes del mundo, como así también del país, se exponen en diversos capítulos las experiencias que se realizaron sobre biología del mencionado hongo. Los resultados obtenidos serían:

1) Al parecer la *Phytophthora capsici* (de resultados obtenidos) no produciría toxinas zimasas que se difunden en el medio nutritivo. Esta prueba habrá que repetirse, a fin de obtener resultados más concretos.

2) Determinando el poder patógeno de la *Phytophthora capsici* sobre diversos huéspedes, mediante infecciones artificiales, se ha comprobado que ésta puede atacar plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) berenjena (*Solanum melongena*) Linn., además del pimiento, dulce o picante (*Capsicum annum* Linn.). No demostró ser patógeno en tabaco (*Nicotana tabacum* Linn.). *Nicotiana glutinosa* Linn. y papa (*Solanum tuberosum* Linn.). Se hace mención de otros huéspedes que es capaz de atacar según la bibliografía consultada.

3) La *Phytophthora capsici* se desarrolla mejor en medios naturales, que en los sintéticos. En los medios conteniendo peptona, demostró preferirlos.

Podrían clasificarse los medios naturales líquidos por orden en los cuales mejor se desarrolla la *Phytophthora*:

1° Caldo papa glucosado 2 % — 2° Caldo harina de avena — 3° Peptona 4° Caldo zanahoria — 5° glucosa 1 % — 6° Caldo peptonado. 2 % Los sintéticos: 1° Nutrient solution — 2° Mayer's synthetic solution — 3° Fermi.

Entre los medios sólidos se destacó el agar arroz.

4) Comprobada la influencia que tienen los distintos componentes de fórmula del mejor medio sintético: Nutrient solution, sobre el desarrollo vegetativo de la *Phytophthora capsici*, se obtuvo:

a) La falta de peptona, como así también de dextrosa inhiben el desarrollo micelial, quedando demostrado que son productos indispensables, pues ellos estimulan el desarrollo.

b) Los demás productos, es decir, fosfato monopotásico, sulfato de

magnesio, ácido succínico, actúan de una manera similar y si bien su falta producen inhibición, ésta no es tan pronunciada como en el caso de faltar la peptona o dextrosa.

- c) Se comprobó además que el ácido succínico 0,2 % puede ser substituído con más o menos igual resultado, por el ácido cítrico, en concentración un poco más superior al 0,5%, probablemente 0,6-0,7‰.
- 5) La *Phytophthora capsici* (aislada de Villa Dolores (Córdoba), se desarrolló en una escala relativamente amplia de Ph. (desde 3,8 a 7,8) siendo el óptimo Ph. 6,8. En términos generales hay tendencia a modificar el Ph. de todos los medios hacia una determinada acidez; el punto isometabólico estaría alrededor del Ph. 5.
 - 6) El agregado de ácidos orgánicos al medio de cultivo no parece actuar por la disociación de iones hidrógenos. En cuanto a la acción que tienen los ácidos, tartárico, tánico y cítrico en diversas concentraciones (de 0,5 al 3‰), se constató que el primero inhibe desde concentraciones del 1 al 3‰, mientras que el cítrico solo lo hace a las concentraciones del 2 y 3‰; el ácido tánico no parece ejercer efecto inhibente.
 - 7) Realizados los cultivos a distintas temperaturas, se comprobó que la temperatura óptima de desarrollo fué de 30-31°C., la mínima a menos de 8-8,5°C., y la máxima un poco más de 37°C. Los cultivos colocados a 41°C. perdieron su poder de desarrollo, por lo que se demuestra que esta temperatura es letal; A 0°C. si bien no hubo desarrollo, la tardanza en reanudar el crecimiento hace pensar que el punto letal está próximo a dicha temperatura.
 - 8) El agregado de sustancias químicas al medio de cultivo, demostró que la *Phytophthora capsici* tiene una susceptibilidad extrema hacia el Arsenito de sodio y Agallol, susceptibilidad al sulfato de cobre, bicloruro de mercurio y Uspullun, algo menos susceptible al Germisan, sulfato de hierro y probablemente al sulfato de aluminio, menos susceptible al boro, acetato de plomo, poco sensible al sulfato de zinc, como así también al tanino y completamente insensible al sulfato de amonio.

En cuanto al poder inhibente del verde malaquita y violeta genciana, estos dos colorantes se comportan en forma casi similar.

RESUMEN

En el presente trabajo se realiza un estudio fisiológico de la *Phytophthora capsici* Leonian, parásito que tiene importancia económica como causante de la enfermedad del pimiento, vulgarmente denominada: «mildiu o tizón».

Luego de dar a conocer los antecedentes que existen sobre esta enfermedad en el extranjero y en el país, se exponen detalladamente los resultados de diversas experiencias realizadas, cuyo objeto fué determinar:

- 1° — Existencia de toxinas en cultivos y relación con el marchitamiento.
- 2° — Poder patógeno de la *Phytophthora capsici*.
- 3° — Influencia de diversos medios de cultivo sobre su crecimiento, como también la de los diversos componentes de la fórmula sintética que mejor se haya demostrado para el desarrollo.
- 4° — Influencia del Ph. o potencial hidrógeno, sobre el crecimiento en medios de cultivo.
- 5° — Acción de diversos ácidos orgánicos sobre el crecimiento en medios de cultivo.
- 6° — Acción de diversas concentraciones de ácido tartárico-tánico y cítrico, en el desarrollo micelial en medio de cultivo.
- 7° — Acción de la temperatura sobre el crecimiento de la *Phytophthora capsici* en medios de cultivo.
- 8° — Influencia de ciertas sustancias químicas, agregadas al medio de cultivo sobre el crecimiento de la *P. capsici*.
- 9° — Influencia de ciertas sustancias colorantes tóxicas, agregadas al medio de cultivo sobre el crecimiento de la *P. capsici*.

En cada capítulo además de indicar la forma que se desarrolla la experiencia, se hacen conocer las conclusiones que la misma sugiere.

SUMMARY

In the present work a physiological study of the *Phytophthora capsici* Leonian has been made, a parasite of economic importance as the cause of the «pepper disease», commonly called «Mildew or Stinking Smut».

After giving some information about articles which already exist on this disease both in foreign countries and here, a detailed exposition of the results of various experiments that have been realized is given, the object of which was to determine:

- 1st. The existence of toxins in cultures, and their relation to wilt.
- 2nd. Pathogenic power of *Phytophthora capsici*.
- 3rd. The influence of different cultures on its growth, as well as of the various components of the syntethical formula, that has been best demonstrated by development.
- 4th. The influence of Ph., or potential hydrogen on the growth in cultures.
- 5th. The action of several organic acids on the growth in cultures.
- 6th. The action of diverse concentrations of tannic-tartaric acid, and citric in the micelial development in cultures.
- 7th. The action of temperature on the growth of *Phytophthora capsici* in cultures.
- 8th. The influence of certain chemical substances on the growth of *P. capsici*.
- 9th. The influence of certain toxic and colouring substances added to the culture, on the growth of *P. capsici*.

In each chapter, besides indicating the way in which the experiment develops, the conclusions suggested by it, are described.

R E S U M O

No presente trabalho se procede a um estudo fisiológico da *Phytophthora capsici* Leonian, parasita que tem importancia económica como o causante da doença do bolor, vulgarmente chamada: «mildiú».

Depois de dar a conhecer os antecedentes que existem sobre esta enfermidade no extranjeiro e no país, expõem-se detalhadamente os resultados de diversas experiencias realizadas, cuyo objetivo foi determinar:

1. — Existencia de toxinas em cultivos e relação com a murchidão.
2. — Poder patogênico da *Phytophthora capsici*.
3. — Influencia de diversos meios de cultivo sobre seu crescimento, como tambem a dos diversos componentes da fórmula sintética que melhor se tenha demonstrado para o desenvolvimento.
4. — Influencia do Ph. ou potencial hidrogênico sobre o crescimento em meios de cultivo.
5. — Ação de diversos ácidos orgânicos sobre o crescimento em meios de cultivo.
6. — Ação de diversas concentrações de ácido tartárico-tânico e cítrico, no desenvolvimento do micelio em meio de cultivo.

7. — Ação da temperatura sobre o crescimento da *Phytophthora capsici* em meios de cultivo.

8. — Influencia de certas substancias químicas, adicionadas ao meio de cultivo sobre o crescimento da *Phytophthora capsici*.

9. — Influencia de certas substancias colorantes tóxicas, adicionadas ao meio de cultivo sobre o crescimento da *Phytophthora capsici*.

Em cada capítulo, além de indicar a forma em que se desenrola a experiencia, se fazem conhecer as conclusões que a mesma sugere.

BIBLIOGRAFIA

- (1) CHUPP. CH. *Manual of Vegetable Garden diseases*. Pág. 338-339|1925. Mc. Millan.
- (2) COONS H. G., *Some aspects of the Fusarium problem*. Mayo Foundation lecture 1926-1927-1928.
- (3) COONS H. G. and STRONG M. C., *The diagnosis of species of Fusarium by use of growth inhibiting substances in the culture medium*. Agric. Exp. Stat. Michigan State college. Tech. Bull. 115-1931.
- (4) DUNEGAN J. C., *A Phytophthora disease of peach seedling*. Phytopathology 25-8 : 800|1935.
- (5) FILIPPULOS K. GIORGIO., *Azzione di alcuni composti venefici sopra la fumaggine dell'Olivo*.
- (6) GODOY E. F. *El «mildiu o tizón del pimiento», producido por la Phytophthora capsici*.
- (7) GOIDANICH G. *Ricerche sulle Phytophthorae del pomodoro*. Boll. d. R. Staz di Pat. Vegetale A XVI N.S. 2 pág. 115.
- (8) JOHNSON JAMES., *Fusarium wilt of tobacco*. Journal of Agric. Resch XX N. 7|1921.
- (9) JONES L. R. and TISDALE W. B. *The influence of soil temperature upon the development of flax wilt*. Phytopathology 12 pág. 409-413|1922.
- (10) KLOTZ L. J. *Studies in Phytophthora citrophthora in citrus*. Phytopathology 20-1 pág. 14|1940.
- (11) KREUTZER. W. A., *A Phytophthora rot of cucumber fruit*. Phytopathology 27-9 pág. 955|1937. (Abst.).
- (12) KREUTZER W. A., BODINE E. W. and DURRELL L. W. *Cucurbit diseases and rot of tomato fruit caused by Phytophthora capsici*. Phytopathology 30-11 pág. 972|1940.
- (13) LEONIAN L. H., *Stem and fruit blight of pepper caused by Phytophthora capsici sp. nov.* Phytopathology 12: 401-408|1922.
- (14) LEONIAN L. H. *Studies on the variability and dissociations in the genus Fusarium*. Phytopathology 19-9 pág. 753|1929.
- (15) LEONIAN L. H. *Differential growth of Phytophthora under the action of malachite green*. American Journal of Botany XVII pág. 671-677|1930.
- (16) LEONIAN L. H., *Identification of Phytophthora sp.* Bull. W. Va. Agric. Exp Stat. 262|1934.
- (17) LEVINE M. and SCHOENLEIN H. W. *A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms*. Williams y Wilkins Co. Baltimore 1930.

- (18) LINDFORD M. B. *A Fusarium wilt of peas in Wisconsin*. Agric. Exp. Stat. of the Univ. of Wisconsin Rech. Bull. 85|1928.
- (19) LINDQUIST J. B. *Sobre la presencia de la Phytophthora capsici en la República Argentina*. Physis (Rev. S. A. de C. N.) T. XI pág. 170-174|1932.
- (20) MARLOTH H. RAIMUND, *The influence of hydrogen-ion concentration and of sodium bicarbonate and related substances on Penicillium italicum and P. digitatum*. Phytopathology 21-2 pág. 169|1931.
- (21) MEMORIA DE LA DIVISIÓN DE FITOPATOLOGÍA DEL M.A. «Podredumbre-gangrena» del pie o base del pimiento. Arch. de la Div. de Fitopatología de M.A.N. 1936 (inédita).
- (22) MEMORIA DE LA DIVISIÓN DE FITOPATOLOGÍA DEL M. A. Arch. de la Div. de Fitopatología de M.A.N. 1937 (inédita).
- (23) MERCURI STANISLAO, *Marciume radicale del carcioffo*. Boll. d. R. Staz. di Pat. Vegetale A. VII N° 3 N.S. pág. 347|1927.
- (24) RABINOVITZ D. SERENI., *Ricerche sulla fisiología dell Helminthosporium, gibberosporium Curzi*. Boll. d. R. Staz. di Pat. Vegetale A. XI N° 3 N.S. pág. 244|274, 1931.
- (25) RABINOVITZ D. SERENI, *Ricerche biologiche sella Rhizoctonia dei semenzai di Citrus*. Boll. d. R. Staz. di Pat. Vegetale A. XII N° 2 N.S. pág. 187, 209|1932.
- (26) RAWLINS T. E., *Phytopathological and botanical Research methods*. John Wiley y Sons. Inc. N. York. 1933.
- (27) RICHARDS B.L., *Pathogenicity of Corticium vagum on the potato as affected by soil temperature*. Journ. of Agric. Resch. XXI|1921.
- (28) RICHARDS B.L., *Soil temperature as a factor affecting, the pathogenicity of Corticium vagum on the pea and the bean*. Journ. of Agric. Resch. XXV.|1923.
- (29) RUDOLPH B. A., *Verticillium hadromycosis*. Hilgardia Univ. of California, Calif. Agric. Exp. Stat. Vol. 5 N° 9 pág. 197, 353|1931.
- (30) SAREJANNI J.A., *La pourriture du collet des solané cultivées et la classification du genre Phytophthora*. Ann. Inst. Phytopath. Benki Grece II, 1 pág. 35-52, 1936 (issued in 1937).
- (31) SCOTT T. IRL., *The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of Fusarium lycopersici and on tomato wilt*. Univ. of Missouri Agric. Exp. Stat. Resch. Bull. 64|1924.
- (32) SIDERIS C. P., *The effect of the ion concentration of the culture solution on the behavior of Fusarium cromyphthoron and Allium cepa and the development of pinkroot disease symptoms*. Phytopathology 19 - 3 pág. 233|1929.
- (33) TOCHINAI YOSHIHIKO, *Comparative Studies on the Physiology of Fusarium lini and Colletotrichum lini*. Journal of the College of Agriculture Kokkaido Univ. Vol. XIV Pt. 4, pág. 171-236|1926.
- (34) TOMPKINS C. M. TUCKER C. M. and GARDNER W. M., *A Phytophthora root rot of Cauliflowers*. Phytopathology 25 - 9: pág. 893-894|1935.
- (35) TOMPKINS C. M. - TUCKER C.M. and GARDNER W. M., *Root rot of Aster caused by Phytophthora cryptogea*. Phytopathology 25-9, pág. 895|1935.
- (36) TOMPKINS C. M. RICHARDS B. L. - TUCKER C. M. and GARDNER W. M., *Phytophthora rot of sugar beet*. Journal of Agric. Resch. 52-3 pág. 205-206|1936.
- (37) TOMPKINS C. M. and TUCKER C. M., *Phytophthora rot of Honey dew melon*. Journal of Agric. Resch. 54-12 pág. 933-944|1937.
- (38) TUCKER C. M., *Taxonomy of the genus Phytophthora de Bary*. Univ. of Missouri Agric. Exp. Stat. Resch. Bull. 153|1931.

(39) TUCKER C. M. *The Distribution of genus Phytophthora*. Univ. of Missouri Agric. Exp. Stat. Resch. Bull. 184|1933.

(40) VERONA O. y A. CECCARELLI, *Su di una tracheomicosi dell'amaranto (Amaranthus tricolor L.) prodotta da una specie di Fusarium e di Verticillium amaranti n. sp. in genere, sulla biología di alcuni Verticillium patogeni*. Phytopath. Zeitschr. VIII pág. 373. Bd. 8 Heft 4|1935

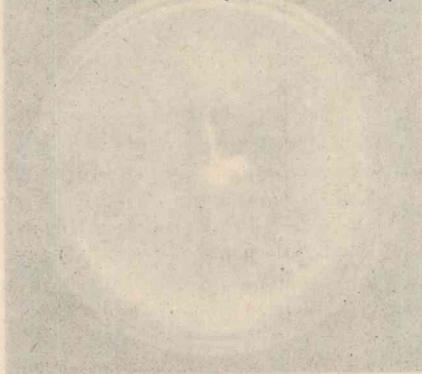
(41) WEBER G. F., *Blight of peppers in Florida caused by Phytophthora capsici*. Phytopathology 22-9 pág. 775-780|1932.

(42) WIAIT J. S. *Species of Phytophthoras responsible for market decay of Western Honey dew melons and cantaloupe*. Plant diseases Rept. 23-19: pág. 322|1939.

(43) WIAIT J. S. and TUCKER C. M., *A rot of winter Queen water melons*. Journal of Agric. Resch. IX - 2 pág. 73-88|1940.

(44) WOLF TAYLOR FREDERICK, *The pathology of tobacco black shank*. Phytopathology 23 - 7 pág. 605|1933.

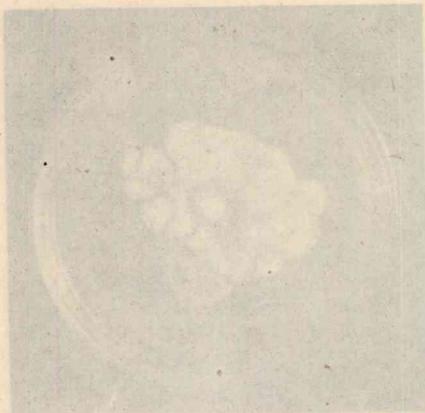
(45) YOUNG H. C. and BENNETT C. W., *Growlh of some parasitic fungi in synthetic culture media*. American Journal of Botany 9: 8 - 459-469|1922.



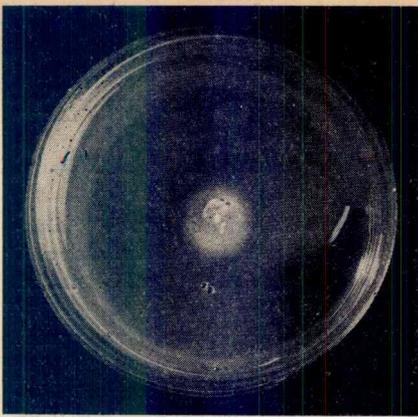
Desarrollo en Agar papa glucosado 2% con agregado de Sulfato de zinc 2% a los 10 días 24°C. Tiempo natural.



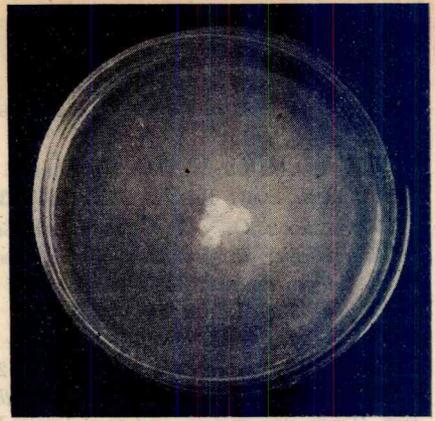
Desarrollo en Agar papa glucosado 2% con agregado de Sulfato de zinc 2% a los 10 días 24°C. Tiempo natural.



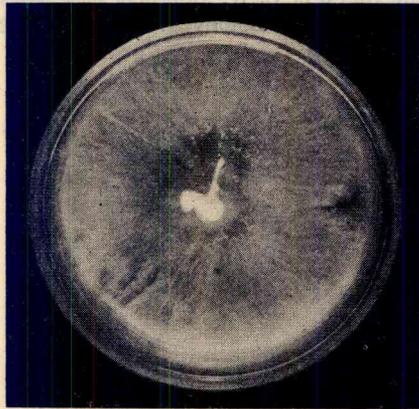
Desarrollo en Agar papa glucosado 2% con agregado de Sulfato de zinc 2% a los 10 días 24°C. Tiempo natural.



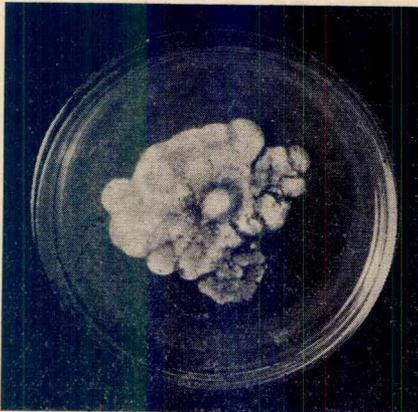
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Sulfato de cobre 1/8000.
A los 10 días 24°C 1/2 tamaño natural.



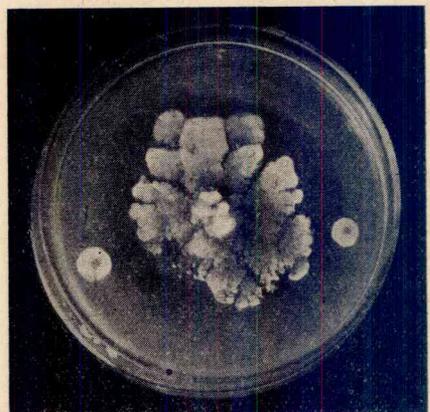
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Sulfato de cobre 0,5‰.
A los 10 días 24°C 1/2 tamaño natural.



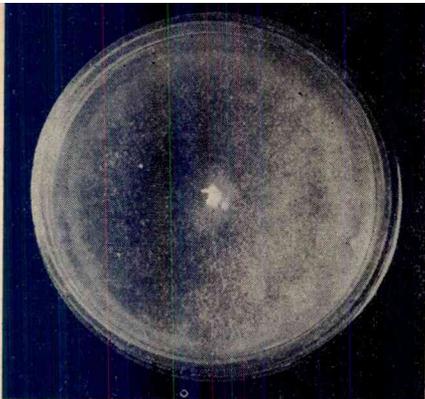
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Sulfato de zinc 1/2‰.
A los 10 días 24°C 1/2 tamaño natural.



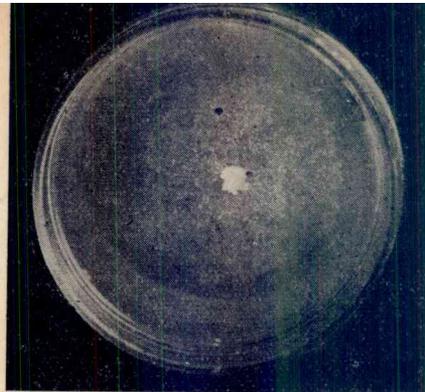
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Sulfato de zinc 2‰.
A los 10 días. 24°C 1/2 tamaño natural.



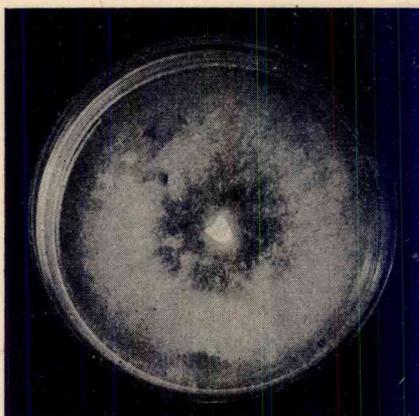
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Sulfato de zinc 3‰.
A los 10 días 24°C 1/2 tamaño natural.



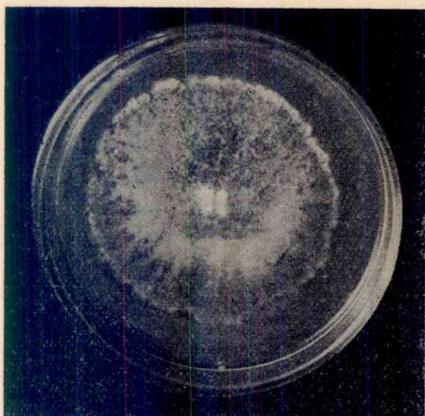
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Acetato de plomo 0,5‰.
A los 10 días 24°C. ½ tamaño natural.



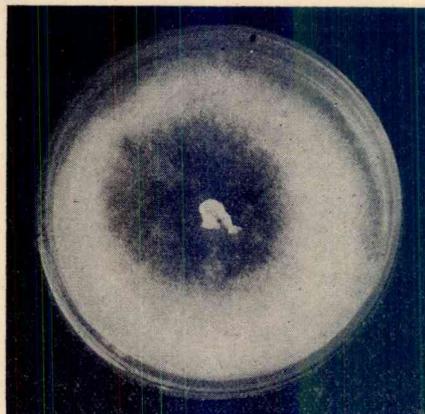
Desarrollo en Agar papa glucosado, 2 %
con agregado de Acetato de plomo 1‰.
A los 10 días 24°C. ½ tamaño natural



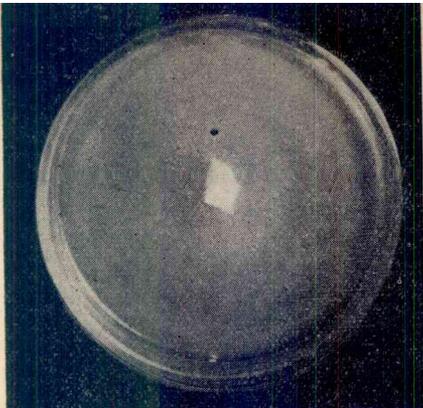
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Boro 0,5‰. A los 10
días 24°C. ½ tamaño natural.



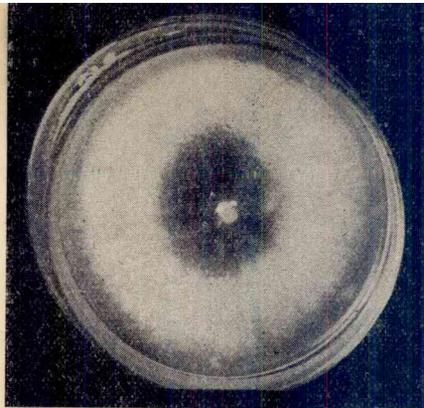
Desarrollo en Agar papa glucosado. 2 %
con agregado de Boro 1‰. A los 10
días 24°C. ½ tamaño natural.



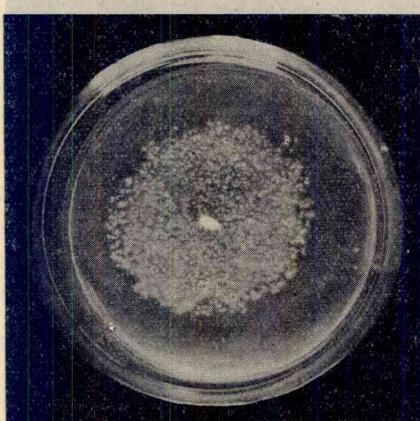
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Biclورو de mercurio
0,25‰. A los 10 días 24°C. ½ tamaño
natural.



Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Biclouro de mercurio
0,5‰. A los 10 días 24°C. ½ tamaño
natural.



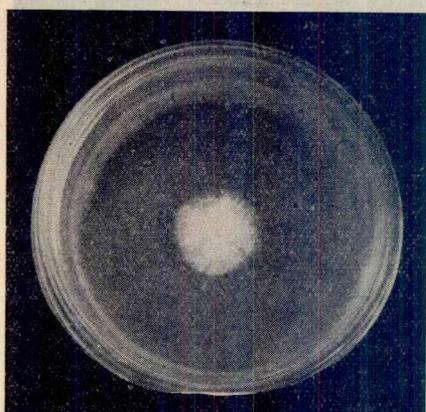
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Sulfato de Aluminio
1‰. A los 10 días 24°C. ½ tamaño
natural.



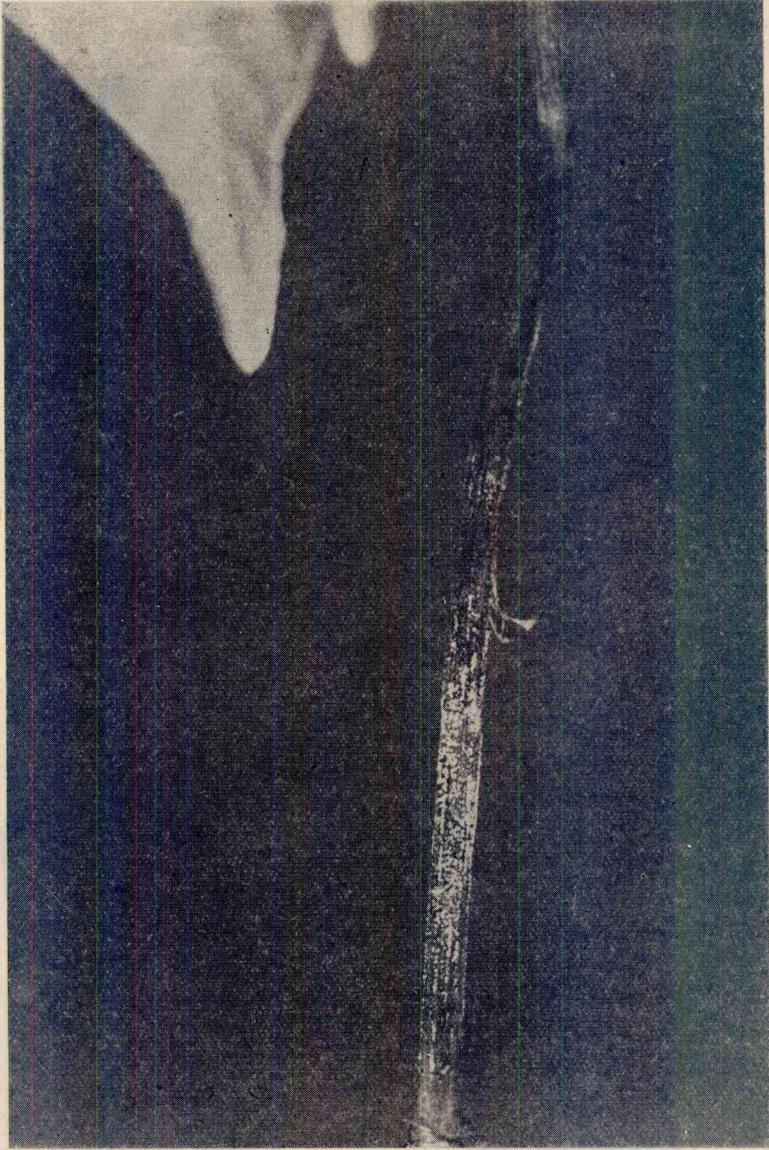
Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Sulfato de Hierro
1‰. A los 10 días 24°C. ½ tamaño
natural.



Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Tanino 1 %. A los 10
días 24°C. ½ tamaño natural.

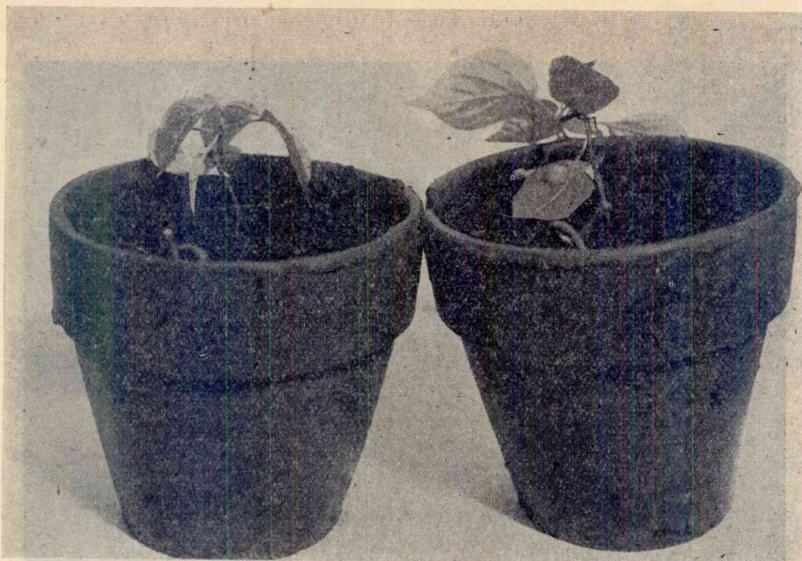


Desarrollo en Agar papa glucosado 2 %
con agregado de Germisán 0,5‰. A los
10 días 24°C. ½ tamaño natural.

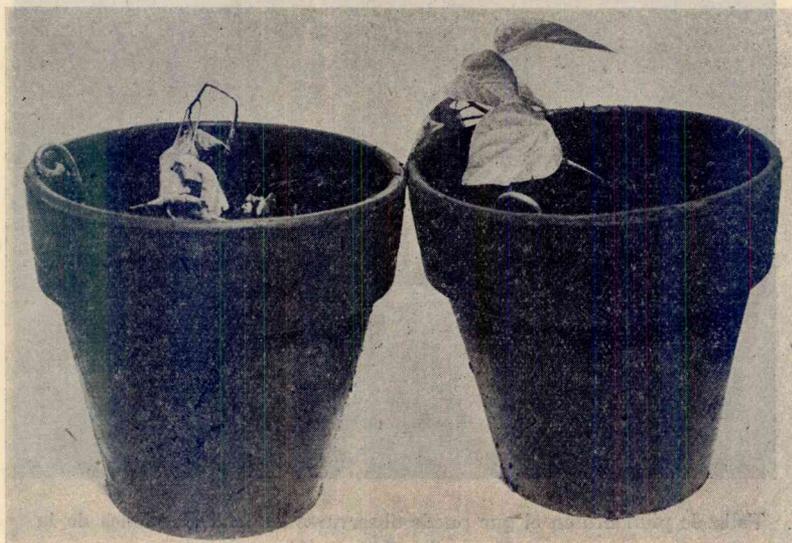


Tallo de pimiento en el que puede observarse las fructificaciones de la
P. capsici (Inf. artif.)

Figura 1. Tallo de pimiento con fructificaciones de P. capsici.
Infección artificial.



Pequeñas plantas de pimiento con ataque inicial de *P. capsici*
Infección artificial.



Pequeñas plantas de pimiento con ataque final de *P. capsici*
Infección artificial.