

## Antagonismo de dos Ascomicetos Contra *Phytophthora capsici* Leonian, Causante de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum* L.)

### *Antagonism of two Ascomycetes Against Phytophthora capsici Leonian, Causing Wilt of Pepper (Capsicum annuum L.)*

**Roberto Ulises Ramos-Sandoval, Juanita Guadalupe Gutiérrez-Soto**, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Pedro de Alba y Manuel L. Barragán, Cd. Universitaria, Apdo. Postal 67-F San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. CP 66451; **Raúl Rodríguez-Guerra**, INIFAP-Campo Experimental General Terán, Carretera Montemorelos-China km. 31, General Terán, Nuevo León, México. CP 67400; **Sergio Manuel Salcedo-Martínez, Carlos Eduardo Hernández-Luna, Hugo Alberto Luna-Olvera**, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Pedro de Alba y Manuel L. Barragán, Cd. Universitaria, Apdo. Postal 67-F San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. CP 66451; **Juan Francisco Jiménez-Bremont**, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a Presa San José 2055. Lomas 4<sup>a</sup>. Sección. San Luis Potosí, SLP, México. CP 78216; **Saúl Fraire-Velázquez**, Unidad de Biología Experimental, UAZ., Av. Revolución S/N, Col. Tierra y Libertad, Guadalupe, Zacatecas, México. CP 98600; **Isidro Humberto Almeyda León**, INIFAP-Campo Experimental General Terán, Carr. Montemorelos-China km. 31, General Terán, Nuevo León, México. CP 67400. Correspondencia: halmeyda30@hotmail.com

(Recibido: Enero 19, 2010 Aceptado: Mayo 07, 2010)

Ramos-Sandoval, R.U., Gutiérrez-Soto, J.G., Rodríguez-Guerra, R., Salcedo-Martínez, S.M., Hernández-Luna, C.E., Luna-Olvera, H.A., Jiménez-Bremont, J.F., Fraire-Velázquez, S. y Almeyda-León, I.H. 2010. Antagonismo de dos Ascomicetos Contra *Phytophthora capsici* Leonian, Causante de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 28:75-86.

Ramos-Sandoval, R.U., Gutiérrez-Soto, J.G., Rodríguez-Guerra, R., Salcedo-Martínez, S.M., Hernández-Luna, C.E., Luna-Olvera, H.A., Jiménez-Bremont, J.F., Fraire-Velázquez, S. and Almeyda-León, I.H. 2010. Antagonism of two Ascomycetes Against *Phytophthora capsici* Leonian, causing wilt of pepper (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 28:75-86.

**Resumen.** En esta investigación se evaluó la actividad antagónica y protección de plántulas *in vitro* del ascomiceto *Xylaria poitei*, y la actividad antagónica de éste en combinación con un ascomiceto desconocido (AD) contra *P. capsici*, causante de la marchitez del chile. *Xylaria poitei* protegió plántulas de chile y permitió la sobrevivencia de un 58.3% de las plántulas, mientras que el oomiceto causó 100% de mortandad; además este hongo inhibió el crecimiento micelial de *P. capsici* hasta un 49.6% en uno de los experimentos donde se establecieron confrontaciones duales. En confrontaciones triples ambos ascomicetos incrementan ligeramente su inhibición a los 12 días de establecida la confrontación contra *P. capsici*; y aún mantienen la inhibición del oomiceto cuatro días después. Ambos

**Abstract.** In this study we evaluated the antagonistic activity and protection of seedlings *in vitro* of the ascomycete *Xylaria poitei*, and its antagonistic activity in combination with an unknown ascomycete (AD) against *P. capsici*, the cause of wilt in pepper. *Xylaria poitei* protected pepper seedlings and allowed 58.3% survival of seedlings, while the oomycete caused 100% mortality, besides this fungus inhibited the mycelial growth of *P. capsici* up to 49.6% in one of the experiments where they settled dual confrontations. In triple confrontations both ascomycetes increase slightly their inhibition at 12 days of conforatation against *P. capsici*, and still maintain the inhibition of the oomycete four days later. It was observed that both ascomycetes stimulate or inhibit each other growth at some time during the evaluation of

ascomicetos estimulan o inhiben su crecimiento en alguna fecha de evaluación durante la confrontación entre ellos. El medio líquido papa dextrosa expuesto al crecimiento de *X. poitei* (filtrado) tiene baja actividad contra el crecimiento micelial de *P. capsici*. Los resultados anteriores indican que la actividad antagonica de ambos ascomicetos contra *P. capsici* se incrementa cuando ambos crecen en forma combinada respecto a las confrontaciones duales, y sugieren que la actividad antagonica de *X. poitei* es estimulada por la presencia del oomicete.

Palabras clave adicionales: *Xylaria poitei*, ascomiceto desconocido, protección de plántulas de Chile.

El cultivo del Chile (*Capsicum annuum* L.) es afectado por diversas enfermedades causadas por microorganismos que limitan el rendimiento y la calidad de su producto; y para su control se aplican diversas estrategias basadas principalmente en el uso de plaguicidas sintéticos. Entre los principales fitopatógenos habitantes del suelo que atacan al Chile están los hongos *Rhizoctonia solani* Kühn y *Fusarium* spp., y el oomiceto *Phytophthora capsici* (Leonian) (González-Chavira *et al.*, 2002; Vásquez-López *et al.*, 2002; Velásquez-Valle *et al.*, 2001). Esta última especie es considerada la causante de la marchitez del Chile y la más devastadora de esos fitopatógenos, capaz de infectar prácticamente cualquier parte subterránea o aérea de las plantas de Chile (Ristaino y Johnston, 1999) e inclusive causar serias pérdidas a otras hortalizas cultivadas en el mundo (Hausbeck y Lamour, 2004; Lee *et al.*, 2001; Tamietti y Valentino, 2001). Las prácticas de control contra fitopatógenos habitantes del suelo en Chile están dirigidas principalmente contra *P. capsici*, e involucran la realización de numerosas aplicaciones de plaguicidas antes y después del establecimiento del cultivo en campo (Hwang y Kim, 1995), debido a la ausencia de cultivares con elevados niveles de resistencia. Se han sugerido prácticas de manejo de la marchitez del Chile causada por *P. capsici* basadas en el comportamiento biológico y ecológico del patógeno (Ristaino y Johnston, 1999). Una de estas prácticas incluye el uso de agentes de biocontrol para reducir las poblaciones del patógeno resistentes a pesticidas y disminuir el número de aplicaciones de estos últimos. Entre los organismos estudiados como agentes de biocontrol contra *P. capsici* se encuentran *Burkholderia cepacia* (Palleroni & Holmes) (Ezziyyani *et al.*, 2004), *Pseudomonas* spp. (Virgen-Calleros *et al.*, 1997), *Glomus intraradices* (Schenk & Smith) (Zheng *et al.*, 2005), *Bacillus* spp. (Guillen-Cruz *et al.*, 2006) y *Trichoderma* spp. (Guigón *et al.*, 2006). Aunque tres especies de bacterias se han evaluado por su eficiencia combinada como agentes de biocontrol contra fitopatógenos asociados a la marchitez del Chile (Guillen-Cruz *et al.*, 2006), es importante considerar la especificidad de los mecanismos de acción e interacción de los microorganismos en combinación (Huang, 1992; Camprubi *et al.*, 1995; Girlanda *et al.*, 2001; Whipps, 2001), con el propósito de hacer un uso eficiente de estos agentes de biocontrol. Previamente hemos reportado la actividad antagonica de un ascomiceto desconocido (AD) cuya identidad aun se desconoce debido a que no forma

confortation. The potato dextrose liquid medium exposed to the growth of *X. poitei* (filtrate) has low activity against the mycelial growth of *P. capsici*. The above results indicate that the antagonistic activity of both ascomycetes against *P. capsici* increases when they grow in combination with respect to the dual confrontations, and suggest that the antagonistic activity of *X. poitei* is stimulated by the presence of the oomycete.

Additional Keywords: *Xylaria poitei*, unknown ascomycete, protection of chilli seedlings.

The pepper crop (*Capsicum annuum* L.) becomes affected by several diseases caused by microorganisms which limit yield and quality product; different control strategies based mainly on synthetic pesticides utilization are applied. Among the main soil inhabiting phytopathogens that attack pepper are the fungi *Rhizoctonia solani* Kühn and the *Fusarium* spp., as well as the oomycete *Phytophthora capsici* (Leonian) (González-Chavira *et al.*, 2002; Vásquez-López *et al.*, 2002; Velásquez-Valle *et al.*, 2001). This latter species is considered the cause of wilt in pepper and the most devastating of those pathogens, capable of infecting virtually any ground or air portion of pepper plants (Ristaino and Johnston, 1999), and even cause serious losses to other vegetables grown around the world (Hausbeck and Lamour, 2004; Lee *et al.*, 2001; Tamietti and Valentino, 2001). Control practices against soil inhabiting phytopathogens attacking pepper are mainly addressed against *P. capsici*, involve the performance of many pesticide application before and after the settlement of the crop on the field (Hwang and Kim, 1995), due to the lack of cultivars with high resistance levels. Management practices for pepper wilt caused by *P. capsici* have been suggested, based on the pathogen biological and ecological behavior (Ristaino and Johnston, 1999). One of these practices involves the use of bio-control agents in order to decrease pesticide resistant pathogen populations and the number of pesticides applications reduced as well. Among the studied organisms as bio-control agents against *P. capsici* are *Burkholderia cepacia* (Palleroni & Holmes) (Ezziyyani *et al.*, 2004), *Pseudomonas* spp. (Virgen-Calleros *et al.*, 1997), *Glomus intraradices* (Schenk & Smith) (Zheng *et al.*, 2005), *Bacillus* spp. (Guillen-Cruz *et al.*, 2006) and *Trichoderma* spp. (Guigón *et al.*, 2006). Although three bacteria species have been evaluated for their combined efficiency as bio-control agents against pathogens associated with pepper wilt (Guillen-Cruz *et al.*, 2006), it is important to consider the specificity of the mechanisms of action and interaction of combined microorganisms (Huang, 1992; Camprubi *et al.*, 1995; Girlanda *et al.*, 2001; Whipps, 2001), in order to make an efficient use of these bio-control agents. The inhibitory activity of a unknown ascomycete (UA) has been previously reported, whose identity remains unknown because it does not form reproductive structures in a culture medium; however, it is still considered an ascomycete because of the relationship of the sequence of the ribosomal internal transcribed spacers (ITS) (Robles-Yerena *et al.*, 2010) with that fungal group. The UA has protected the pepper from death caused by *P. capsici* and inhibits this phytopathogen mycelia

estructuras de reproducción en medio de cultivo; y se considera un ascomiceto debido a la relación de la secuencia de los espaciadores transcritos internos (ITS) ribosomales (Robles-Yerena *et al.*, 2010) con ese grupo de hongos. El AD ha protegido plántulas de Chile de la muerte causada por *P. capsici* e inhibe el crecimiento micelial de este fitopatógeno en confrontaciones duales. El medio de cultivo líquido (filtrado) donde ha crecido el AD muestra actividad antagonista contra el crecimiento micelial de *P. capsici* en medio sólido, y evita el crecimiento de micelio y formación de esporangios cuando el filtrado reemplaza el agua utilizada para la producción de zoosporas del oomiceto en cajas Petri (Robles-Yerena *et al.*, 2010). Durante el 2007 se aisló una cepa de *Xylaria poitei* (Lév.) Fr. a partir de una punta de hifa de colonias desarrolladas de ascosporas de cuerpos fructíferos creciendo en tocón de un árbol no identificado, ubicado en un parque recreativo de la Ciudad de Guadalupe, Nuevo León. El teleomorfo de esta especie de *Xylaria* fue descrito en México previamente por San Martín y Rogers (1989). Tanto *X. poitei* como el AD son de lento crecimiento en el medio de cultivo papa dextrosa agar, mientras que sólo el primero forma cuerpos fructíferos típicos de este género en ese medio de cultivo. Liu *et al.* (2008), han reportado que *Xylaria* sp. (aislado de *Ginkgo biloba* L.), posee un compuesto químico (7-amino-4-metilcumarina) con una amplia actividad antimicrobiana contra bacterias y hongos como *Aspergillus niger* van Tieghem y *Penicillium expansum* Link. Lo anterior sugiere que especies de *Xylaria* podrían tener actividad antagonista por antibiosis contra otros microorganismos, por lo que se consideró posible que la cepa de *X. poitei* aislada de Nuevo León podría tener actividad contra el oomiceto *P. capsici*. En esta investigación se describe la actividad antagonista de *X. poitei* solo y en combinación con el AD, así como la protección de plántulas de Chile por *X. poitei*, contra *P. capsici*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Antagonismo de *X. poitei*.** Se realizó un experimento en confrontación dual entre *X. poitei* y *P. capsici* para determinar si el primero poseía actividad antagonista contra el oomiceto. La cepa de *P. capsici* utilizada fue la PCT-17, la cual proviene de Tacámbaro, Michoacán, y se ha usado en investigaciones previas (Hernández, 2007; Robles-Yerena *et al.*, 2010). Se inoculó un disco de 0.5 cm de una colonia de 15 días de edad de *X. poitei* a cajas Petri conteniendo el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA; Difco), con siete días de anticipación a la inoculación de *P. capsici* debido al crecimiento lento que posee el ascomiceto en este medio de cultivo. Al séptimo día se inoculó un disco de 0.5 cm de *P. capsici* a partir de una colonia de 15 días de edad crecida en PDA, en las placas previamente inoculadas con *X. poitei*. Se establecieron tres repeticiones bajo un diseño experimental completamente al azar y cada 48 horas se midió el crecimiento radial en milímetros de ambos organismos; los testigos consistieron en confrontaciones de *P. capsici* y *X. poitei* consigo mismos y el experimento se dio por concluido cuando en el testigo del fitopatógeno las colonias se pusieron en contacto. Para el análisis estadístico se utilizó el promedio de crecimiento de

growth in dual confrontations. An antagonistic activity against *P. capsici* mycelial growth in a solid medium is revealed by the liquid culture medium (filtrate) in which the UA has grown, having mycelium growth and sporangia formation prevented when the water used is replaced by the filtrate for the oomycete zoospores production medium in Petri dishes (Robles-Yerena *et al.*, 2010). A *Xylaria poitei* strain was isolated in 2007 from a hyphal tip of colonies developing from ascospores obtained from fruiting bodies growing on an unidentified tree stump located in a park from the City of Guadalupe, Nuevo Leon. The teleomorph of this species was previously described in Mexico by San Martín and Rogers (1989). Both *X. poitei* and UA are of slow growth in the potato dextrose agar culture medium, whereas only the first one forms typical fruiting bodies from this genus in such culture medium. It has been reported by Liu *et al.* (2008) that *Xylaria* sp. (isolated from *Ginkgo biloba* L.) has a chemical compound (7-amino-4-methylcoumarin) with a broad antimicrobial activity against bacteria and fungi such as *Aspergillus niger* van Tieghem and *Penicillium expansum* Link. This suggests that species of *Xylaria* may have an antagonistic activity by antibiosis against other microorganisms; therefore, the possibility that an isolated *X. poitei* strain from Nuevo Leon might have activity against *P. capsici* oomycete is taken into consideration. The present study is aimed to provide a description of the antagonistic activity of *X. poitei* alone and in combination with a UA, as well as the protection of pepper seedlings by *X. poitei* against *P. capsici*.

## MATERIALS AND METHODS

**Antagonism of *X. poitei*.** An experiment in dual confrontation was performed between *X. poitei* and *P. capsici* to determine if the first had antagonistic activity against the oomycete. The strain from *P. capsici* used was PCT-17, which is from Tacámbaro, Michoacan, Mexico, and it has been already used in previous studies (Hernández, 2007; Robles-Yerena *et al.*, 2010). A 0.5 cm disc was inoculated from a 15 days *X. poitei* colony to Petri dishes containing potato dextrose agar (PDA; Difco) culture medium seven days prior to *P. capsici* inoculation because of the slow growth that the ascomycete has in this culture medium. A 0.5 cm disc of *P. capsici* was inoculated from a 15 days old colony grown in PDA within the plates previously inoculated with *X. poitei*. Three replications were established under a completely randomized experimental design, having the radial growth from both organisms measured in millimeters every 48 hours; the control designs consisted in having *P. capsici* and *X. poitei* confronting themselves; the experiment was terminated when the colonies in the phytopathogen control made contact. The average growth of the two control design colonies was used for statistical analysis. Also, the growth of *X. poitei* was used in order to determine a possible *P. capsici* antagonistic effect against this ascomycete. Considering that in the previous experiment the control designs consisted on setting up a confrontation between them having the growth measured until the 6<sup>th</sup> day, a new experiment was performed using *P. capsici* inoculation as a control only in one end of the Petri

las dos colonias del testigo. También se midió el crecimiento de *Xylaria poitei* para determinar un posible efecto antagonico de *P. capsici* contra este ascomiceto. Considerando que en el experimento anterior los testigos consistieron en confrontaciones consigo mismos y el crecimiento se midió hasta el sexto día, se realizó un nuevo experimento utilizando como testigo la inoculación de *P. capsici* en un sólo extremo de la caja Petri. *Xylaria poitei* se inoculó con ocho días de anticipación a placas conteniendo PDA a partir de colonias de 21 días de edad crecidas en PDA. Los tratamientos se establecieron bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y se mantuvieron en laboratorio a 25 °C. Se midió el crecimiento radial de *P. capsici* cada 48 horas por 12 días.

**Antagonismo entre ascomicetos.** Se realizó una confrontación dual entre *X. poitei* y el AD para determinar si existía antagonismo entre ellos y establecer su posible compatibilidad como potenciales agentes de biocontrol. *Xylaria poitei* se inoculó a cajas Petri conteniendo PDA con tres días de anticipación al establecimiento de las confrontaciones con el AD. Los testigos consistieron en la inoculación de cada ascomiceto individualmente en un extremo de cajas Petri. El experimento se estableció con cuatro repeticiones bajo un diseño completamente al azar y se mantuvieron en laboratorio a 25 °C. Se realizaron seis mediciones del crecimiento radial de cada ascomiceto en 14 días.

**Combinación de antagonistas.** Se estableció un experimento con el propósito de determinar si la actividad antagonica de *X. poitei*, junto con la del AD, es igual o mayor de la que causa cada uno por si solo sobre *P. capsici*. Cajas Petri se marcaron por el lado inferior en cada ángulo de un triangulo equilátero y en cada marca se inoculó *X. poitei*, el AD o *P. capsici*. Los tratamientos consistieron en confrontaciones duales de cada antagonista contra *P. capsici*, de ambos ascomicetos contra el oomiceto, y de este último solo. Se inocularon cajas Petri conteniendo PDA con *X. poitei* o en combinación con el AD, y a los tres días las placas se inocularon con *P. capsici*. Los tratamientos se establecieron bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones, y se mantuvieron en laboratorio a 25 °C. Cada 24 horas (durante 11 días) se midió el crecimiento de *P. capsici* en dirección de las colonias de cada antagonista.

**Filtrado de *X. poitei*.** Debido a la actividad antagonica mostrada por *X. poitei* en los experimentos anteriores, se evaluó la capacidad del hongo de producir algún factor en medio de cultivo líquido capaz de mantener esa actividad contra *P. capsici*, como previamente fue reportado por Robles-Yerena *et al.* (2010) para el ascomiceto desconocido. El hongo *X. poitei* creció en matraces conteniendo 150 mL de caldo de dextrosa y papa, a 175 rpm por 30 días. El medio líquido se filtró a través de 4 capas de tela para limpieza y finalmente a través de filtros de 0.2 µm. El filtrado se agregó a PDA esterilizado conteniendo doble cantidad de ingrediente para obtener una concentración final de filtrado al 50%. El medio se vertió a cajas Petri y una vez solidificado se inoculó en el centro con un disco de 0.5 cm de diámetro de una colonia de *P. capsici* de ocho días de edad crecida en PDA. Como

dish. The inoculation of *Xylaria poitei* was performed eight days prior to the beginning of confrontation from plates containing 21 days old colonies grown in PDA. The treatments were established under a completely randomized design with four replications and kept in the laboratory at 25°C. The *P. capsici* radial growth was measured every 48 hours for 12 days.

**Antagonism among ascomycetes.** A dual confrontation between *X. poitei* and the UA was performed looking forward to determine if there was any antagonism between them and have their possible compatibility as bio-control agents established. The inoculation of *Xylaria poitei* was performed three days prior to the settlement of the confrontations with the UA grown in Petri dishes containing PDA. The control designs consisted on each ascomycete inoculated individually at one end of the Petri dish. The experiment was established with four replications in a completely randomized design and kept in the laboratory at 25 °C. A total of six measurements of the radial growth of each ascomycete were performed in 14 days.

**Combination of antagonists.** An experiment was performed aiming to determine whether *X. poitei* antagonistic activity, along with the UA antagonistic activity, is equal to or greater than the activity caused on *P. capsici* by each one alone. The Petri dishes were marked on the underside in each corner of an equilateral triangle, having *X. poitei*, UA or *P. capsici* inoculated on each mark. The treatments consisted on dual confrontations of each antagonist against *P. capsici*, both ascomycetes against the oomycete and this latter alone. The Petri dishes containing PDA were inoculated previously with *X. poitei* combined with the UA, and after three days with *P. capsici*. The treatments were established under a completely randomized design with four replications and kept in a laboratory at 25 °C. The *P. capsici* growth was measured every 24 hours (for 11 days) towards each antagonist colonies.

**Filtrate from *X. poitei*.** Due to the antagonistic activity revealed by *X. poitei* in previous experiments, the fungus ability to produce some factor in liquid culture medium capable to keep such activity against *P. capsici* was evaluated, as previously reported by Robles-Yerena *et al.* (2010) for the UA. The *X. poitei* fungus grew in flasks containing 150 ml of a dextrose and potato broth, at 175 rpm for 30 days. The liquid medium was filtered through four layers of cleaning cloth and finally through 0.2 µm filters. The filtrate was added to sterile PDA containing half of the amount of water normally used to dissolve the ingredients, obtaining a final filtrate concentration of 50 %. The medium was poured in Petri dishes and once solidified, it was inoculated in the center with a disk of 0.5 cm diameter from an eight days old *P. capsici* colony grown in PDA. A PDA normally elaborated (3.9 g of medium in 100 mL of water) was used as control and it was similarly inoculated with *P. capsici*. Both treatments were established under a completely randomized design with four replications, having the plates kept in a laboratory at 25°C. The radial growth was measured every 24 hours for 6 days and, in a final evaluation, for 11 days.

**Protection of pepper seedlings.** Guajillo pepper seeds were treated with sodium hypochlorite at 1 % for one minute,

testigo se utilizó PDA elaborado normalmente (3.9 g de medio en 100 mL de agua) y fue inoculado de igual manera con *P. capsici*. Ambos tratamientos se establecieron bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones, y las placas se mantuvieron en laboratorio a 25°C. El crecimiento radial fue medido cada 24 horas durante 6 días y una evaluación final a los 11 días.

**Protección de plántulas de Chile.** Se trataron semillas de Chile guajillo con hipoclorito de sodio al 1 % por un minuto, se lavaron con agua destilada estéril y se secaron en papel estéril. Las semillas se colocaron en grupos de 20 en placas conteniendo agar agua (AA; 2.0 %), a 25 °C y fotoperiodo de 12 h luz. Cada 24 h y durante cuatro días, las semillas con crecimiento de microorganismos se mantuvieron en las placas y fueron desechadas, mientras que las semillas aparentemente libres de microorganismos se transfirieron a nuevas placas conteniendo AA y ahí se conservaron para los experimentos. Al cuarto día, grupos de tres semillas libres de microorganismos se transfirieron a nuevas placas que fueron colocadas en forma inclinada sostenidas en fragmentos de unicel, y se mantuvieron a la misma temperatura y fotoperiodo. Semillas germinadas y con raíz (nueve días después de la siembra), se inocularon en el cuello con un fragmento de aproximadamente 2 mm<sup>2</sup> de colonia de *X. poitei* de 14 días de crecimiento en PDA. Tres días después, las plántulas se inocularon con un fragmento de colonia de *P. capsici* de 10 días de edad, en el lado opuesto del cuello donde se inoculó *X. poitei*. Como testigos se utilizaron plántulas inoculadas con el patógeno y con *X. poitei* individualmente, y plántulas sin inocular. Se establecieron cuatro repeticiones de tres plántulas cada una bajo un diseño completamente al azar. Las plántulas de Chile inoculadas con *X. poitei* con tres días de anterioridad, no mostraron ningún daño aparente, y el hongo ya mostraba crecimiento a partir del fragmento inoculado al momento de inocular *P. capsici*. Los tratamientos se evaluaron a los 12 días después de la inoculación de *P. capsici*, utilizando una escala con valores del 1 al 5 donde el 1= Sin síntomas visibles; 2= del 1 al 10% de la raíz podrida; 3= Del 11 al 25 % de la raíz podrida; 4= Del 26 al 50 % de la raíz podrida; 5= Más del 50 % de la raíz podrida o planta muerta (Robles-Yerena *et al.*, 2010). Los porcentajes de daño en raíces se obtuvieron visualmente y según el daño se asignó el valor escalar correspondiente. Adicionalmente, se obtuvo el porcentaje de plantas muertas para cada tratamiento.

**Análisis de resultados.** Los datos de crecimiento radial de los microorganismos se sometieron a un análisis de varianza completamente al azar, y se realizaron comparaciones de medias (DMS) cuando fue necesario. Los porcentajes de inhibición de los microorganismos fueron obtenidos con base a la fórmula de Vincent (1947): % de inhibición = (crecimiento radial de la colonia testigo - crecimiento radial de la colonia con tratamiento/crecimiento radial de la colonia testigo) X 100.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Antagonismo de *X. poitei*.** Al final de ambos experimentos donde se establecieron confrontaciones duales, *X. poitei* fue capaz de inhibir el crecimiento micelial de *P. capsici* en un

washed with sterile distilled water and dried on sterile paper. The seeds were set in groups of 20 in plates containing agar water (AA; 2.0 %), at 25 °C and a photoperiod of 12 h light. Every 24 h for four days, the seeds with growth of microorganisms remained on the plates and they were rejected, whereas seeds apparently free of microorganisms were transferred to new plates containing AA and they were retained for experiments there. On the fourth day, groups of three germ-free seeds were transferred to new plates. These were held inclined to pieces of Styrofoam and kept at the same temperature and photoperiod. Germinated seeds with root (nine days after sowing) were inoculated in the neck with a fragment of approximately 2 mm<sup>2</sup> of an *X. poitei* colony of a 14 days old colony of *X. poitei* growth in PDA. Seedlings were inoculated three days later with a fragment from a 10 days old colony of *P. capsici* colony on the opposite side of the neck, where *X. poitei* had been previously inoculated. Seedlings individually inoculated with the pathogen and with *X. poitei* were used as controls, as well as seedlings without inoculation. Four replicates of three seedlings, each under a completely randomized design, were established. No apparent damage was revealed in the pepper seedlings inoculated with *X. poitei* three days earlier; although, a growth had already been revealed by the fungus from the inoculated fragment when inoculating *P. capsici*. The treatments were evaluated 12 days after *P. capsici* inoculation using a scale with values from 1 to 5 where 1 = no visible symptoms, 2 = 1 to 10% root rot, 3 = From 11 to 25% of root rot, 4 = 26 to 50% rotten root, 5 = More than 50% of the root rot or dead plant (Robles-Yerena *et al.*, 2010). The damage percentages in roots were obtained visually and the corresponding scalar value was assigned in accordance to the damage. Additionally, the percentage of dead plants for each treatment was obtained.

**Analysis of results.** The radial growth of the microorganisms was subjected to a fully random variance analysis and medium comparisons (MDS) were performed when necessary. The inhibition percentages of the microorganisms were obtained based on the Vincent (1947) formula: Inhibition % = (radial growth of the colony with treatment / radial growth of the control colony) X 100.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Antagonism of *X. poitei*.** The *X. poitei* fungus was able to inhibit *P. capsici* mycelial growth in a 39.8 and 49.6 % at the end of both experiments where dual confrontations were established (Table 1 and 2) compared to controls using the oomycete against himself or alone (Figure 1), respectively. Nevertheless, the inhibition percentage was different between both experiments after six days of having established the confrontations. Differences were revealed ( $p < 0.01$ ) by *P. capsici* mycelia growth in the two last evaluations performed for both experiments. These results suggest that the inhibition of *P. capsici* mycelial growth by *X. poitei* is because of a factor (probably a secondary metabolite, some protein, etc) that permeates itself in the culture medium where the confrontations were settled, as it has been observed with other antagonists, such as

39.8 y 49.6% (Cuadro 1 y 2) cuando se utilizó como testigo el oomiceto confrontado consigo mismo o solo (Figura 1), respectivamente. Sin embargo, el porcentaje de la inhibición fue contrastante entre ambos experimentos a los seis días de establecidas las confrontaciones. Se encontraron diferencias ( $p < 0.01$ ) para el crecimiento micelial de *P. capsici* en las dos últimas evaluaciones en ambos experimentos.

Cuadro 1. Crecimiento promedio (mm) e inhibición micelial (%) de *Phytophthora capsici* en confrontación dual con *Xylaria poitei* usando como testigos la confrontación de cada uno consigo mismo, en tres tiempos de evaluación.

Table 1. Average growth (mm) and mycelia inhibition (%) of *Phytophthora capsici* in dual confrontation against *Xylaria poitei* using the confrontation of each one of them with themselves as controls in three evaluation periods.

Tratamiento	Día					
	2		4		6	
	mm <sup>x</sup>	%	mm	%	mm	%
<i>P. capsici</i>	4.33 <sup>y</sup>		10.17a		15.5a	
<i>P. capsici</i> +	1.67a	61.4	5.83b	42.96	9.33b	39.8
<i>X. poitei</i>	12.0a	-2.83	15.17a	1.04	18.67a	0.0
<i>X. Poitei</i>	11.67a		15.33a		18.67a	

<sup>x</sup>Se compara el crecimiento micelial de cada microorganismo consigo mismo entre tratamientos.

<sup>y</sup>Promedios de crecimiento (mm) del mismo microorganismo entre tratamientos seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente. Se encontró diferencias los días 4 y 6 ( $p < 0.01$ ) para *P. capsici*.

últimas evaluaciones en ambos experimentos. Estos resultados sugieren que la inhibición del crecimiento micelial de *P. capsici* por *X. poitei* es debida a un factor (posiblemente un metabolito secundario, alguna proteína, etc.) que se difunde en el medio de cultivo donde se establecieron las confrontaciones, como se ha observado con otros antagonistas como *Burkholderia cepacia* (Ezziymani *et al.*, 2004) y un ascomiceto desconocido (Robles-Yerena *et al.*, 2010) contra este oomicete.

Cuadro 2. Crecimiento promedio (mm) e inhibición micelial (%) de *Phytophthora capsici* en confrontación dual con *Xylaria poitei*, usando como control la inoculación del oomiceto en un extremo de cajas Petri, en seis tiempos de evaluación.

Table 2. Average growth (mm) and mycelia inhibition (%) of *Phytophthora capsici* in dual confrontation against *Xylaria poitei*, using the oomycete inoculation as control at an end of a Petri dish in six evaluation periods.

Tratamiento	Día											
	2		4		6		8		10		12	
	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
<i>P. capsici</i>	10.0a <sup>x</sup>	-	18.0a	-	24.0a	-	29.0a	-	36.0a	-	55.0a	-
<i>P. capsici</i> + <i>X. poitei</i>	9.0a	10.0	17.0a	5.5	22.0a	8.3	25.0a	13.8	27.0b	25.0	27.7b	49.6

<sup>x</sup>Promedios de crecimiento (mm) entre tratamientos seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente. Se encontró diferencias a los 10 y 12 días ( $p < 0.01$ )

*Burkholderia cepacia* (Ezziymani *et al.*, 2004) and an UA (Robles-Yerena *et al.*, 2010) against this oomycete. Several metabolites produced by microorganisms have revealed an antagonistic activity against *P. capsici* (Okamoto *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2003; Paul and Sarma, 2006). It has been reported that *Xylaria* sp. has an antagonistic activity against other ascomycetes (*Aspergillus niger* and *Penicillium expansum*) and bacteria due to the production of 7-amino-4 methylcoumarin (Liu *et al.*, 2008); although, the activity of the genus *Xylaria* against *P. capsici* is still unknown in previous studies and, consequently, if the metabolite described by Liu *et al.* (2008) is responsible for the inhibitory activity observed by the strain of *X. poitei* used in the study hereby. An open possibility for further identification of the one or several chemical compounds produced by the *Xylaria* species, responsible of the observed inhibition, is provided by these results as well as the possibility of being able to determine if 7-amino-4 methylcoumarin has an activity against *P. capsici*. Due to lack of identity of the *Xylaria* species reported by Liu *et al.* (2008), it is possible that different chemical factors with an antagonistic activity could actually be produced being dependant of the specific interactions among genus *Xylaria* species with various microorganisms. It is demonstrated by the present study that at least one species with antagonistic activity against *P. capsici* is contained by the genus *Xylaria*. The mycelia growth of *X. poitei* was maintained with little effect by the presence of *P. capsici* in one of the evaluations performed during the dual confrontations between both of them in the first experiment (Table 1); therefore, no growth of *X. poitei* was registered in the second experiment where the oomycete was placed only as a control at the end of the Petri dishes. Concerning the confrontation between *X. poitei* with the UA, each one stimulated each other's growth in most of the evaluations, having only statistical differences revealed in *X. poitei*, between the control and the confrontation against the UA at 5 ( $p < 0.05$ ) and 8 days ( $p < 0.01$ ) (Table 3). It is suggested by these results that *X. poitei* antagonistic activity on *P. capsici* is not affected by this oomycete, and that both *X. poitei* and the UA can coexist together without a sharp deterioration in the growth of one over the other. This may allow both ascomycetes to be used in combination against pepper wilt caused by *P. capsici*, once in greenhouse and field experiments had been performed, looking forward to prove

Diversos metabolitos producidos por microorganismos han mostrado actividad antagonica contra *P. capsici* (Okamoto *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2003; Paul y Sarma, 2006). Se ha reportado que *Xylaria* sp. tiene actividad antagonica contra otros ascomicetos (*Aspergillus niger* y *Penicillium expansum*) y bacterias debido a la producción de 7-amino-4-metilcumarina (Liu *et al.*, 2008); sin embargo se desconoce en estudios previos la actividad de especies del género *Xylaria* contra *P. capsici*, y por lo tanto si el metabolito descrito por Liu *et al.* (2008) es el responsable de la actividad antagonica observada por la cepa de *X. poitei* usada en esta investigación.

their potential as bio-control agents.

**Antagonism of both ascomycetes against *P. capsici*.** The experiment established to determine the effect of *X. poitei* and the UA alone and in combination against *P. capsici* was finished 11 days after oomycete inoculation, due to the fact that its colony came in contact with an ascomycete in at least one replication (Figure 2A); however, the plates of the experiment were kept for three more days to observe the colonies behavior of the confronted organisms (Figure 2B). Statistical differences among treatments were revealed on the first ( $p < 0.05$ ) and from the fourth to the eleventh ( $p < 0.01$ )

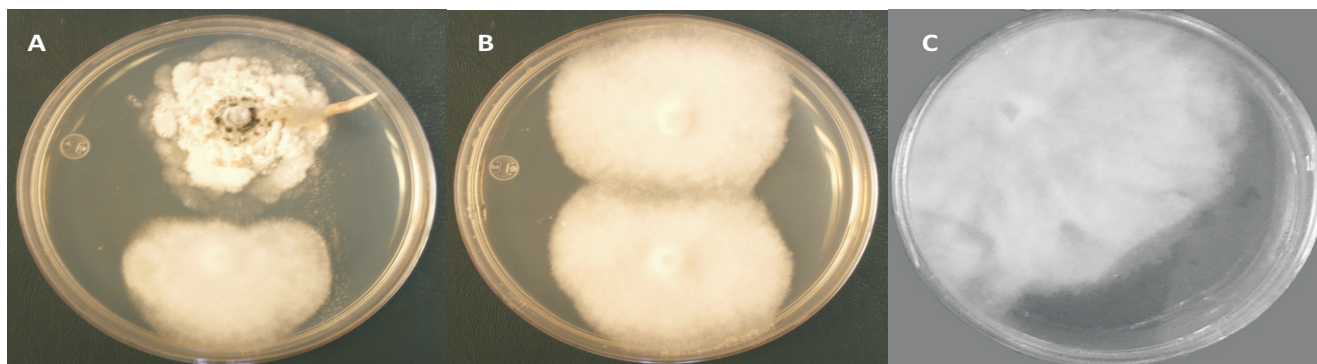


Figura 1. Confrontación dual entre *Phytophthora capsici* y *Xylaria poitei* (A) usando como testigo la confrontación del fitopatógeno contra si mismo (B) o solo (C). *X. poitei* se inoculó con siete días de anticipación a *P. capsici* en la confrontación dual. A y B a los seis días de la inoculación de *P. capsici*, y C a los 12 días.

Figure 1. Dual confrontation between *Phytophthora capsici* and *Xylaria poitei* (A) using as control the phytopathogen confrontation against itself (B) or alone (C) *X. poitei* became inoculated with seven days prior to *P. capsici* in the dual confrontation. A and B six days after *P. capsici* inoculation, and C after 12 days.

Estos resultados dejan abierta la posibilidad de identificar posteriormente el o los compuestos químicos producidos por esta especie de *Xylaria*, responsables de la inhibición observada, y determinar si 7-amino-4-metilcumarina tiene actividad contra *P. capsici*. Debido al desconocimiento de la identidad de la especie de *Xylaria* reportada por Liu *et al.* (2008), es posible que distintos factores químicos con actividad antagonica sean producidos y dependientes de las interacciones específicas entre especies del género *Xylaria* con diversos microorganismos. Este trabajo demuestra que el género *Xylaria* contiene al menos una especie con actividad antagonica contra *P. capsici*. El crecimiento micelial de *X. poitei* se mantuvo con un escaso efecto por la presencia de *P. capsici* en alguna de las evaluaciones realizadas durante las confrontaciones duales entre ambos en el primer experimento (Cuadro 1), por lo que no se registró el crecimiento de *X. poitei* en el segundo experimento donde el oomiceto se colocó solo como testigo en el extremo de cajas Petri. En la confrontación de *X. poitei* con el AD, cada uno estimuló el crecimiento del otro en la mayoría de las evaluaciones, y sólo se encontró diferencias en *X. poitei*, entre el testigo y la confrontación con el AD a los 5 ( $p < 0.05$ ) y 8 días ( $p < 0.01$ ) (Cuadro 3). Estos resultados sugieren que la actividad antagonica de *X. poitei* sobre *P. capsici* no es afectada por este oomiceto, y que tanto *X. poitei* como el AD pueden coexistir juntos sin un fuerte deterioro del crecimiento de uno sobre el otro.

day; data not shown (Table 4). A slight reduction of the oomycete mycelia growth with regards to the dual confrontation against the phytopathogen (Figure 4) was revealed by both ascomycetes combination in triple trials with *P. capsici*; nevertheless, its growth became strongly inhibited even by the fourteenth day (Figure 2B). This indicates that the combined growth of both ascomycetes does not limit the ability of one over the other to inhibit *P. capsici* growth. Previously, inhibition percentages ranging from 53 to 73 % have been observed in dual confrontations between the UA and *P. capsici*, higher than what was observed in the study hereby and it has been confirmed that a factor in the culture medium where it grows alone (filtrate) is produced by the UA, capable to continue inhibiting the oomycete mycelial growth (Robles-Yerena *et al.*, 2010). Considering that *P. capsici* mycelia growth became inhibited by *X. poitei* in dual confrontations and in combination with the UA, the production capacity of a factor created in a liquid medium exposed to the growth of this ascomycete was evaluated. A low antagonistic activity over *P. capsici* mycelial growth was revealed by the results with the *X. poitei* filtrate, but with no statistical differences among treatments (Table 4). This suggests that *X. poitei* inhibitory activity on the phytopathogen mycelial is stimulated by its presence. This could be considered as an *X. poitei* active response to the presence of another microorganism, as it has been pointed out

Cuadro 3. Crecimiento promedio (mm) e inhibición micelial (%) entre el ascomiceto desconocido (AD) y *Xylaria poitei*, en cinco tiempos de evaluación.

Table 3. Average growth (mm) and mycelia inhibition (%) between the unknown ascomycete (UA) and *Xylaria poitei*, in five evaluation periods.

Tratamiento	Día											
	1		5		8		10		12		14	
	mm <sup>x</sup>	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
AD	2.7a <sup>y</sup>	-	9.7a	-	13.5a	-	16.5a	-	18.2a	-	24.0a	-
AD + <i>X. poitei</i>	2.7a	0.0	11.5a	-18.5	13.5a	0.0	19.2a	-16.4	20.5a	-12.6	23.2a	3.3
<i>X. poitei</i>	1.2a	-20.0	9.5b	-26.7	10.5b	26.0	18.0a	-20.0	20.2a	-26.2	25.5a	-10.9
<i>X. poitei</i>	1.0a	-	7.5a	-	14.2a	-	15.0a	-	16.0a	-	23.0a	-

<sup>x</sup>Se compara el crecimiento micelial de cada microorganismo consigo mismo entre tratamientos.

<sup>y</sup>Promedios de crecimiento (mm) del mismo microorganismo entre tratamientos seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente. Se encontraron diferencias el día cinco ( $p < 0.05$ ) y día 8 ( $p < 0.01$ ) para *X. poitei*.

Lo anterior puede permitir que ambos ascomicetos pudieran ser utilizados de manera combinada contra la marchitez del chile causada por *P. capsici*, una vez realizados experimentos en invernadero y campo que muestren su potencial como agentes de biocontrol.

**Antagonismo de ambos ascomicetos contra *P. capsici*.** El experimento establecido para determinar el efecto de *X. poitei* y el AD solos y en combinación contra *P. capsici*, se concluyó a los 11 días de la inoculación del oomiceto debido a que la colonia de éste entró en contacto con alguno de los ascomicetos en al menos alguna repetición (Figura 2A); sin embargo, las placas del experimento fueron conservadas tres días más para observar el comportamiento de las colonias de los organismos confrontados (Figura 2B). Se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos al primer ( $p < 0.05$ ) y del cuarto al onceavo ( $p < 0.01$ ) días, datos no mostrados.

by Heilmann-Clausen and Boddy (2005), indicating that the ascomycete will produce an antibiotic when it perceives the presence of *P. capsici*.

**Protection of seedlings by *X. poitei*.** The *X. poitei* inoculation in the neck of pepper seedlings caused no apparent damage to the seedlings neither at the moment of *P. capsici* inoculation, nor 12 days after *P. capsici* inoculation. This indicates that the protocol of seedlings inoculation *in vitro* used in the study hereby and previously reported by Robles-Yerena *et al.* (2010) is efficient for the selection of potential bio-control agents against pepper wilt and other root pathogens. Nearly a 58.0 % survival in inoculated seedlings with the oomycete was allowed by the early inoculation of *X. poitei* in pepper seedlings, whereas in the control seedlings inoculated only with a *P. capsici*, a 100 % death was revealed (Figure 3; Table 5). Thus, it is indicated that this ascomycete is apparently harmless to the pepper plant and is capable of protecting it

Cuadro 4. Crecimiento radial (cm) e inhibición micelial (%) de *Phytophthora capsici* por filtrado de *Xylaria poitei* al 50%.

Table 4. Radial growth (cm) and mycelia inhibition (%) of *Phytophthora capsici* by filtering of *Xylaria poitei* at 50%.

Tratamiento	Días													
	1		2		3		4		5		6		11	
	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
PDA	9a <sup>x</sup>	-	12.7a	-	15.5a	-	20.7a	-	26.0a	-	28.7a	-	34.2a	-
PDA+filtrado	6.7a	22.2	10.7a	15.4	13.5a	13.3	18.2a	14.3	22.5a	15.4	26.2a	10.3	30.7a	8.8

<sup>x</sup>Promedios de crecimiento (mm) entre tratamientos seguidos de la misma letra, no difieren estadísticamente ( $p < 0.05$ ).

La combinación de ambos ascomicetos en ensayos triples con *P. capsici* redujeron ligeramente el crecimiento micelial del oomicete respecto a la confrontación dual contra el fitopatógeno (Figura 4), sin embargo, su crecimiento fue inhibido fuertemente aun al catorceavo día (Figura 2B). Lo anterior indica que el crecimiento combinado de ambos

from the damage caused by *P. capsici* in the course of the experiment. There is field information of pepper plants survival protected by the potential bio-control agents; however, there is still a lack of information concerning *in vitro* trials. It has been previously reported that a septate fungus, which has been referred in this study as unknown ascomycete



ascomicetos no limita la capacidad de uno sobre el otro para inhibir el crecimiento de *P. capsici*. Previamente se han observado porcentajes de inhibición del 53 al 73% en confrontaciones duales entre el AD y *P. capsici*, mayores al observado en esta investigación, y se ha demostrado que el AD produce un factor en el medio de cultivo donde crece solo (filtrado), capaz de continuar inhibiendo el crecimiento micelial del oomicete (Robles-Yerena *et al.*, 2010). Considerando que *X. poitei* inhibió el crecimiento micelial de *P. capsici* en confrontaciones duales y en combinación con el AD, se evaluó la capacidad de producción de algún factor producido en medio líquido expuesto al crecimiento de este ascomiceto que pudiera explicar la inhibición observada.

(UA) has revealed similar protective effects against *P. capsici* (Robles-Yerena *et al.*, 2010).

## CONCLUSIONS

*Xylaria poitei* is capable to inhibit *P. capsici* oomycete mycelia growth, as well as to reduce seedlings mortality caused by this phytopathogen. This is probably due to a factor released in the culture medium that is induced by the presence of the oomycete when both are confronted. The co-inoculation of *X. poitei* and the UA slightly increases the growth inhibition of *P. capsici*, and no clear inhibition activity exists between both ascomicetes.

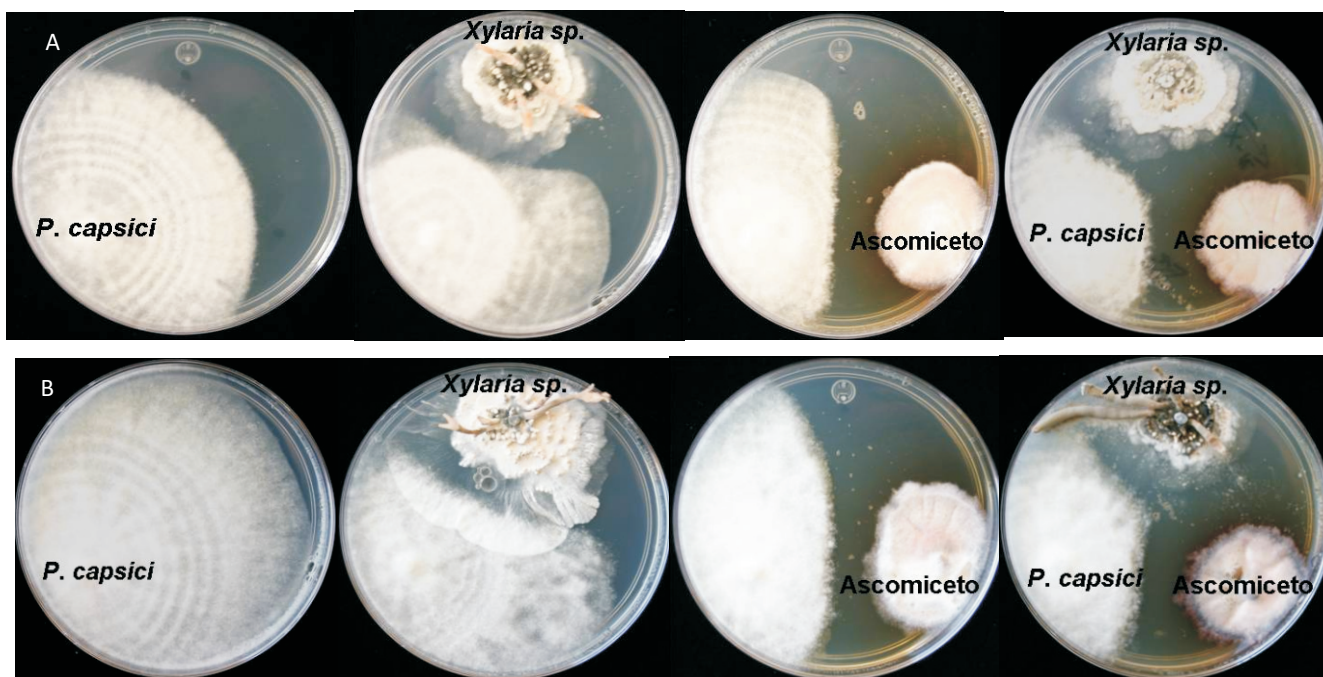


Figura 2. Antagonismo del ascomiceto desconocido y *Xylaria poitei*, solos y en combinación, contra *Phytophthora capsici* a los 11 (A) y 14 (B) días de inoculación del oomiceto. Las confrontaciones se realizaron en placas marcadas, por la parte inferior externa, en los ángulos de un triángulo equilátero; placas de izquierda a derecha: en un ángulo se inoculó *Phytophthora capsici* solo (testigo, primera columna de placas), o en combinación con *X. poitei* (segunda columna de placas), el ascomiceto desconocido (tercera columna de placas), o ambos (cuarta columna de placas).

Figure 2. Antagonism of the UA and *Xylaria poitei*, alone and combined, against *Phytophthora capsici* after 11 (A) and 14 (B) days of the oomycete inoculation. The confrontations took place in plates marked on the outer bottom in the corners of an equilateral triangle; plates from left to right: *Phytophthora capsici* was inoculated alone at an angle (control, first column of plates), or in combination with *X. poitei* (second column of plates), the UA (third column of plates), or both (fourth column of plates).

Los resultados con el filtrado de *X. poitei* mostraron baja actividad antagónica sobre el crecimiento micelial de *P. capsici*, aunque sin diferencias estadísticas entre tratamientos (Cuadro 4). Esto sugiere que la actividad inhibitoria de *X. poitei* sobre el micelio del fitopatógeno es estimulada por la presencia de este último. Lo anterior puede considerarse como una respuesta activa de *X. poitei* a la presencia de otro microorganismo, como ha sido señalado por Heilmann-

## LITERATURA CITADA

- Camprubi, A., Calvet, C. and Estaun, V. 1995. Growth enhancement of *Citrus reshni* after inoculation with *Glomus intraradices* and *Trichoderma aureoviride* and associated effects on microbial populations and enzyme activity in potting mixes. *Plant and Soil* 173: 233-238.
- Ezziyyani, M., Pérez S., C., Requena, M.E., Sid, A.A. y Candela, M.E. 2004. Evaluación del biocontrol de

Clausen y Boddy (2005), lo cual indica que el ascomiceto produciría algún antibiótico al percibir la presencia de *P. capsici*.

**Protección de plántulas por *X. poitei*.** La inoculación de *X. poitei* en el cuello de plántulas de chile no causó ningún daño aparente a las plántulas al momento de la inoculación de *P. capsici*, ni a los 12 días después de la inoculación de *P. capsici*. Lo anterior indica que el protocolo de inoculación de plántulas *in vitro* utilizado en esta investigación y previamente reportado por Robles-Yerena *et al.* (2010), es eficiente para la selección de potenciales agentes de biocontrol contra la marchitez del chile y otros patógenos de la raíz. La inoculación anticipada de *X. poitei* en plántulas de chile permitió una sobrevivencia cercana al 58.0 % en plántulas inoculadas con el oomiceto; mientras que en las plántulas del testigo inoculadas sólo con *P. capsici* se observó la muerte del 100 % (Figura 3; Cuadro 5). Lo anterior demuestra que este ascomiceto aparentemente es inocuo hacia la planta de chile y que es capaz de protegerla del daño causado por *P. capsici* en el tiempo que duró el experimento.



Figura 3. Reacción de plántulas de chile sin inocular (A), inoculadas con *Xylaria poitei* (B), *Phytophthora capsici* (C) y con ambos (D). *X. poitei* se inoculó al cuello de las plántulas tres días antes de inocular *P. capsici* en el cuello de las plántulas.

Figure 3. Reaction of uninoculated pepper seedlings (A), inoculated with *Xylaria poitei* (B), *Phytophthora capsici* (C) and with both of them (D). *X. poitei* became inoculated to the neck of the seedlings three days before *P. capsici* inoculation in the neck of the seedlings.

Cuadro 5. Daño en raíces y sobrevivencia (%) de plántulas de chile por *Phytophthora capsici* y *Xylaria poitei* solos y en combinación.

Table 5. Damage in roots and survival (%) of pepper seedlings for *Phytophthora capsici* and *Xylaria poitei* alone and combined.

Tratamiento	Daño en raíces*	Sobrevivencia
Testigo	1.0	100.0
<i>X. Poitei</i>	1.0	100.0
<i>P. capsici</i>	5.0	0.0
<i>X. poitei</i> + <i>P. capsici</i>	2.6	58.3

\* La escala utilizada consta de los valores 1 al 5 donde 1= sin síntomas visibles; 2= 1 al 10% de la raíz podrida; 3= 11 al 25 % de la raíz podrida; 4= 26 al 50 % de la raíz podrida; 5= más del 50 % de la raíz podrida o planta muerta.

Existe información de campo acerca de la sobrevivencia de plantas de chile protegidas con potenciales agentes de biocontrol, sin embargo, poco se conoce de ensayos *in vitro*.

*Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. Anales de Biología 26:61-68.

Girlanda, M., Perotto, S., Moenne-Loccoz, Y., Bergero, R., Lazzari, A., Defago, G., Bonafente, P. and Luppi, A.M. 2001. Impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens* CHAO and a genetically modified derivative on the diversity of culturable fungi in the cucumber rhizosphere. Applied and Environmental Microbiology 67:1851-1864.

González-Chavira, M.M., Torres-Pacheco, I. y Guzmán M., H. 2002. Patógenos involucrados en la marchitez del chile. Proceedings of the 16th International Pepper Conference, Tampico, Tamaulipas, México.

Guigón L., C., Macías L., B.C., Avila Q., G., Lujan F., M., Quiñones P., F.J., Chavez S., N., Berzoza M., M. y Acosta R., G.F. 2006. Validación y transferencia del uso de *Trichoderma* sp. en el cultivo del chile en la región de Delicias, Chih. Tercera Convención Mundial de Chile. Chihuahua y Delicias, Chihuahua, México. pp:173-178.

Guillén-Cruz, R., Hernández-Castillo, F.D., Gallegos-Morales, G., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar-González, C.N., Padrón-Corral, E. y Reyes-Valdés, M.H., 2006. *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 24:105-114.

Hausbeck, M.K. and Lamour, K.H. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. Plant Disease 88:1292-1303.

Heilmann-Clausen, J. and Boddy, L. 2005. Inhibition and stimulation effects in communities of wood decay fungi: Exudates from colonised wood influence growth by other species. Microbial Ecology 49:399-406.

Hernández-González, M.E. 2007. Variabilidad de aislados de *Phytophthora capsici* en el estado de Guanajuato. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya, Guanajuato. 100 p.

Huang, H.C. 1992. Ecological basis of biological control of soil borne plant pathogens. Canadian Journal of Plant Pathology 14:86-91.

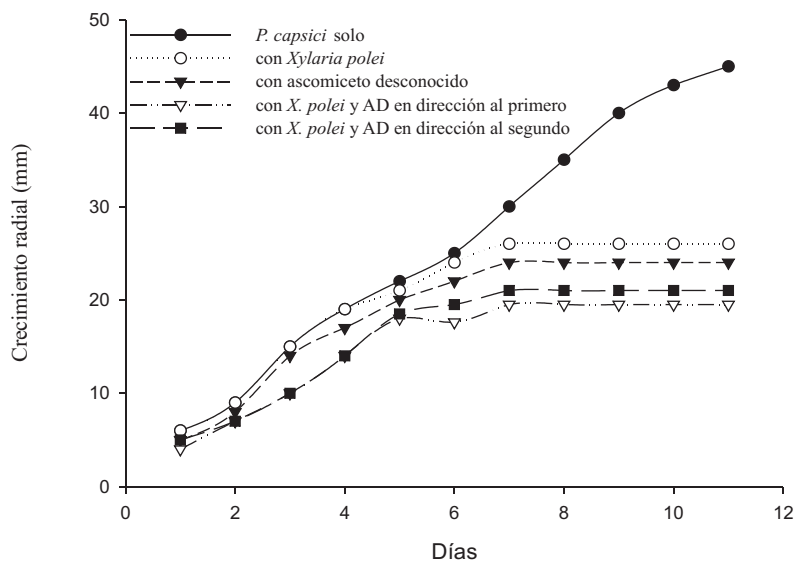


Figura 4. Crecimiento radial de *Phytophthora capsici* solo, confrontado con *Xylaria poitei*, con el ascomiceto desconocido, con *Xylaria poitei* y el ascomiceto desconocido en dirección del primero y con *Xylaria poitei* y el ascomiceto desconocido en dirección del segundo. Ambos ascomicetos fueron inoculados con tres días de anticipación a la inoculación de *P. capsici*.

Figure 4. Radial growth of *Phytophthora capsici* alone, confronted with *Xylaria poitei*, with the unknown ascomycete, with *Xylaria poitei* and the unknown ascomycete towards the first and with *Xylaria poitei* and the unknown ascomycete towards the second. Both ascomycetes were inoculated with three days prior to *P. capsici*.

Previamente hemos reportado que un hongo septado (referido en esta investigación como ascomiceto desconocido) ha mostrado efectos similares de protección contra *P. capsici* (Robles-Yerena *et al.*, 2010).

## CONCLUSIONES

*Xylaria poitei* es capaz de inhibir el crecimiento micelial del oomiceto *P. capsici* y reduce la mortandad de plántulas causada por este fitopatógeno. Esto posiblemente se debe a un factor liberado en el medio de cultivo que es inducido por la presencia del oomiceto cuando ambos son confrontados. La coinoculación de *X. poitei* y el AD incrementan ligeramente la inhibición del crecimiento de *P. capsici*, y entre ambos ascomicetos no existe una clara actividad de inhibición.

Agradecimientos: Se agradece al CONACYT el apoyo financiero para la realización de esta investigación bajo el convenio 091057.

Hwang, B.K. and Kim, A.H., 1995. *Phytophthora* blight of pepper and its control in Korea. *Plant Disease* 79:221-227.

Lee, B.K., Kim, B.S., Chang, S.W. and Hwang, B.K. 2001. Aggressiveness to pumpkin cultivars of isolates of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pepper. *Plant Disease* 85:497-500.

Lee, J.Y., Moon, S.S. and Hwang, B.K. 2003. Isolation and antifungal and antioomycete activities of aerugine produced by *Pseudomonas fluorescens* strain MM-B16.

*Applied and Environmental Microbiology* 69:2023-2031.

Liu X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Lv, X. and Zhou, J. 2008. Antimicrobial activity of an endophytic *Xylaria* sp. YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin. *Applied Microbiology and Biotechnology* 78: 241-247.

Okamoto, H., Sato, Z., Sato, M., Koiso, Y., Iwasaki, S. and Isaka, M. 1998. Identification of antibiotic red pigments of *Serratia marcescens* F-1-1, a biocontrol agent of damping-off of cucumber, and antinicrobial activity against other pathogens. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 64:294-298.

Paul, D. and Sarma, Y.R. 2006. Antagonistic effects of metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strains on the different growth phases of *Phytophthora capsici*, foot rot pathogen of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 39:1-6

Ristaino, J.B. and Johnston, S.A. 1999. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease* 83:1080-1089.

Robles-Yerena, L., Rodríguez-Villarreal, R.A., Ortega-Amaro, M.A., Fraire-Velázquez, S., Simpson, J., Rodríguez-Guerra, R. and Jiménez-Bremont, J.F. 2010. Characterization of a new fungal antagonist of *Phytophthora capsici*. *Scientia Horticulturae* 125:248-245.

- San Martín, F. and Rogers, J.D. 1989. A preliminary account of *Xylaria* of Mexico. *Mycotaxon* 34:283-373.
- Tamietti, G. and Valentino, D. 2001. Physiological characterization of a population of *Phytophthora capsici* Leon. from northern Italy. *Journal of Plant Pathology* 83:199-205.
- Vásquez-López, A., Tlapal-Bolaños, B., Yañez-Morales, M. De J. y Quintos-Escalante M. 2002. An etiology of the rate of wilting of the chile de agua variety chili pepper (*Capsicum annuum* L) in the central valleys of Oaxaca, México. Proceedings of the 16th International Pepper Conference, Tampico, Tamaulipas, México.
- Velásquez-Valle, R., Medina A., M.M. y Luna-Ruiz, J. de J. 2001. Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annuum*) en el Norte-Centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:175-181.
- Vincent, J.M. 1947. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. *Nature* 159:850.
- Virgen-Calleros, G., Vázquez-Vázquez, J.L., Anguiano-Ruvalcaba, G.L. Olalde-Portugal, V. y Hernández-Delgadillo, R. 1997. Aislamiento de bacterias de la rizosfera de *Capsicum annuum* L. antagónicas al desarrollo de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15:43-47.
- Whipps, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52:487-511.
- Zheng, H.Z., Cui, C.L., Zhang, Y.T., Wang, D., Jing, Y., Kim, K.Y. 2005. Active changes of lignification-related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and/or *Phytophthora capsici*. *Journal of Zhejiang University Science* 6B:778-786.