



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**

Centro Interdisciplinario de Investigación  
para el Desarrollo Integral Regional  
CIIDIR MICHOACÁN



RESPUESTA DE GENOTIPOS CRIOLLOS DE *Capsicum* spp.  
A LA INOCULACIÓN CON *Phytophthora capsici*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN  
PRODUCCIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE

PRESENTA:

ROSA RAQUEL NÚÑEZ VARGAS

DIRECTORES:

Dr. EDGAR VILLAR LUNA  
M. EN C. IGNACIO GARCÍA RUIZ

Jiquilpan, Michoacán, México Enero de 2020



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de Jiquilpan, Michoacán siendo las 12:00 horas del día 11 del mes de diciembre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Unidad Michoacán para examinar la tesis titulada:

"Respuesta de genotipos criollos de *Capsicum spp* a la inoculación con *Phytophthora capsici*".

Presentada por el alumno:

Núñez	Vargas	Rosa Raquel				
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre				
Con registro:						
B	1	7	1	1	3	5

aspirante de:

**Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable**

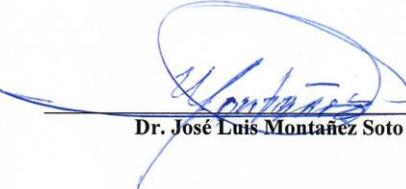
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

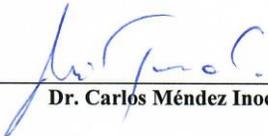
**LA COMISIÓN REVISORA**  
**Directores de tesis**

  
\_\_\_\_\_  
**M. en C. Ignacio García Ruíz**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Edgar Villar Luna**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. María Valentina Angoa Pérez**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. José Luis Montañez Soto**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Carlos Méndez Inocencio**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante.**  
**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES.**





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de México, D.F. el día **13** del mes de **Diciembre** del año **2019**, el (la) que suscribe **Rosa Raquel Núñez Vargas** alumno(a) del Programa de **Maestría en Ciencias Agrícolas Sustentables**, con número de registro **B171135**, adscrito(a) al **CIIDIR IPN-UNIDAD MICHOACÁN**, manifiesto(a) que es el (la) autor(a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de los **M. en C. Ignacio García Ruiz** y **Dr. Edgar Villar Luna** y cede los derechos del trabajo titulado **Respuesta de genotipos criollos de *Capsicum spp* a la inoculación con *Phytophthora capsici***, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del (de la) autor(a) y/o director(es) del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones **raquel\_nv19@hotmail.com**, **edgar\_villarled@yahoo.com** y **igarcia@ipn.mx**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

Rosa Raquel Núñez Vargas

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación.

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) por la oportunidad para realizar mis estudios en el programa de Maestría ofrecido a través del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Michoacán (CIIDIR, Unidad Michoacán).

A mis directores de tesis: Dr. Edgar Villar Luna y M. en C. Ignacio García Ruiz por su constante paciencia, apoyo y retroalimentación al darme las bases para realizar este proyecto.

A los integrantes de mi comité de tesis: Dra. María Valentina Angoa Pérez, Dr. Carlos Méndez Inocencio y Dr. José Luis Montañez Soto, por el tiempo y apoyo necesarios para hacer posible la conclusión de esta investigación la mejor manera.

A mis padres M. Teresa Vargas Vargas y Javier Núñez Ruan por su apoyo incondicional, comprensión y ayuda en los buenos y malos momentos que me ha permitido llegar hasta aquí. Gracias por sus consejos y regaños, por inculcarme los principios necesarios para hacer de mí la persona que soy.

A mis hermanos Marisol y José Javier por creer en mí en todo momento y brindarme gratos momentos de alegría.

A mis amigas Sandra Lizbeth, Imelda y Roció por apoyarme en cada situación difícil y compartir conmigo incontables momentos de risa.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>3</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
1.1. OBJETIVOS.....	8
1.1.1. <i>Objetivo general</i> .....	8
1.1.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	8
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>9</b>
2.1. EL CULTIVO DE CHILE ( <i>CAPSICUM SPP.</i> ).....	9
2.1.1. <i>Taxonomía</i> .....	10
2.1.2. <i>Diversidad genética de Capsicum spp.</i> .....	11
2.1.3. <i>Principales enfermedades que afectan al cultivo</i> .....	17
2.2. MARCHITEZ INDUCIDA POR <i>PHYTOPHTHORA CAPSICI</i> .....	18
2.2.1. <i>Generalidades del oomiceto</i> .....	20
2.2.2. <i>Taxonomía</i> .....	23
2.2.3. <i>Ciclo de vida</i> .....	23
2.2.4. <i>Estrategias de manejo</i> .....	27
2.3. RESISTENCIA GENÉTICA A <i>P. CAPSICI</i> EN <i>CAPSICUM SPP.</i> .....	28
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
3.1. MATERIAL VEGETAL .....	32
3.2. INÓCULO E INOCULACIÓN CON <i>PHYTOPHTHORA CAPSICI</i> .....	33
3.3. EXPERIMENTOS.....	33
3.3.1. <i>Análisis estadístico</i> .....	35
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
4.1. EVALUACIÓN DE SEVERIDAD .....	36
4.1.1. <i>Experimento 1</i> .....	36
4.1.2. <i>Experimento 2</i> .....	40

4.2. DETECCIÓN MOLECULAR DE <i>P. CAPSICI</i> EN PLANTAS DE CHILE CRIOLLOS INFECTADAS POR <i>P. CAPSICI</i> .....	44
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	<b>48</b>
<b>6. CONCLUSIÓN</b> .....	<b>53</b>
<b>7. REFERENCIAS</b> .....	<b>54</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

No.	Contenido	Página
1	Clasificación taxonómica del genero <i>Capsicum</i> .....	10
2	Ejemplo de clasificación de los chiles en el mercado nacional.....	14
3	Clasificación de las zonas productoras por estado y según la variedad.....	15
4	Clasificación taxonómica de <i>Phytophthora capsici</i> .....	23
5	Genotipos de chile ( <i>Capsicum</i> spp.) empleados en los experimentos.....	32
6	Escala de severidad según el daño visible causado por <i>P. capsici</i> .....	34
7	Porcentaje de sobrevivencia de plantas de chile ( <i>Capsicum</i> spp.) inoculadas con <i>P. capsici</i> (Experimento 1).....	37
8	Severidad inducida por <i>P. capsici</i> en genotipos de chile ( <i>Capsicum</i> spp.).....	38
9	Respuesta inducida por <i>P. capsici</i> en genotipos de chile ( <i>Capsicum</i> spp.).....	39
10	Porcentaje de sobrevivencia de plantas de chile ( <i>Capsicum</i> spp.) inoculadas con <i>P. capsici</i> (Experimento 2).....	41
11	Severidad inducida por <i>P. capsici</i> en genotipos de chile ( <i>Capsicum</i> spp.).....	42
12	Respuesta inducida por <i>P. capsici</i> en genotipos de chile ( <i>Capsicum</i> spp.).....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales países productores de chile verde.....	9
Figura 2. Posible evolución de las especies de <i>Capsicum</i> .....	11
Figura 3. Diversidad de chiles en México.....	13
Figura 4. Diferencias morfológicas de los genotipos de chile silvestre y comerciales.....	16
Figura 5. Principales características de <i>Phytophthora capsici</i> .....	20
Figura 6. Árbol filogenético de <i>Phytophthora</i> .....	22
Figura 7. Ciclo biológico de <i>P. capsici</i> .....	25
Figura 8. Proceso de infección llevado a cabo por una zoospora.....	26
Figura 9. Colecta de zoosporas para su posterior conteo.....	33
Figura 10. Etapas del nivel de daño causado por <i>P. capsici</i> .....	36
Figura 11. Colonización de <i>P. capsici</i> en tejidos de <i>Capsicum</i> .....	44
Figura 12. Productos de PCR (~452 pb) obtenido por la amplificación del DNA genómico de <i>P. capsici</i> en plantas de chile a distintos tiempos post-inoculación.....	45
Figura 13. Productos de PCR (~452 pb) obtenido por la amplificación del DNA genómico de <i>P. capsici</i> en plantas de chile a distintos tiempos post-inoculación.....	46
Figura 14. Productos de PCR (~452 pb) obtenido por la amplificación del DNA genómico de <i>P. capsici</i> en plantas de chile a 14 dpi.....	47

## RESUMEN

El chile (*Capsicum* spp.) es de las hortalizas de mayor importancia económica y agroalimenticia en México; sin embargo, la marchitez inducida por el oomiceto *Phytophthora capsici* limita su producción. El manejo de la enfermedad comprende el uso de fungicidas sintéticos; no obstante, debido a sus efectos negativos, es de interés explorar estrategias ambientalmente sanas, como es el uso de la resistencia genética. En este sentido, los objetivos de este trabajo fueron: evaluar la severidad de la marchitez inducida por *P. capsici* en catorce genotipos criollos y un silvestre, y determinar la presencia de DNA genómico del oomiceto en raíces y tallos de plantas infectadas. Se establecieron tres experimentos independientes (E1, E2 y E3), bajo diseño completamente al azar. En el E1, se evaluaron nueve genotipos criollos de *C. annuum* (GCH-1, GCH-2, GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-10, GCH-11, GCH-12, GCH-17), dos de *C. pubescens* (GCH-7, GCH-8), uno de *C. chinense* (GCH-15), y un silvestre (*C. annuum* GCH-13). En el E2 se consideraron dos genotipos adicionales de *C. annuum* (GCH-4, GCH-14). En ambos experimentos, se incluyeron como controles a cv. C. Wonder (CW, susceptible), y CM334 (resistente), y la severidad se registró a los 7, 14 y 21 días posteriores a la inoculación (dpi) con *P. capsici*. En el E3, los tratamientos fueron GCH-2, GCH-10, CM334 y CW. La inoculación se efectuó cuando las plantas presentaron entre cuatro y seis hojas verdaderas, colocando una suspensión de 100,000 zoosporas en la base del tallo. En el E1, a los 7 dpi GCH-2, GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-10, GCH-11, y GCH-13, mostraron una mortalidad menor al 50%. La severidad de la enfermedad fue más notoria a los 14 dpi, ya que GCH-1, GCH-7, GCH-8, GCH-15, GCH-17 y CW presentaron el 100% de plantas muertas; mientras que los genotipos GCH-11 y GCH-12 superaron el 50%. A los 21 dpi, GCH-12 presentó la totalidad de sus plantas muertas, mientras que GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-11 y GCH-13 mostraron el 70, 50, 60, 80 y 70%, respectivamente. GCH-2 mostró solo el 10% al término del experimento. En el E2, a 7 dpi, la mayoría de los genotipos presentaron 0% de plantas muertas, a excepción de GCH-8 y GCH-10 (12.5%), mientras que para GCH-1, y GCH-7 fue de 37.5% y 50%, respectivamente. A 14 dpi, GCH-6 mantuvo el 100% de sobrevivencia, mientras que GCH-9, GCH-10, GCH-11 y GCH-13 presentaron el 12.5% de plantas muertas. GCH-4 y GCH-5, tuvieron el 25% de mortalidad, y los genotipos GCH-2, GCH-14, y GCH-17 presentaron una mortalidad superior al 37.5%. A 21 dpi, GCH-1, GCH-7, GCH-8, GCH-13, GCH-14 y GCH-15 mantuvieron los mismos porcentajes de plantas muertas

que los reportados a los 14 dpi. En los otros genotipos, los valores correspondieron a GCH-9 (37.5%), GCH-5 y GCH-6 (50%), GCH-2 (62.5%), GCH-4 y GCH-12 (87.5%), GCH-11 (62.5%), GCH-17 y CW (100%). En E1 y E2, CM334 mostró un alto nivel de resistencia (presentando 0% de plantas muertas). En E3, el oomiceto fue detectado solo en los tallos de GCH-2, GCH-10, y CW, excepto de CM334. En conclusión, ninguno de los genotipos criollos y silvestres evaluados fue resistente al oomiceto; debido a que registraron valores de severidad elevados a los 21 dpi. Aun cuando algunos de los genotipos mostraron daños considerables, muchos de ellos lograron expresar menores grados de severidad que los expresados por el cv. California Wonder. La presencia de DNA genómico del oomiceto garantiza que la sintomatología observada en los genotipos de Chile evaluados (E3), fue efectivamente producida por *P. capsici*.

**Palabras clave:** *severidad, marchitez del Chile, Chile silvestres, mecanismos de defensa.*

## ABSTRACT

Chili (*Capsicum* spp.) is one of the most economically important and food-intensive vegetables in Mexico; However, the march induced by the *Phytophthora capsici* oomycete limits its production. The management of the disease includes the use of synthetic fungicides; however, due to its negative effects, it is of interest to explore environmentally sound strategies, such as the use of genetic resistance. In this sense, the objectives of this work were: to evaluate the severity of the wilt induced by *P. capsici* in fourteen native and wild genotypes, and to determine the presence of oomycete genomic DNA in roots and stems of infected plants. Three independent experiments were established (E1, E2 and E3), under a completely randomized design. In E1, nine *C. annuum* Creole genotypes (GCH-1, GCH-2, GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-10, GCH-11, GCH-12, GCH-17) were evaluated, two of *C. pubescens* (GCH-7, GCH-8), one of *C. chinense* (GCH-15), and a wild one (*C. annuum* GCH-13). In E2, two additional genotypes of *C. annuum* (GCH-4, GCH-14) were considered. In both experiments, controls were included as controls cv. *C. Wonder* (CW, susceptible), and CM334 (resistant), and the severity was recorded at 7, 14 and 21 days after inoculation (dpi) with *P. capsici*. In E3, the treatments were GCH-2, GCH-10, CM334 and CW. The inoculation was carried out when the plants presented between four and six true leaves, placing a suspension of 100,000 zoospores at the base of the stem. In E1, at 7 dpi GCH-2, GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-10, GCH-11, and GCH-13, showed a mortality of less than 50%. The severity of the disease was most noticeable at 14 dpi, since GCH-1, GCH-7, GCH-8, GCH-15, GCH-17 and CW presented 100% of dead plants; while the GCH-11 and GCH-12 genotypes exceeded 50%. At 21 dpi, GCH-12 presented all of its dead plants, while GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-11 and GCH-13 showed 70, 50, 60, 80 and 70%, respectively. GCH-2 showed only 10% at the end of the experiment. In E2, at 7 dpi, most genotypes presented 0% of dead plants, with the exception of GCH-8 and GCH-10 (12.5%), while for GCH-1, and GCH-7 was 37.5% and 50%, respectively. At 14 dpi, GCH-6 maintained 100% survival, while GCH-9, GCH-10, GCH-11 and GCH-13 presented 12.5% of dead plants. GCH-4 and GCH-5 had 25% mortality, and genotypes GCH-2, GCH-14, and GCH-17 had a mortality greater than 37.5%. At 21 dpi, GCH-1, GCH-7, GCH-8, GCH-13, GCH-14 and GCH-15 maintained the same percentages of dead plants as those reported at 14 dpi. In the other genotypes, the values corresponded to GCH-9 (37.5%), GCH-5 and GCH-6 (50%), GCH-2 (62.5%), GCH-4 and

GCH-12 (87.5%), GCH -11 (62.5%), GCH-17 and CW (100%). In E1 and E2, CM334 showed a high level of resistance (presenting 0% of dead plants). In E3, the oomycete was detected only in the stems of GCH-2, GCH-10, and CW, except for CM334. In conclusion, none of the Creole and wild genotypes evaluated were resistant to oomycete; because they recorded high severity values at 21 dpi. Although some of the genotypes showed considerable damage, many of them managed to express lower degrees of severity than those expressed by cv. California Wonder. The presence of oomycete genomic DNA guarantees that the symptomatology observed in the chili genotypes evaluated (E3) was effectively produced by *P. capsici*.

**Keywords:** *severity, chili pepper wilting, wild peppers, defense mechanisms.*

# 1. INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum* spp.) es de gran importancia cultural, social y económica para México, en donde su consumo y producción han prevalecido desde la época prehispánica formando parte esencial de la gastronomía. Debido a sus múltiples propiedades, es una hortaliza de creciente demanda a nivel mundial. Actualmente, su producción se concentra en los países asiáticos, principalmente China; mientras que México ocupa la segunda posición (do Rêgo *et al.*, 2016). No obstante, la producción se ve frecuentemente amenazada por factores bióticos, reflejándose en pérdidas económicas significativas para los productores (Aristizábal y Torres, 2015). El cultivo puede ser atacado por nematodos, bacterias, virus, hongos y oomicetos fitopatógenos. Siendo la marchitez del chile causada por el oomiceto *Phytophthora capsici* la que representa la mayor amenaza para la producción (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017).

*P. capsici* puede generar la pudrición de la raíz y corona, así como infectar tallos, hojas y frutos sin importar la edad de la planta (Ristaino y Johnston, 1999). Si las condiciones ambientales son favorables (temperatura 25-28 °C y alta humedad relativa), puede causar pérdidas de hasta el 100% de la producción en cultivos (Fernández-Pavía *et al.*, 2013). Este oomiceto es muy dinámico y persistente, cuenta con un amplio rango de hospedantes de importancia comercial como son el jitomate, fresa, pepino, sandía, cacao, melón y calabacín, destacando como principal agente causante de pérdidas en el cultivo del chile (Lozano, 2014). Lo anterior le permite prosperar en múltiples agroecosistemas; asimismo, la producción de distintos tipos de propágulos especializados en supervivencia, reproducción y dispersión como son las oosporas, esporangios y zoosporas, les confieren mayor resistencia a condiciones edafoclimáticas adversas (Sanogo y Ji, 2012).

Para el manejo de la marchitez del chile se usan diferentes estrategias, por ejemplo, en la actualidad se aplica la combinación de diversas técnicas que permiten la disminución de la incidencia y daño causado por *P. capsici*, como es el control de riego para evitar la saturación de agua en el suelo, camas elevadas y plásticos de cobertura, eliminación de malezas que pueden actuar como reservorios, solarización del suelo, aplicación de biofungicidas, así como fungicidas sintéticos (Sanogo y Ji, 2012); siendo éste último el más utilizado por los agricultores ya que presenta resultados visibles en poco tiempo, especialmente en combinación

con otras prácticas como las camas elevadas y control de la humedad del suelo, ya que por sí solos no han demostrado un control completo de la enfermedad a largo plazo (Hausbeck y Lamour, 2004). Entre estas técnicas de control destaca la aplicación de fungicidas, ya que la aplicación desmedida ha traído consigo contaminación ambiental, riesgo en la salud y gastos excesivos para el productor, así como la presión de selección en diversas cepas de *P. capsici* generando resistencia a estos agroquímicos (Uribe *et al.*, 2014). Debido a los riesgos presentes en el control convencional utilizado, resulta necesaria la generación de estrategias amigables con el ambiente que permitan el manejo de *P. capsici*, favoreciendo la sostenibilidad en niveles óptimos de producción (Iribarren *et al.*, 2016). Se han realizado diferentes estudios en cuanto al uso de biocontroladores y de la resistencia genética (Lozano *et al.*, 2015). Por ello, la implementación de cultivares genéticamente resistentes son una alternativa viable, económicamente rentable y amigable con el ambiente.

Naturalmente, las plantas cuentan con mecanismos que le permiten afrontar el ataque de patógenos, siendo la resistencia genética la capacidad de reducir su crecimiento y desarrollo (Niks *et al.*, 1993). Los genotipos criollos pueden proporcionar información valiosa en cuanto a recursos genéticos, los cuales pueden ser aprovechados con el fin de generar variedades mejoradas que permitan a los agricultores una producción en donde las pérdidas causadas por la enfermedad sean mínimas (Piñero *et al.*, 2008). Alrededor del mundo se han realizado búsquedas de genotipos resistentes a *P. capsici*, y aunado al hecho de que México es un país con mayor diversidad genética del género *Capsicum*, presenta mayores posibilidades de encontrar resistencia entre genotipos criollos y silvestres. Por ejemplo, Candole *et al.* (2010), al evaluar distintas líneas de chile procedentes de varios países (incluido México), reportaron que los genotipos PI 201232 y PI 201234 demostraron ser resistentes a la pudrición de raíz y corona, así como, altos niveles de resistencia foliar, por lo que ya han sido utilizadas en programas de mejoramiento genético en Estados Unidos y Europa. Gracias a estos estudios, se logró identificar a los genotipos Línea 29 y Criollo de Morelos (CM334), los cuales hasta el momento han exhibido altos niveles de resistencia. La búsqueda de nuevas fuentes incompatibles con diferentes aislamientos de *P. capsici*, como son diversos genotipos de chile serrano y huacle (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2017). Si bien, el genotipo CM334 ha demostrado ser resistente a todos los aislamientos de *P. capsici* a los que se ha expuesto, la complejidad de los mecanismos de resistencia genética y la heredabilidad de ésta hacen muy complicada la

implementación de estos genes en cultivares comerciales (Foster y Hausbeck, 2010). Actualmente se conocen diversos cultivares comerciales con cierto nivel de tolerancia al oomiceto, ejemplo de estos son los genotipos “Paladín”, “Aristóteles”, “Declaración”, “Karisma”, “Intruder” y “Revolución”, sin embargo, aún no existe una variedad comercialmente aceptable que muestre resistencia a la mayoría de los aislamientos (Glosier *et al.*, 2008). En este sentido, es necesaria la exploración constante de la diversidad genética de chiles nativos, con el propósito de aprovechar los genotipos potencialmente resistentes a *P. capsici* en nuestros sistemas de producción agrícola.

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1. Objetivo general**

Evaluar la respuesta de quince genotipos de chile (*Capsicum* spp.) a la inoculación con el oomiceto *Phytophthora capsici*.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

Evaluar la severidad de la marchitez inducida por *P. capsici* en catorce genotipos criollos y un silvestre.

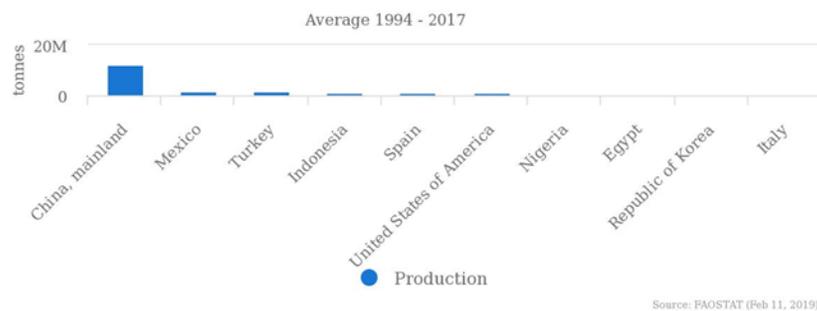
Determinar la presencia de DNA genómico del oomiceto en raíces y tallos de plantas infectadas por *P. capsici*.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. El cultivo de chile (*Capsicum spp.*)

El chile es de gran importancia cultural, social y económica para nuestro país, donde su consumo y producción han prevalecido desde la época prehispánica formando parte esencial de la gastronomía. Su consumo estimula la producción de endorfinas, generando la sensación de placer y bienestar, superando los efectos de dolor producidos por la capsaicina (trans-8-metil-N-vanillil-6-nonenamida), además de poseer propiedades analgésicas y antiinflamatorias (Castellón-Martínez *et al.*, 2012).

Debido a sus múltiples propiedades, el chile es una hortaliza de creciente demanda a nivel mundial. Actualmente, su producción se concentra en los países asiáticos, principalmente China con una producción de 17,458,282 toneladas anuales, estableciéndose como el principal país productor; mientras que México ocupa la segunda posición (**Figura 1**) (do Rêgo *et al.*, 2016).



**Figura 1.** Principales países productores de chile verde.

### 2.1.1. Taxonomía

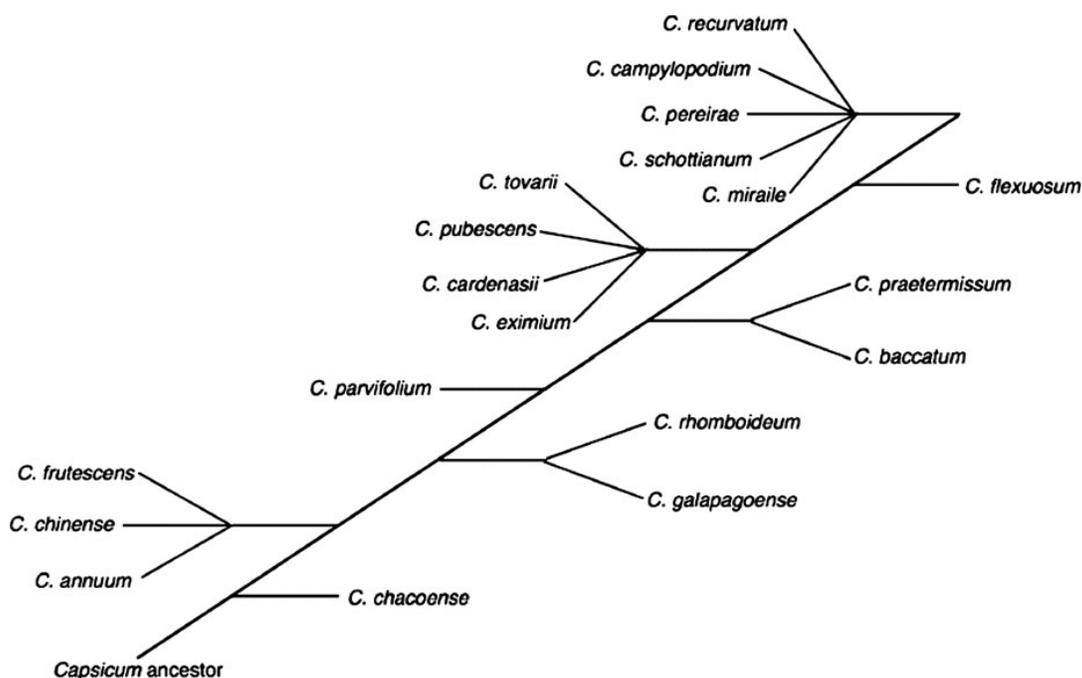
El género *Capsicum* pertenece a la familia de las solanáceas (solanaceae), lo cual indica que son especies autóгамas, monoicas y con flores perfectas completas (Sierra-Muñoz *et al.*, 2015). A pesar de sus rasgos generales, su clasificación ha sido difícil debido a la alta variabilidad de sus características, así como a la falta de barreras definidas para su hibridación. La aplicación de técnicas moleculares y citogenéticas, al igual que la caracterización morfológica muestran inconvenientes para delimitar las especies que engloban a este género. Por lo que diversos autores difieren en cuanto a la cantidad de especies que pertenecen a este género (De, 2004). Se estima que el género *Capsicum* engloba alrededor de 30 especies, de las cuales solo *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens* han sido domesticadas (Palma-Martínez *et al.*, 2017). La identificación taxonómica se realizó mediante la observación, clasificación morfológica y fenotípica de la flor o el fruto (**Cuadro 1**) (Pérez-Castañeda *et al.*, 2015).

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica del género *Capsicum* (Pérez-Castañeda *et al.*, 2015).

<b>Categoría</b>	<b>Taxón</b>
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Capsicum</i>
Especie	<i>annuum</i> , <i>chinense</i> , <i>frutescens</i> , <i>baccatum</i> , <i>pubescens</i> , etc.

### 2.1.2. Diversidad genética de *Capsicum* spp.

Con excepción de *C. anomalum*, de origen euroasiático, todas las especies del género *Capsicum* son nativas del continente americano. México es considerado centro de origen de *C. annuum*, mientras que *C. baccatum* y *C. pubescens* tuvieron su origen en Bolivia y Perú, finalmente, se cree que probablemente *C. frutescens* fue domesticada en la cuenca del Amazonas (De, 2004), teniendo como supuesto ancestro diploide silvestre común que data de hace 16.8 millones de años (**Figura 2**), del cual surgió *C. chacoense*, que dió lugar a *C. annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens*. Asimismo, se han invertido grandes esfuerzos por relacionar a *C. annuum* var. *glabriusculum*, conocidas comúnmente como chiles “chiltepines” con las especies de *Capsicum annuum* (Kraft *et al.*, 2013; Mongkolporn y Taylor, 2011).



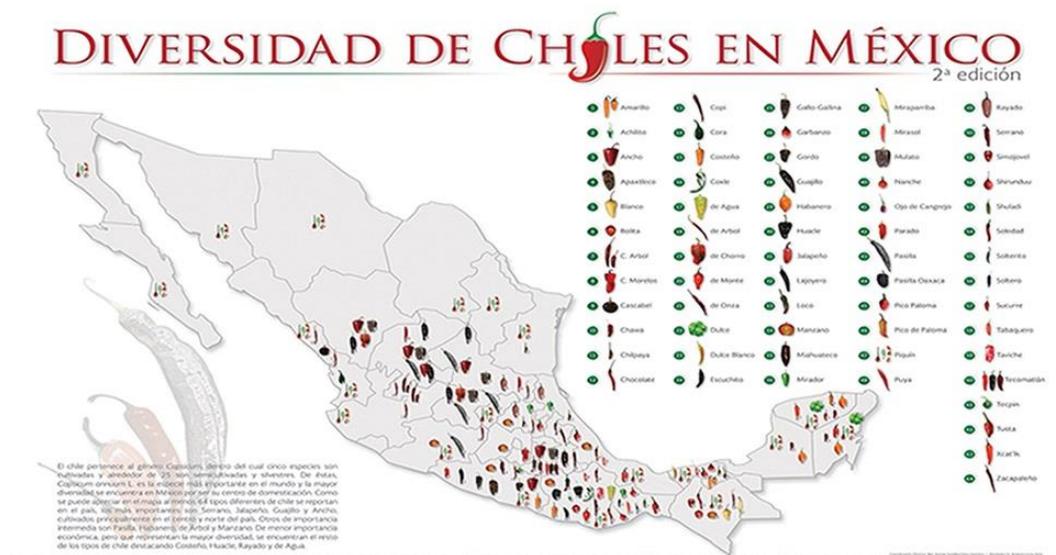
**Figura 2.** Posible evolución de las especies de *Capsicum* (Mongkolporn y Taylor, 2011).

La heterogeneidad de los suelos y climas presentes en México, así como la intervención de las culturas mesoamericanas en la domesticación del chile, han promovido la gran diversidad genética de especies criollas disponibles actualmente, dando como resultado una amplia gama de formas, tamaños, colores, aromas y sabores (Pérez-Castañeda *et al.*, 2015). El término “chile” tiene su raíz etimológica del náhuatl “*chilli*” o “*xilli*” y se utiliza

para referirse a cualquier especie dentro del género *Capsicum*. Para las culturas precolombinas resultaba de gran importancia, ya que su uso no se centraba exclusivamente para el consumo, sino que también se empleaba con fines militares, medicinales, pedagógicos, comerciales e impositivos, otorgando también los vocablos “*cococ*”, “*cocopatic*” y “*cocopalatic*” para asignar el grado de picor de los frutos que va de los suaves, intermedios, a los más intensos respectivamente, según sus propiedades organolépticas (Aguirre y Muñoz, 2015); en contraste con la escala de Scoville empleada actualmente, en donde se mide el nivel de capsaicina presente en los frutos (Cedrón, 2013).

El proceso de domesticación implica sacar los genotipos de su centro de origen y adaptarlas a distintas condiciones climáticas. Por lo que están sujetas a presiones intensas de selección que modifican sus sistemas de apareamiento y mecanismos de dispersión, morfología, fisiología y estructura genética. Cambios que las diferencian con respecto a sus progenitores silvestres y parientes cercanos (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001). El efecto más evidente de domesticación es la disminución de la diversidad genética y estructura de poblaciones de hasta 10% en comparación con las poblaciones silvestres (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009). Se han encontrado diversas evidencias que confirman el cultivo de estos frutos desde el año 7000 A.C. en América, formando parte esencial de la dieta precolombina para las diversas culturas que se situaban desde los Estados Unidos hasta Sudamérica. Comenzando su expansión alrededor del mundo al ser llevado a Europa en la segunda expedición de Cristóbal Colón en 1493, en donde fue aceptado rápidamente al comercializarse como condimento seco y molido, empleado como sustituto de la pimienta negra. Así, su popularidad se extendió paulatinamente alrededor del mundo debido a sus propiedades y la versatilidad de los frutos, la mejora de los métodos de producción y conservación, hicieron de esta hortaliza una de las más consumidas a fines del siglo XX y uno de los frutos de mayor importancia en la actualidad (González *et al.*, 2018). Cabe mencionar, que también a raíz de esta expedición, el médico Diego Álvarez Chanca logró registrar por primera vez sus efectos medicinales en 1494. Posteriormente, el médico húngaro Albert Szent-Györgyi en 1937, describió la importancia de la vitamina C en la paprika y sus efectos contra el escorbuto, observaciones que lo hicieron obtener el Premio Nobel de Fısica (Aguilar *et al.*, 2010).

Actualmente en México, se pueden encontrar genotipos de *C. annuum* y *C. frutescens* creciendo de manera silvestre, al igual que del resto de especies no domesticadas, cultivándose también, las cinco especies domesticadas (*C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens*) (Hernández-Verduzco *et al.*, 1999). De estas especies, en *C. annuum* se encuentran las variedades de mayor demanda mundial, como son: jalapeño, serrano, piquín, Anaheim, morrón, mirasol, pasilla y mulato, los mayormente cultivados, debido a que sus características les confieren una gran versatilidad que permiten su utilización en una amplia gama de procedimientos (**Figura 3**) (De, 2004). Asimismo, la demanda por esta hortaliza ha aumentado sustancialmente debido a que presenta altos niveles de vitaminas A, C y B6, antioxidantes, pigmentos, flavonoides, antimicrobianos,  $\beta$ -carotenos, anticancerígenos, saborizantes, aceites fijos y volátiles, carotenoides, oleorresinas y alcaloides con potencial insecticida (Pérez-Castañeda *et al.*, 2015).



**Figura 3.** Diversidad de chiles en México (SNICS<sup>1</sup>, 2017).

La clasificación de los chiles se da según el mercado al que van dirigidos, no obstante, esta categoría resulta ambigua al tratar de resumir la gran diversidad de chiles que se domestican y cultivan en México. Como se muestra en el **Cuadro 2**, la clasificación en el mercado nacional se otorga según el producto se oferte en fresco (verde) o en seco, mientras

<sup>1</sup> Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas

que en los mercados internacionales se clasifican como chiles picosos y dulces (Luna, 2010). En donde, los chiles dulces generalmente son frutos de gran tamaño con un grueso pericarpio y coloración que va del rojo al amarillo, empleados principalmente para su consumo en fresco como son Yolo Wonder (YW), California Wonder (CW) y Lamuyo. Mientras que los picantes son de pericarpio delgado, de forma alargada y altos niveles de capsaicina (Ezziyani, 2015).

**Cuadro 2.** Ejemplo de clasificación de los chiles en el mercado nacional (Luna, 2010).

<b>Fresco</b>	<b>Seco</b>
Chilaca	Pasilla
Poblano	Ancho
Jalapeño Cuaresmeño	Chipotle
Bola o trompo	Cascabel
Mirasol	Huajillo
De agua	Chilhuacle

La alta variabilidad edafoclimática presente en México, en conjunto con las técnicas de mejoramiento implementadas por los agricultores desde tiempos prehispánicos, han dado origen a la gran diversidad genética de esta hortaliza, lo cual ha permitido a México colocarse como el segundo mayor productor a nivel mundial al destinar 170 millones de hectáreas para su cultivo, con una producción anual de 2,737,028 toneladas anuales (FAO<sup>2</sup>, 2016). De acuerdo a datos de Aguirre y Muñoz (2015), dicha producción se divide en 6 zonas según las variedades que se cultivan (**Cuadro 3**). Siendo el jalapeño la variedad de mayor demanda, seguido por los chiles serrano, de árbol, chilaca, mirasol, güero, morrón y piquín, pertenecientes a *C. annuum*. Asimismo, están presentes los cultivares de chile habanero (*C. chinense*) y manzano (*C. pubescens*) en menor medida. Destacan Chihuahua (991,916 ton), Sinaloa (637,923 ton) y Zacatecas (419,322 ton) como los principales estados productores de esta hortaliza, dejando a Michoacán en el séptimo lugar en producción nacional con 119,000 ton anuales al destinar 4,497 ha para su cultivo (SIAP<sup>3</sup>, 2016).

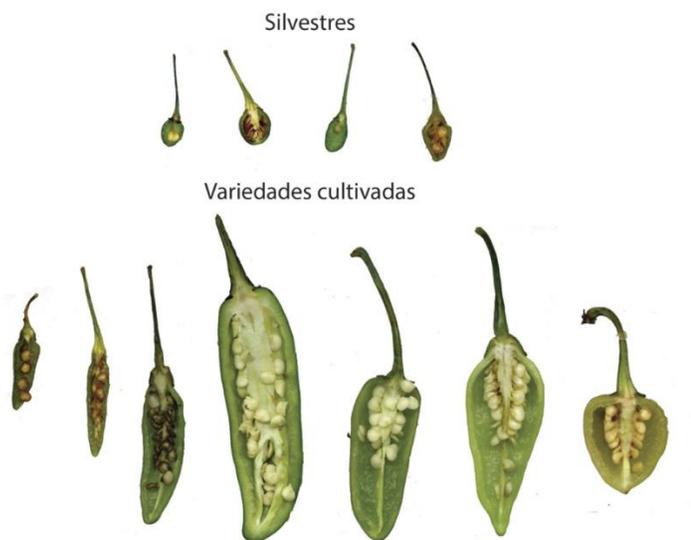
<sup>2</sup> Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO por sus siglas en inglés (Food and Agriculture Organization).

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

**Cuadro 3.** Clasificación de las zonas productoras por estado y según las variedades cultivadas (Aguirre y Muñoz, 2015).

<b>Zona productora</b>	<b>Estados</b>	<b>Producción</b>
Zona del golfo	Veracruz y Tamaulipas	Jalapeños y chiles serranos
Zona sur	Yucatán y Tabasco	Jalapeños y habaneros
Zona del bajío	Guanajuato, Jalisco y Michoacán	Chiles anchos, mulatos y pasillas
Zona mesa central	Puebla e Hidalgo	Chiles poblanos, miahuatecos y carricillo
Zona norte	Chihuahua y Zacatecas	Jalapeños, mirasol y chiles anchos
Zona del pacifico norte	Baja California, Sinaloa y Sonora	Morrón, Jalapeño y caribes

Generalmente, las plantas de chile son arbustos perennes clasificados según su número de cromosomas como  $2n=24$  y  $2n=26$ , en donde, solo *C. annuum* var. *glabriusculum* es tetraploide (Mongkolporn y Taylor, 2011). En contraste, Palacios (2007), menciona que las plantas de chile pueden ser clasificadas según su nivel de domesticación en variedades domesticadas, semi-domesticadas y silvestres. Los genotipos domesticados son aquellos a los que se les han fijado características deseables, como mayor productividad y tamaño del fruto mediante procesos de selección y alteración genética, lo cual hace que estas variedades sean dependientes del ser humano para cumplir con su ciclo de vida. Los genotipos semi-domesticados, presentan pocas diferencias morfológicas con los genotipos silvestres, por lo que su dependencia por las acciones del hombre resulta mínima. Por otro lado, los genotipos silvestres no han sido alterados por el hombre y, por tanto, no requieren de su intervención para su desarrollo (**Figura 4**) (Aguirre y Muñoz, 2015). En contraste con los genotipos comerciales, los silvestres suelen tener altos niveles de variación genética dentro de las poblaciones y no entre ellas, generalmente son hierbas perennes, erectas o trepadoras, con una sola flor blanca por nodo, con frutos pequeños, rojos, picantes, erectos y caducifolios, dispersados por aves. Distribuidos por todo México en sitios no perturbados como son bosques tropicales caducifolios, huertos, pastizales y a lo largo de carreteras a no más de 1000 msnm (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001). A excepción de *C. pubescens*, se han encontrado las versiones silvestres del resto de las especies domesticadas (Mongkolporn y Taylor, 2011).



**Figura 4.** Diferencias morfológicas de los genotipos de chiles silvestres y los comerciales. Se puede observar que los genotipos domesticados presentan epicarpios de mayor grosor en comparación con los genotipos silvestres (Jardón, 2017).

Anteriormente, la producción agrícola en México mediante métodos tradicionales fomentaba la preservación y mejoramiento del germoplasma al utilizar semillas obtenidas de los frutos con mejores características, sin embargo, este interés se volcó hacia las semillas mejoradas que ofrecen mayor rendimiento y productividad, lo que ha desplazado a los cultivos tradicionales, poniendo en riesgo la diversidad genética del género *Capsicum* (Aguirre y Muñoz, 2015). Son las grandes empresas extranjeras enfocadas al desarrollo de variedades híbridas las que se encargan de abastecer el mercado internacional, principalmente con variedades mejoradas para el cultivo de chiles en fresco y pimientos. Dejando a un lado a las variedades de chile tradicionales, los cuales se comercializan solo en los mercados regionales (Luna, 2010).

En la última década se han obtenido variedades con resistencia a factores adversos, así como mayor rendimiento y calidad del fruto. Para llevar a cabo el mejoramiento genético de los genotipos de interés comercial, resulta necesario el conocimiento del genoma de *Capsicum*, además de su diversidad y estructura de poblaciones, así como sus relaciones filogenéticas, siendo también muy importante la identificación de genotipos que puedan utilizarse como fuente de germoplasma que provea los genes de interés. Por lo anterior, se han desarrollado mapas genéticos, se ha secuenciado y analizado su genoma con microarreglos,

además de su taxonomía mediante técnicas moleculares. Siendo el intercambio de germoplasma entre agricultores, así como las cruza intra o inter-específicas los métodos tradicionales de mejoramiento llevados a cabo por los pequeños agricultores (Pérez-Castañeda *et al.*, 2015).

### 2.1.3. Principales enfermedades que afectan al cultivo

El cultivo de chile está expuesto constantemente a factores bióticos que pueden dañarlo a lo largo de su desarrollo, así como en su almacenamiento poscosecha, siendo los microorganismos los que llegan a producir serias afectaciones que de no ser tratadas a tiempo con el manejo adecuado puede generar la disminución de la producción total y la calidad de los frutos, lo cual se refleja en importantes pérdidas económicas para el productor (Aristizábal y Torres, 2015). Estos fitopatógenos requieren de los tejidos de las plantas para su alimentación y reproducción, produciendo a su vez sustancias tóxicas que pueden llevar a la muerte de la planta, por lo que las enfermedades producidas son fácilmente apreciadas a simple vista (Velázquez-Valle *et al.*, 2013).

Las principales enfermedades que afectan al cultivo del chile son las causadas por oomicetos como *Phytophthora capsici*, *P. infestans* y *P. cinnamomi*; nematodos como *Meloidogyne* spp. y *Heterodera* spp.; hongos como *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp.; bacterias como *Xanthomonas campestris* y virus (tabaco, papa, chile, tomate, pepino, etc.), los cuales generan pérdidas económicas importantes alrededor del mundo (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017). Siendo los hongos y oomicetos los que representan un mayor riesgo para el cultivo (Velázquez-Valle *et al.*, 2001). Algunas de estas enfermedades se describen a continuación:

El ahogamiento de plántulas (damping-off) es una de las afecciones que más afectan a las plántulas del chile, es causado por el complejo conformado por *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Verticillium* spp., *Alternaria* spp. y *Sclerotium rosfii* (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017). Se caracteriza por necrosis alrededor de la base del tallo de las plantas infectadas, causando su caída y finalmente la muerte. Pueden atacar a las plántulas desde antes de que emerjan del suelo, por lo que su infección generalmente pasa desapercibida

y sus efectos son asociados a fallas en la germinación de las semillas. Estos fitopatógenos requieren temperaturas de entre 12 y 24 °C y humedad ambiental mayor al 70% para desarrollarse favorablemente (Obregón *et al.*, 2016).

Dentro de los nematodos que afectan las raíces de las plantas, destaca el género *Meloydogine*, siendo *M. incognita* la que principalmente se encuentra en el cultivo, provocando síntomas como el enanismo, poco follaje y marchitez en las hojas, siendo la presencia de agallas su principal característica, las cuales dificultan la absorción de agua y nutrientes, por lo que las plantas afectadas producen frutos pequeños de baja calidad (Ros *et al.*, 2007).

Otro grupo de enfermedades son las inducidas por el hongo *Oidiopsis spp.*, que infecta el follaje viejo de las plantas y avanza hacia el follaje más joven (Velásquez-Valle y Valle-García, 1999); se caracteriza por la presencia de manchas de polvillo grisáceo en el envés de las hojas, las cuales pueden crecer gradualmente hasta cubrir su superficie. Siendo también visibles en condiciones severas, manchas que van del amarillo al café en el haz de las hojas.

En enfermedades de etiología bacteriana destacan la mancha foliar inducida por *Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria*, este microorganismo causa manchas húmedas color café de contorno irregular. Cuando la infección es severa, las manchas toman una coloración negra de apariencia grasosa, hundidas en el haz y ligeramente abultadas en el envés (Velázquez y Medina, 2006).

Algunas enfermedades de etiología viral son por ejemplo las producidas por el virus mosaico del tabaco, virus mosaico del pepino y el virus Y de la papa (Conti *et al.*, 2000).

## **2.2. Marchitez inducida por *Phytophthora capsici***

La marchitez inducida por *P. capsici* Leonian es la principal enfermedad que limita la producción del cultivo de chile en México y a nivel mundial. Esta enfermedad puede ocasionar pérdidas de hasta el 90% de la producción (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017). Como se menciona en Mongkolporn y Taylor (2011), el significado en griego de *P. capsici* es "destructor de plantas de *Capsicum*". *P. capsici* es el principal agente causal, sin embargo,

también puede asociarse con microorganismos como *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. y *Sclerotium rolfsii* (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017).

*P. capsici* cuenta con un amplio rango de hospedantes de importancia comercial, como son: el jitomate, berenjena, calabacín, melón, cacao, fresa, pepino y sandía, destacando por ser el principal agente causante de pérdidas en el cultivo del chile (Lozano, 2014). La enfermedad es inducida por este oomiceto de gran importancia económica a nivel mundial, siendo la principal limitante para la producción de hortalizas, debido principalmente a la capacidad del patógeno para infectar cualquier parte de la planta, dejándola vulnerable al ataque de otros fitopatógenos (García, 2013).

En México, la marchitez del chile es la más importante y se ha reportado su ocurrencia en estados productores como Aguascalientes, Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Sinaloa, Sonora, Chihuahua, Querétaro, Hidalgo y Michoacán, en los cuales se presentan las condiciones ambientales favorables para su desarrollo, llegando a causar pérdidas económicas de hasta el 100% de la superficie cultivada (Gonzales *et al.*, 2009). Motivo por el cual la superficie cultivada se ha reducido considerablemente, por lo que muchos productores han optado por cambiar sus cultivos a nuevas tierras consideradas libres de este patógeno, sin embargo, esta medida no ha sido del todo favorable ya que el oomiceto es trasladado a los nuevos cultivos mediante herramientas, semillas y plántulas contaminadas (Morales-Valenzuela *et al.*, 2002).

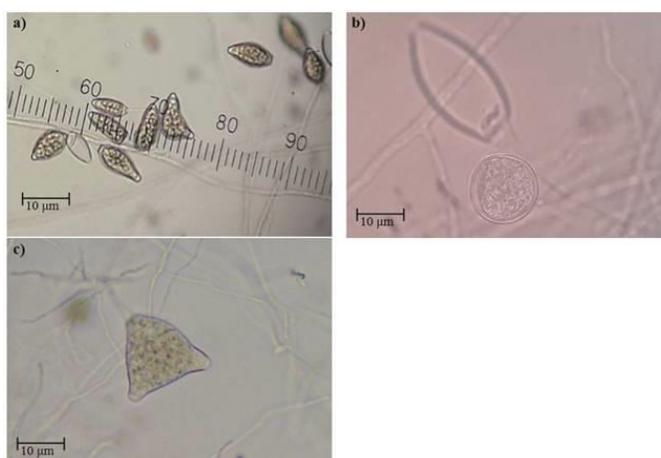
La enfermedad se presenta principalmente en climas templados, tropicales y subtropicales, infectando raíces, tallo, hojas y frutos de las plantas en cualquier etapa de crecimiento (Uribe *et al.*, 2014). Los principales síntomas causados son la clorosis y marchitez de la parte aérea, también se presenta necrosis que comienza de color café oscuro y después pasa a negro tanto en tallos como en hojas; en los frutos se observan pudriciones y la presencia de moho blanco; y ocasiona a su vez damping-off en las plantas más jóvenes (INIA<sup>4</sup>, 2018).

---

<sup>4</sup> Instituto de Investigaciones Agropecuarias de Chile.

### 2.2.1. Generalidades del oomiceto

*P. capsici* es un oomiceto filamentoso descrito por primera vez en 1922 por Leon H. Leonian, quien detalló la presencia de micelio distintivo con crecimientos tuberosos, esporangios ovalados deciduos con engrosamiento apical prominente (papila) y pedicelos largos, produciendo oosporas en el cultivo, siendo estas características suficientes para permitir su identificación por los siguientes cincuenta años posteriores a su primera descripción (**Figura 5**) (Lamour y Kamoun, 2009).



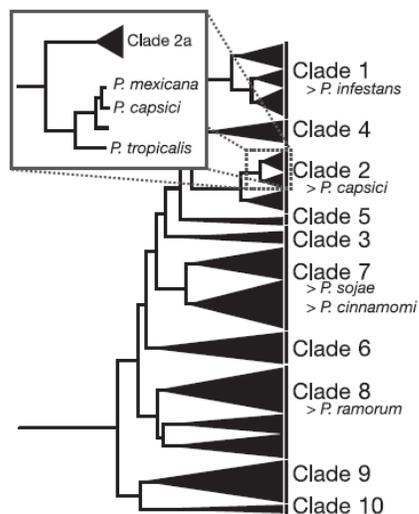
**Figura 5.** Principales características de *Phytophthora capsici*. (Andrade-Luna *et al.*, 2017). En la imagen superior izquierda se muestran los esporangios alargados llenos de zoosporas. En la imagen superior derecha se muestra la oospora, mientras que en la imagen inferior se puede observar un esporangio.

Inicialmente se consideraba un patógeno específico del Chile, sin embargo, estudios posteriores demostraron su amplio rango de hospedantes con más de 50 especies de plantas confirmadas (Aristizábal y Torres, 2015). El primer reporte de esta enfermedad en México se llevó a cabo en 1956 por J. Galindo Alonso, en los cultivos de Chile (*C. annuum*) del centro del país. Describiéndose posteriormente en cultivos de *C. frutescens*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita* sp., *Solanum lycopersicum* y *Fragaria x ananassa* infectados (Sanogo y Bosland, 2013). Siendo las cucurbitáceas, solanáceas, apiáceas, lauráceas, así como diversas ornamentales de importancia comercial las que se ven principalmente afectadas por el patógeno. Generalmente la infección comienza en la base del tallo, generando necrosis a su alrededor y generando un efecto de estrangulamiento que evita el paso de agua y nutrientes

hacia la parte aérea de la planta, produciendo la pérdida de turgencia en sus estructuras y posteriormente damping-off y muerte de la planta (Granke *et al.*, 2012).

En México, las características morfológicas de *P. capsici* no varían sustancialmente con las reportadas en otros países. Sin embargo, destaca la presencia de clamidiosporas terminales o intercaladas en los aislamientos de plantas ornamentales. Por otro lado, si bien el oomiceto es capaz de infectar cualquier parte de la planta, las infecciones aéreas resultan esporádicas, ya que las principales áreas donde se cultiva esta hortaliza presentan baja humedad relativa en altas temperaturas (25-28 °C). Siendo la temporada de lluvias, generalmente agosto y septiembre, en donde se presenta el mayor daño, con pérdidas de hasta el 100% principalmente en regiones con suelos mal drenados (Fernández-Pavía *et al.*, 2013).

Este oomiceto comparte diversas características morfológicas con otras especies, como es el caso de *P. tropicalis*, lo que conllevaba a una identificación confusa y errada del patógeno causante de la enfermedad (Granke *et al.*, 2012). Como menciona Lamour y Komoun (2009), la mayoría de aislamientos de *P. capsici* son hospederos de las plantas anuales, mientras que la mayoría de *P. tropicalis* lo son de hospederos perennes leñosos, siendo su distinción mediante criterios morfológicos (ej. Clamidiosporas), origen geográfico y preferencias de temperaturas prácticamente inexistente (Lamour y Kamoun, 2009 no está en referencia –año-). Sin embargo, con la llegada de las técnicas moleculares y el apoyo de estudios filogenéticos han ayudado a su correcta diferenciación, por lo que ahora resulta más certera su identificación. Estudios con marcadores moleculares revelan que ambas especies están estrechamente relacionadas, aunque evolutivamente resultan distintas (**Figura 6**).



**Figura 6.** Árbol filogenético de *Phytophthora*. Las especies se agrupan en 10 clados. Ubicándose a *P. capsici*, junto a *P. tropicalis* y *P. mexicana* en el clado 2b (Lamour *et al.*, 2012).

Por otro lado, debido a que su diseminación se limita a las salpicaduras de agua y corrientes superficiales, a diferencia de otros patógenos que se diseminan fácilmente por el viento, existe una gran diversidad genética entre las poblaciones de este oomiceto, la gran cantidad de razas dentro de la especie es fácilmente distinguible mediante técnicas de caracterización morfológica, fisiológica y molecular (Sanogo y Bosland, 2013). Si bien, los estudios aun resultan insuficientes para conocer las dinámicas poblacionales del *P. capsici*, se ha comprobado poblaciones altamente dinámicas y diferentes según la ubicación geográfica en lo que se encuentran (Lamour y Kamoun, 2009).

En 2005 se lanzó el proyecto de genoma para *P. capsici*, en el cual se buscaba generar un borrador del genoma, así como desarrollar marcadores moleculares codominantes. La información recaudada se encuentra concentrada en GenBank. La mayoría de variaciones genéticas se han detectado mediante marcadores anónimos, en 2010 ya se habían amplificado y secuenciado más de 40 genes, encontrando variación significativa entre *P. capsici* y *P. tropicalis*, encontrándose en *P. capsici* polimorfismos de aproximadamente 200 bases, mientras que en *P. tropicalis* mostró 100 bases adicionales en comparación, reflejando la separación evolutiva entre las dos especies (Lamour y Kamoun, 2009).

### 2.2.2. Taxonomía

Anteriormente, los oomicetos se clasificaban dentro del reino Fungi, debido principalmente a las similitudes morfológicas que comparten con los hongos verdaderos, así como a los síntomas que causan en los tejidos infectados. Sin embargo, con la aplicación de técnicas moleculares, como es la secuenciación de DNA, éstos se reagruparon en el reino Chromista (Aristizábal y Torres, 2015). Al igual que las algas pertenecientes a este reino, presentan forma filamentosa, la capacidad de liberar esporas natatorias libres con dos flagelos y presentar pelos flagelares en uno de ellos, asimismo, se caracterizan por presentar mitocondrias con crestas tubulares, así como la capacidad de sintetizar lisina a través de la vía del ácido diaminopimélico (Walker y Van West, 2007).

La clasificación taxonómica actualmente aceptada de este organismo se muestra a continuación en el **Cuadro 4** (Lamour *et al.*, 2012).

**Cuadro 4.** Clasificación taxonómica de *Phytophthora capsici*

<b>Categoría</b>	<b>Taxón</b>
Reino	Chromista
Phylum	Oomycota
Clase	Oomycetes
Orden	Perenosporales
Familia	Perenosporaceae
Género	<i>Phytophthora</i>
Especie	<i>capsici</i>

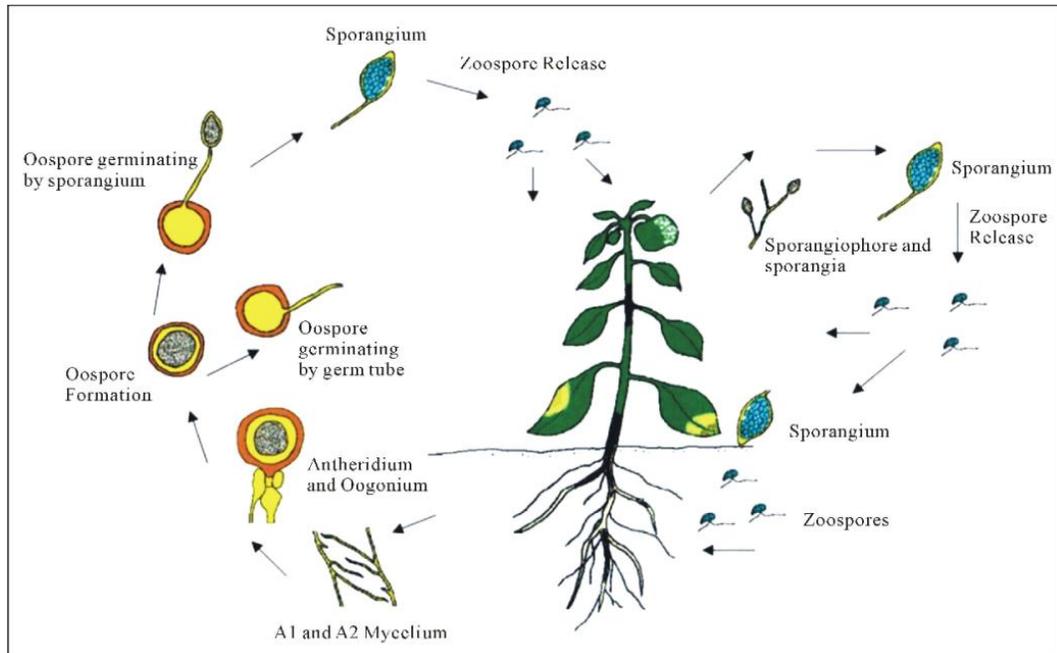
### 2.2.3. Ciclo de vida

*P. capsici* es hemibiotrófico y es capaz de infectar diferentes estratos de su hospedante. Asimismo, cuenta con la capacidad de reproducirse tanto sexual como asexualmente, *P. capsici* cuenta con una capacidad de adaptación extraordinario, ya que la reproducción sexual aprueba la recombinación genética que le permite adaptarse fácilmente a las condiciones adversas del medio, siendo ejemplo de esto la resistencia a fungicidas y el aumento de la virulencia que originan cepas difíciles de controlar (Granke *et al.*, 2012).

Para que la reproducción sexual se lleve a cabo, debe coincidir la presencia de ambos tipos de compatibilidad (A1 y A2) dentro de los aislamientos. Cada uno de ellos produce hormonas que diferencian la gametangia de cada tipo de apareamiento, siendo el antheridium el gametangium masculino y el oogonio el gametangium femenino (Ristaino y Johnston, 1999). Como lo menciona Lamour *et al.* (2012), para que la reproducción por medio de meiosis pueda concretarse, es necesaria una fuente de esteroides, ya que el oomiceto es incapaz de sintetizarlo, por lo que los obtienen del medio en el que se desarrollan. Además, se requiere de un proceso de estimulación entre los grupos de compatibilidad, los cuales constan de 3 facetas principales:

- 1) Contacto de los tipos de compatibilidad y recepción de factores de apareamiento a través de la membrana.
- 2) Se produce la gametangia masculino (antheridia) y femenino (oogonial).
- 3) Crecimiento de anteridios a través de la gametangia oogonial.

En la **Figura 7** se observa tanto la fase sexual como la asexual; la sexual ocurre cuando los dos tipos de compatibilidad entran en contacto, produciéndose un tubo germinativo que permite el intercambio de núcleos haploides (gametangia), lo cual puede tardar de 3 a 5 días bajo condiciones favorables, proceso que da lugar al surgimiento de oosporas, las cuales pueden permanecer latentes en el suelo por largos periodos de tiempo, incluso años, aún sin la presencia de su hospedante. La germinación de éstas se ve influenciada por diversas condiciones ambientales como la luz, temperatura, humedad, periodo de latencia, nutrición y los tratamientos químicos a los que son sometidas (Lamour *et al.* 2012). Si las condiciones son favorables, las oosporas reciben los estímulos necesarios para germinar y producir tubos germinales capaces de infectar directamente a las plantas, posteriormente estos tubos se ramifican para formar micelio, o bien, producir esporangios en apéndices largos. Estos últimos tienen un engrosamiento en la pared lateral formando una papila prominente, siendo menos longevos y resistentes que las oosporas (Lamour *et al.*, 2012). Por otro lado, la reproducción asexual consiste en la disseminación de los esporangios maduros.



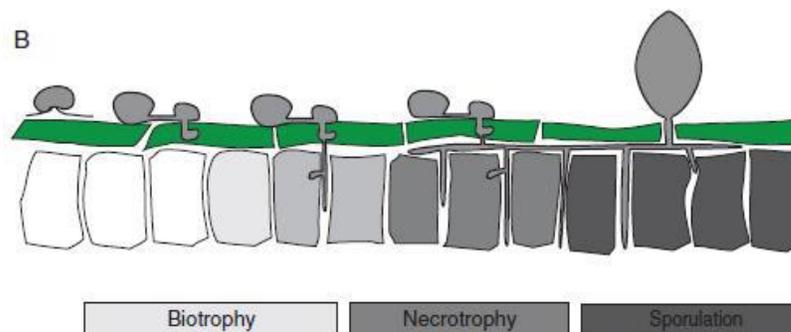
**Figura 7.** Ciclo biológico de *P. capsici* (Nguyen, 2015).

Asimismo, los esporangios pueden infectar directamente una nueva planta o bien, producir de 20 a 40 zoosporas biflageladas, capaces de infectar cada una, una nueva planta diferente. Éstas son anti geotrópicas y nadan hacia la superficie del suelo en busca de tejidos vegetales utilizando señales quimiotácticas para localizarlas (Granke *et al.*, 2012). Al llegar a la planta, la zoospora se adhiere a la superficie formando un quiste y generan un tubo germinal con el cual penetran la cutícula externa de las plantas y ya en su interior, las hifas se ramifican a través de las células para adquirir los nutrientes y elementos necesarios para su desarrollo. Una vez que se ha pasado el estadio biotrófico y necrotrofico, se producen nuevos esporangios capaces de iniciar un nuevo ciclo de infección (Castro *et al.*, 2012).

La liberación de zoosporas requiere de presión hidrostática dentro del esporangio, la cual está regulada por la prolina citoplásmica, la cual actúa como osmolito. Una vez liberadas las zoosporas, la regulación osmótica de las zoosporas se controla mediante la vacuola, eliminando el exceso de agua para mantener una concentración estable dentro de la célula. Una vez libres, la principal función de las zoosporas es la transmisión de un hospedero a otro, siendo también fundamental para atacar el sitio de la infección. Las zoosporas son células simples con núcleo definido y sin paredes celulares. Tienen forma de “frijol”, ya que presentan

un surco ventral lateral de la que salen los dos diferentes flagelos. Presentan un flagelo de oropel (anterior) y uno de látigo (posterior). La función del flagelo anterior es el impulsar a la zoospora a través del agua, mientras que la del flagelo posterior es de actuar como timón. Una vez que encuentra un sitio adecuado para establecerse, la zoospora se enquistada quedando adherida a la superficie del tejido, mediante la rápida formación de pared celular, los flagelos se contraen (Walker y Van West, 2007).

La infección comienza cuando producen un tubo germinal que secreta enzimas que le permiten penetrar la cutícula de la planta y colonizar los tejidos del huésped, dando como resultado el colapso y esporulación de las células. En óptimas condiciones de temperatura y humedad, el tiempo entre la infección y la esporulación es de 2 a 3 días. En ensayos con *Nicotiana benthamiana* observaron que en una fase temprana se presentan hifas (haustorios) que empujan la membrana celular del hospedero hacia el interior, formando una interfaz directa huésped-patógeno, presentando así la fase biotrófica de la infección. Posteriormente las hifas penetran al interior de las células del huésped produciendo necrosis y el colapso de éstas (fase necrotrófica) para finalmente llegar a la fase de esporulación (**Figura 8**), en la cual se presentan las condiciones adecuadas para la aparición de los esporangios, los cuales dan lugar a un nuevo ciclo de infección (Lamour *et al.*, 2012).



**Figura 8.** Proceso de infección llevado a cabo por una zoospora (Lamour *et al.*, 2012).

#### 2.2.4. Estrategias de manejo

Desde el descubrimiento de esta enfermedad, todos los esfuerzos para su manejo se han enfocado en interrumpir el avance de la infección, por lo que se han adoptado diversas estrategias de control químico, biológico y cultural (González-Chavira *et al.*, 2015). Asimismo, se alienta al productor a adoptar todas las medidas preventivas, mediante la combinación de estrategias que permitan el manejo de la enfermedad (Lamour y Kamoun, 2009). Sin embargo, el éxito de estas combinaciones se ve influenciadas por las condiciones del cultivo, las variedades cultivadas, la raza de *P. capsici* presentes y las características del suelo, por lo que se recomienda un monitoreo constante y la adaptación de las medidas de control a las condiciones específicas de la región en las cuales se aplicarán (Lozano *et al.*, 2015). Al respecto, se puede afirmar que actualmente no existe una metodología que garantice la protección del cultivo, especialmente cuando las condiciones ambientales son favorables para el oomiceto (Castro *et al.*, 2012).

En el control cultural se busca aplicar una serie de prácticas preventivas, mediante las cuales se evite la introducción del oomiceto a los cultivos o bien tomar las medidas adecuadas que permitan disminuir los niveles de inóculo presentes. Para ello se recomienda sembrar en suelos con buen drenaje, sembrar en surcos altos y desinfectar las semillas (Alevar-Mejía *et al.*, 2010). Se ha observado que la rotación de cultivos resulta ineficiente, debido principalmente al alto rango de hospedantes con los que cuenta este oomiceto, así como a la resistencia presentada por las oosporas, ya que pueden sobrevivir durante años en ausencia de plantas hospedantes, ante la desecación y las bajas temperaturas (Castro *et al.*, 2012).

La aplicación de fungicidas sintéticos ofrece resultados visibles para los agricultores en cortos periodos de tiempo. Sin embargo, su aplicación intensiva ha generado diversas problemáticas que van desde contaminación ambiental, problemas a la salud y presión de selección que ha ocasionado el surgimiento de cepas resistentes a estos fungicidas (Palma-Martínez *et al.*, 2017). La creciente demanda de agroquímicos y la preocupación de la sociedad ante las múltiples problemáticas que su implementación implican, han generado una fuerte presión hacia la generación de alternativas de manejo ambientalmente aceptables. Una de estas alternativas es la aplicación de microorganismos antagonistas a *P. capsici* ya que

estos pueden competir por espacio y nutrientes, la producción de metabolitos e incluso pueden llegar a inducir resistencia en las plantas, ejemplo de ellos son diversas especies de *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Penicillium* y *Bacillus* (Muñoz-Medina *et al.*, 2018).

Por otra parte, el aprovechamiento de genotipos de plantas resistentes al oomiceto, representa una estrategia promisoriosa y ambientalmente sana. Siendo el cultivo de genotipos resistentes una opción sostenible para amortiguar los daños ocasionados por *P. capsici* de manera compatible con el ambiente, que a su vez conserven las características deseadas por los consumidores. Para ello, se busca transferir la resistencia genética presente en los genotipos criollos y silvestres a las variedades comerciales mediante métodos de mejoramiento genético (Palma-Martínez *et al.*, 2017).

### **2.3. Resistencia genética a *P. capsici* en *Capsicum* spp.**

La resistencia genética es la capacidad que tienen las plantas para reducir el crecimiento, desarrollo y multiplicación del patógeno (Niks *et al.*, 1993). Son muchos los factores que intervienen en las interacciones *P. capsici*-hospedero, los cuales incluyen el alto nivel de variabilidad genética entre los aislamientos, variabilidad del hospedante, edad de las plantas y ubicación de los cultivos, así como los niveles de inóculo (Lamour y Kamoun, 2009). Para cada síndrome de la enfermedad (pudrición de la raíz, tizón foliar, tizón del tallo y tizón del fruto), requieren la presencia de resistencia independientes para el control los mismos (Foster y Hausbeck, 2010).

La herencia ontogénica o bien resistencia relacionada con la edad, la cual, suele ser heredable y dirigida por al menos dos genes, es un mecanismo que le da a la planta una mayor resistencia al ataque de patógenos conforme sus tejidos van madurando, lo que se traduce en la fluctuación de la severidad del daño causado por *P. capsici* según la edad de las plantas, por lo que el daño causado por el oomiceto al infectar a una planta de chile desarrollada será significativamente menor que el causado al infectar una plántula. Sin embargo, hasta el momento ha sido poco explorada para su aplicación en los sistemas de producción (Sanogo y Ji, 2012; Cosme-Velázquez *et al.*, 2015). El estudio de las fitoalexinas también resulta de interés debido a su participación dentro de la resistencia. Las fitoalexinas son compuestos

antimicrobianos de bajo peso molecular que se sintetizan y acumulan en las plantas después de la invasión de un fitopatógeno; solo se acumulan en tejidos dañados o muertos (no es sistémica), por lo que se asocian a la necrosis de las plantas. La principal fitoalexina presente en *C. annuum* es el capsidiol, del cual ya es conocida su acción en la respuesta de resistencia frente a patógenos. La acumulación de capsidiol se relaciona directamente con la invasión fúngica, observándose que a mayor cantidad de capsidiol acumulado en los tejidos, menor es la longitud de la necrosis del tallo. Lo anterior confirma la evolución directa del capsidiol en la inhibición fúngica y, por tanto, su función en la resistencia a la marchitez inducida por *P. capsici* (Egea *et al.*, 1996).

La resistencia de *Capsicum* spp. tiene herencia poligénica basada en distribuciones multimodales y efecto de epistasia de orden superior. Se han tratado de identificar los loci de rasgos cuantitativos (QTL, por sus siglas en inglés) y así transferirlos a cultivares comerciales de interés, aunque éstos también se asocian a la resistencia específica a razas. Hasta el momento, se han identificado más de 45 genotipos con diferentes genes R que controlan diferentes razas fisiológicas de *P. capsici* (Barchenger *et al.*, 2018).

Son pocos los genes de resistencia identificados en la herencia de la resistencia del patosistema *P. capsici*-*C. annuum*. Con la aplicación de los microarreglos de DNA complementarios (DNAc) se lograron identificar 168 genes expresados diferencialmente después de la inoculación con *P. capsici* en las raíces de *C. annuum* tanto en genotipos resistentes como susceptibles, de los cuales solo 22 diferenciaron a los resistentes de los susceptibles. Sin embargo, los genes identificados aun resultan insuficientes para comprender la interacción entre estos organismos en su totalidad (Sanogo y Bosland, 2013).

Diversos autores han demostrado que cuando un genotipo de Chile es susceptible a la infección por *P. capsici* es por falta de genes R o bien, por la presencia de un gen inhibidor. Reeves *et al.* (2013), reportaron un gen dominante que logra inhibir la resistencia poligénica del huésped (*Ipcr*) en muchos de los aislados de *P. capsici* al ser inoculado en diferentes partes de la planta.

La mayoría de fuentes de genotipos de Chile con altos grados de resistencia a *P. capsici* han sido encontrados en México, Centroamérica y Sudamérica, por lo que se cree que el centro de origen de este oomiceto sea en uno de estos lugares. La virulencia del oomiceto y la

resistencia específica de la planta es resultado de la coevolución entre estos dos organismos, lo que explicaría la constante evolución de *P. capsici* para superar la resistencia del hospedero (Barchenger *et al.*, 2018).

Se han invertido grandes esfuerzos para crear cultivares resistentes, pero, hoy día solo se han lanzado al mercado genotipos con cierto grado de resistencia a *P. capsici*. Sin embargo, el oomiceto tiene la capacidad de mutar y evolucionar hacia un nuevo tipo de virulencia o la especialización del parasitismo contra los genes de resistencia insertados en las plantas (Mo *et al.*, 2014). Actualmente, ya se cultivan genotipos con cierto nivel de resistencia, como el “Paladín” por ejemplo, después de cultivarlo paulatinamente, *P. capsici* desarrolló un nuevo tipo de virulencia superando la resistencia del genotipo cultivado. Lo que demuestra que la resistencia genética a las enfermedades puede ser fácilmente superado por la gran adaptabilidad de *P. capsici* (Barchenger *et al.*, 2018).

La diversidad genética de genotipos silvestres y criollos de las plantas representan una gran fuente de recursos de los cuales se pueden obtener características deseables que faciliten la resolución de problemáticas agrícolas, como son mejorar la calidad y productividad de los cultivos, así como la tolerancia o resistencia a plagas, enfermedades y factores abióticos. México cuenta con la ventaja de contar con poblaciones de plantas silvestres que están estrechamente relacionadas con cultivares comerciales de importancia económica y alimentaria, sin embargo, hasta el momento no han sido aprovechados adecuadamente, por lo que estos reservorios se han perdido gradualmente. Se tienen registro de la presencia de poblaciones silvestres de *C. annuum*, *C. frutescens* y de dos especies que aún no se han aprovechado para su cultivo *C. ciliatum* y *C. lanceolatum* (Hernández-Verdugo *et al.*, 1998).

Esta gran variedad genética ha proporcionado diversos genotipos de Chile con diferentes grados de resistencia al oomiceto *P. capsici*, como son el genotipo Criollo de Morelos CM334, Chilhuacle Amarillo (PI 201231) y el Chile Criollo (PI 566811), de los cuales, el genotipo CM334 destaca por su alto grado de resistencia a todos los aislados, considerándose como universalmente resistente. Sin embargo, su uso en variedades comerciales no ha sido concretado debido a que la herencia de esta característica resulta compleja (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2017); diversos estudios han demostrado loci de rasgos cualitativos (QTL) en los cromosomas 4, 5, 6, 11 y 12 involucradas en la resistencia, por lo

que se considera resistencia de tipo cuantitativo (Palma-Martínez *et al.*, 2017). Esto difiere de los reportes que indican que el factor de resistencia del cromosoma 5 es el que comúnmente se encuentra en todos los genotipos con presencia de resistencia contra oomicetos en general (Castro *et al.*, 2012).

Aun cuando el cultivo de plantas resistentes resulta en una alternativa rentable y racional, la obtención de variedades resistentes a *P. capsici* resulta compleja, debido principalmente a que el oomiceto causa daños diferentes a cada genotipo, haciendo difícil la protección contra la enfermedad si se presentase en partes distintas de la planta. En diversas instituciones de México se lleva a cabo la búsqueda de fuentes confiables de resistencia genética en poblaciones de chiles silvestres, aunque aún no se ha logrado encontrar un genotipo que proporcione las mismas características de resistencia como el genotipo Criollo de Morelos (CM334) que resulten transferibles a las variedades comerciales; sin embargo, éste ya se emplea como portainjertos (Fernández-Pavía *et al.*, 2013).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Material vegetal

Se usaron semillas de 14 genotipos criollos y uno silvestre, además se incluyeron como controles a los genotipos cv. California Wonder (CW) (susceptible) y Criollo de Morelos 334 (CM334) (resistente) (**Cuadro 5**). Las semillas se desinfectaron superficialmente con una solución de NaClO al 1% (v/v), y se germinaron en peatmoss esterilizado o en cámara húmeda a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Las plántulas se trasplantaron a macetas conteniendo  $25 \text{ cm}^3$  de arena esterilizada (una plántula por maceta), y se mantuvieron en cámara de crecimiento a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  con un fotoperiodo de 14 h. El riego fue con agua esterilizada (AE), y la fertilización (12-12-17) quincenalmente (3.15 g por litro de AE).

**Cuadro 5.** Genotipos de chile (*Capsicum* spp.) empleados en los experimentos.

Genotipo	Especie	Procedencia
GCH-1	<i>C. annuum</i>	Oaxaca
GCH-2	<i>C. annuum</i>	Oaxaca
GCH-4	<i>C. annuum</i>	Oaxaca
GCH-5	<i>C. annuum</i>	Michoacán
GCH-6	<i>C. annuum</i>	Michoacán
GCH-7	<i>C. pubescens</i>	Michoacán
GCH-8	<i>C. pubescens</i>	Michoacán
GCH-9	<i>C. annuum</i>	Michoacán
GCH-10	<i>C. annuum</i>	Michoacán
GCH-11	<i>C. annuum</i>	Michoacán
GCH-12	<i>C. annuum</i>	Michoacán
<sup>a</sup> GCH-13	<i>C. annuum</i>	Michoacán
GCH-14	<i>C. annuum</i>	Veracruz
GCH-15	<i>C. chinense</i>	Tabasco
GCH-17	<i>C. annuum</i>	Michoacán
CW	<i>C. annuum</i>	-----
CM334	<i>C. annuum</i>	Morelos

<sup>a</sup>GCH-13 = Genotipo de chile silvestre

### 3.2. Inóculo e inoculación con *Phytophthora capsici*

Se usó la cepa 6143 (Nuevo México, USA) proporcionada por la Dra. S. Fernández-Pavía (Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo). El oomiceto se multiplicó en medio de cultivo V8 a  $27 \pm 1$  °C, y una vez que el micelio cubrió la superficie del medio, el contenido de la caja se fragmentó en cuatro porciones. Cada porción se trató con una solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9% (Abbott®) por 10 min, y posteriormente se transfirió a una caja Petri conteniendo 20 mL de agua destilada estéril. Las cajas se mantuvieron bajo luz fluorescente a temperatura ambiente por 48 h. Para inducir la liberación de las zoosporas, el contenido de las cajas se mantuvo a -20 °C durante 15 min y posteriormente durante 20 min a temperatura ambiente (~26°C). El contenido acuoso de las cajas se colectó en un recipiente (**Figura 9**) para posteriormente cuantificar el número de zoosporas utilizando un hematocitómetro (Marienfeld®). La inoculación se efectuó cuando las plantas presentaron entre cuatro y seis hojas verdaderas, para ello, se colocó una suspensión de 100,000 zoosporas en la base del tallo de cada planta.



**Figura 9.** Colecta de zoosporas para su posterior conteo.

### 3.3. Experimentos

**Análisis de severidad.** Para evaluar la severidad se usó la escala propuesta por Sanogo (2006), la cual mide el nivel de daño visible en las plantas como resultado de la infección por *P. capsici* (**Cuadro 6**). Se establecieron dos experimentos independientes (Experimento 1 y

2). El diseño fue completamente al azar con 10 y 8 repeticiones por tratamiento respectivamente.

**Cuadro 6.** Escala de severidad según el daño visible causado por *P. capsici*

Nivel de daño	Daño visible
0	Sin síntomas visibles
1	Necrosis en la base del tallo sin rodearlo
2	Necrosis circundante alrededor del tallo
3	Necrosis circundante alrededor del tallo y menos de 50% de defoliación
4	Necrosis circundante en la base del tallo y más de 50% de defoliación
5	Planta marchita
6	Planta muerta

En el experimento 1, se evaluaron los genotipos GCH-1, GCH-2, GCH-5, GCH-6, GCH-7, GCH-8, GCH-9, GCH-10, GCH-11, GCH-12, GCH-13, GCH-15, GCH-17, cv C. Wonder, y CM334. En el experimento 2 se consideraron dos genotipos adicionales GCH-4 y GCH-14. En ambos experimentos, las evaluaciones se llevaron a cabo a los 7, 14 y 21 días posteriores a la inoculación (dpi) con *P. capsici*. Según la escala, los genotipos que presentaron valores iguales o menores a 2.5 se consideraron resistentes, mientras que aquellos con valores mayores a 2.5 fueron considerados susceptibles.

#### **Detección molecular de *P. capsici* en chiles criollos mediante PCR de punto final**

En este experimento (experimento 3), los tratamientos fueron: GCH-2, GCH-10, CM334 y CW (cv. California Wonder). Se realizaron muestreos de tallos y raíces a los 3, 7, y 14 dpi. Las muestras se congelaron con N<sub>2</sub> líquido, y se almacenaron en ultracongelación para la posterior extracción de DNA.

La extracción de DNA total se realizó usando el DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La pureza e integridad de RNA fue verificada por espectrofotometría y por electroforesis en gel de agarosa al 1%, respectivamente. Para la detección molecular se usaron iniciadores específicos CAPFW: 5' TTTAGTTGGGGTCTTG TACC 3', y CAPRV1: 5' CCTCCACAACCAGCAACA 3', los cuales amplifican un fragmento de 452 pb de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) de *P.*

*capsici* (Silvar *et al.*, 2005). La PCR se realizó en un termociclador T100<sup>TM</sup> (Biorad) en un volumen de reacción de 25  $\mu$ L que consistió de 250 ng de DNA, buffer 10X, 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM de dNTPs (Bioline), amplificasa (Biotecmol), 0.4  $\mu$ M de iniciadores CAPFW/CAPRV1 y agua libre de nucleasas. Las condiciones de amplificación fueron una desnaturalización inicial a 94°C por 5 min, seguido de 35 ciclos a 94°C por 30 s, alineamiento a 60°C por 35 s, extensión a 72°C por 35 s; y una extensión final a 72°C por 10 min. Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en gel de agarosa a 1 %, usando TAE 1x como buffer de corrida. El buffer de carga consistió de una mezcla de Orange G y GelRed (Biotum). El procedimiento se ejecutó a 100 V por 40 min. Para la visualización del DNA se utilizó un transiluminador UV (ChemiDoc<sup>TM</sup> XRS + imaging system, BioRad).

### **3.3.1. Análisis estadístico**

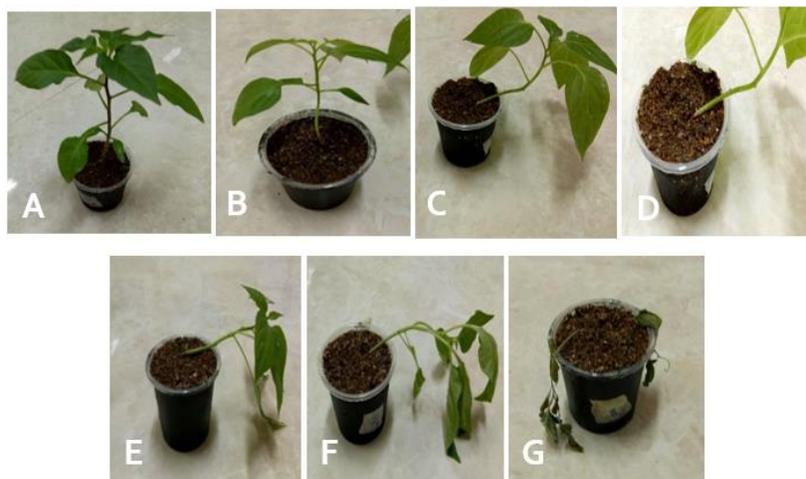
Los datos de las variables evaluados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA), y a un análisis de comparación de medias con el método de Tukey ( $\rho \leq 0.05$ ), utilizando el programa SAS versión 9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Evaluación de severidad

#### 4.1.1. Experimento 1

En el primer experimento, desde los primeros 3 dpi, varios de los genotipos comenzaron a mostrar los síntomas típicos de la enfermedad, como defoliación y marchitamiento, pero sin llegar a la muerte de la planta (**Figura 10**). A los 7 dpi solo los genotipos GCH-2, GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-10, GCH-11, el genotipo silvestre GCH-13, así como el control resistente CM334 mostraron una incidencia de plantas muertas menor al 50%. La severidad de la enfermedad se hizo más evidente a los 14 dpi, ya que los genotipos GCH-1, GCH-7, GCH-8, GCH-15, GCH-17 y el control CW presentaron el 100% de plantas muertas; mientras que los genotipos GCH-11 y GCH-12 superaron el 50% de plantas muertas. Finalmente, a los 21 dpi, el genotipo GCH-12 presentó la totalidad de sus plantas muertas, mientras que los genotipos GCH-5, GCH-6, GCH-9, GCH-11 y GCH-13 mostraron el 70, 50, 60, 80 y 70% de plantas muertas respectivamente. Asimismo, el genotipo GCH-10 mostró un alto índice de mortalidad del 40%, por otro lado, el genotipo GCH-2 mostró un bajo número de plantas muertas (10%) al término del experimento. Como era de esperarse, el genotipo control CM334 mostró un alto nivel de resistencia (presentando 0% de plantas muertas) (**Cuadro 7**).



**Figura 10.** Etapas del nivel de daño causado por *P. capsici* de acuerdo a la escala

propuesta por Sanogo (2006). **A:** Planta sana; **B:** mancha necrótica en la base del tallo; **C:** anillo necrótico en la base del tallo; **D:** anillo necrótico con menos del 50% de defoliación; **E:** anillo necrótico con más del 50% de defoliación; **F:** marchitez; **G:** planta muerta.

**Cuadro 7.** Porcentaje de sobrevivencia de plantas de chile (*Capsicum* spp.) inoculadas con *P. capsici* (Experimento 1).

Genotipo	Días post-inoculación con <i>P. capsici</i>		
	7	14	21
GCH-1	40	0	0
GCH-2	100	100	90
GCH-5	90	60	30
GCH-6	90	60	50
GCH-7	30	0	0
GCH-8	40	0	0
GCH-9	90	80	40
GCH-10	80	60	60
GCH-11	80	40	20
GCH-12	50	30	0
GCH-13	100	80	30
GCH-15	20	0	0
GCH-17	30	0	0
cv. C. Wonder	30	0	0
CM334	100	100	100

CW: California Wonder (Control susceptible); CM334 (Control resistente).

A los 7dpi con *P. capsici*, los genotipos GCH-2, GCH-5, GCH-9, GCH-10, GCH-13, así como el control resistente CM334, registraron valores de severidad menores al estándar establecido ( $\leq 2.5$ ), mostrando ser resistentes a este primer tiempo de evaluación. A los 14 dpi, la mayoría de éstos obtuvieron un valor superior a 2.5, siendo solo los genotipos GCH-2 y CM334 los que se mantuvieron por debajo de estándar establecido, con evaluaciones de 1.6 y 0.0 respectivamente. No obstante, al final del experimento (21 dpi), la mayoría de las plantas del genotipo GCH-2 exhibieron altos niveles de daño y la muerte de uno de sus materiales, razón por la cual este fue considerado como susceptible al oomiceto al presentar una evaluación de 2.7 (**Cuadro 8**). Es en la última evaluación es en donde pueden verse claras

diferencias entre los genotipos evaluados, resultando ser estadísticamente diferentes al control resistente CM334.

**Cuadro 8.** Severidad inducida por *P. capsici* en genotipos de chile (*Capsicum* spp.)

Genotipo	Severidad (0-6) <sup>†</sup>		
	7	14	21
GCH-1	5.6±0.16 <sup>ab</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-2	0.4±0.24 <sup>c</sup>	1.6±0.56 <sup>cd</sup>	2.7±0.73 <sup>c</sup>
GCH-5	1.2±0.66 <sup>de</sup>	4.5±0.60 <sup>ab</sup>	5.3±0.37 <sup>ab</sup>
GCH-6	3.3±0.62 <sup>bcd</sup>	4.1±0.74 <sup>ab</sup>	4.2±0.76 <sup>abc</sup>
GCH-7	5.6±0.22 <sup>ab</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-8	5.6±0.16 <sup>ab</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-9	2.1±0.60 <sup>de</sup>	3.8±0.73 <sup>abc</sup>	4.4±0.78 <sup>abc</sup>
GCH-10	2.3±0.79 <sup>cde</sup>	3.5±0.83 <sup>bc</sup>	3.7±0.84 <sup>bc</sup>
GCH-11	3.5±0.70 <sup>abcd</sup>	4.9±0.50 <sup>ab</sup>	5.7±0.21 <sup>ab</sup>
GCH-12	4.3±0.78 <sup>abc</sup>	5.7±0.15 <sup>ab</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-13	2.1±0.59 <sup>cde</sup>	3.7±0.72 <sup>bc</sup>	5.2±0.42 <sup>ab</sup>
GCH-15	5.8±0.13 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-17	5.8±0.13 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
cv. C. Wonder	5.7±0.15 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
CM334	0.0±0.00 <sup>e</sup>	0.0±0.00 <sup>d</sup>	0.0±0.00 <sup>d</sup>

Los valores representan la media ± error estándar (n=10). Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ). CW: California Wonder (Control susceptible); CM334 (Control resistente). <sup>†</sup>0: Sin síntomas visibles; 1: Necrosis en la base del tallo sin rodearlo; 2: Necrosis circundante alrededor del tallo; 3: Necrosis circundante alrededor del tallo y menos de 50% de defoliación; 4: Necrosis circundante en la base del tallo y más de 50% de defoliación; 5: Planta marchita; 6: Planta muerta (Sanogo, 2006).

En el **Cuadro 9**, se simplifican los resultados obtenidos durante las evaluaciones, asignando una R a los genotipos resistentes y una S a los que resultaron susceptibles. Como se mostró en el cuadro anterior (**Cuadro 8**), en la primera evaluación 6 de los genotipos evaluados se mostraron resistentes a la infección del oomiceto, mientras que para la segunda evaluación (14 dpi), los daños observables en las plantas de todos los genotipos, a excepción

de los genotipos GCH-2 y CM334, mostraron ser susceptibles. Mientras que, a los 21 dpi la tolerancia mostrada por el genotipo GCH-2 sucumbió ante la infección por *P. capsici*, siendo el genotipo control CM334 el único que mantuvo su resistencia hasta el final.

**Cuadro 9.** Respuesta inducida por *P. capsici* en genotipos de chile (*Capsicum* spp.).

Genotipo	Respuesta		
	7	14	21
GCH-1	S	S	S
GCH-2	R	R	S
GCH-5	R	S	S
GCH-6	S	S	S
GCH-7	S	S	S
GCH-8	S	S	S
GCH-9	R	S	S
GCH-10	R	S	S
GCH-11	S	S	S
GCH-12	S	S	S
GCH-13	R	S	S
GCH-15	S	S	S
GCH-17	S	S	S
CW*	S	S	S
CM334*	R	R	R

R: resistente, S: susceptible. CW: cv. California Wonder (Control susceptible); CM334 (Control resistente).

Los resultados obtenidos hacen posible asociar la respuesta de resistencia con el bajo porcentaje de plantas muertas, así como con un bajo nivel de severidad en las plantas. Por lo que los genotipos que mostraron mayor índice de plantas muertas, con un alto grado de severidad mostraron ser susceptibles al oomiceto. Por otro lado, también se presentó al final del experimento un genotipo susceptible (GCH-2) con un bajo porcentaje de plantas muertas (10%) que, sin embargo, mostró un promedio de severidad alto.

#### 4.1.2. Experimento 2

En el experimento 2, en varios genotipos los síntomas típicos de marchitez fueron notables a partir de los 3 dpi, sin la presencia de plantas muertas. A los 7 dpi, la mayoría de los genotipos presentaron 0% de plantas muertas, a excepción de GCH-8 y GCH-10 quienes presentaron 12.5% de mortalidad, mientras que GCH-1, GCH-7, presentaron el 37.5% y 50% respectivamente. A los 14 dpi, el genotipo GCH-6 y CM334 mantuvieron el 100% de sobrevivencia, mientras que los genotipos GCH-9, GCH-10, GCH-11 y GCH-13 presentaron el 12.5% de plantas muertas. Los genotipos GCH-4 y GCH-5, tuvieron el 25% de plantas muertas y los genotipos GCH-2, GCH-14 y GCH-17 presentaron una incidencia superior al 37.5%. Por otro lado, el resto de los genotipos presentaron valores superiores al 50% de mortalidad, así, GCH-1, GCH-8 y GCH-12 registraron un 62.5% de mortalidad, mientras que el cv. California Wonder, GCH-7 Y GH-15, presentaron el 75%, 87.5% y 100% respectivamente.

A los 21 dpi, los genotipos GCH-1, GCH-7, GCH-8, GCH-13, GCH-14 y GCH-15 mantuvieron los mismos porcentajes de plantas muertas que los reportados a los 14 dpi. Asimismo, los genotipos GCH-10 y CM334 mantuvieron los mismos valores durante las tres evaluaciones (7-14 y 21 dpi), con 12.5% y 0% respectivamente. Por otro lado, en el resto de los genotipos se observó un incremento en el número de plantas muertas, así, los valores correspondieron a GCH-9 (37.5%), GCH-5 y GCH-6 (50%), GCH-2 (62.5%), GCH-4 y GCH 12 (87.5%), GCH-11 (62.5%), GCH-17 y CW (100%) (**Cuadro 10**).

**Cuadro 10.** Porcentaje de sobrevivencia de plantas de chile (*Capsicum* spp.) inoculadas con *P. capsici* (Experimento 2).

Genotipo	Días post-inoculación con <i>P. capsici</i>		
	7	14	21
GCH-1	62.5	37.5	37.5
GCH-2	100	62.5	32.5
GCH-4	100	75	12.5
GCH-5	100	75	50
GCH-6	100	100	50
GCH-7	50	12.5	12.5
GCH-8	87.5	37.5	37.5
GCH-9	100	87.5	62.5
GCH-10	87.5	87.5	87.5
GCH-11	100	87.5	37.5
GCH-12	100	37.5	12.5
GCH-13	100	87.5	87.5
GCH-14	100	62.5	62.5
GCH-15	87.5	0	0
GCH-17	100	62.5	0
cv. C. Wonder	100	25	0
CM334	100	100	100

cv. C. Wonder: California Wonder (Control susceptible); CM334 (Control resistente).

A diferencia de los resultados obtenidos en el experimento 1, se puede observar un menor número de plantas muertas por genotipo. El genotipo control cv. C. Wonder presentó el 100% de plantas muertas a los 21 dpi, anteriormente esto se presentó a los 14 dpi. El genotipo silvestre GCH-13 exhibió un 12.5% al final del experimento. El genotipo GCH-2 registró un 62.5% de mortalidad. El comportamiento de control resistente CM334 fue el esperado, registrando el 100% de sobrevivencia en el último tiempo de evaluación.

Los datos obtenidos de los diferentes tiempos de evaluación muestran cambios en el nivel de daño causado por *P. capsici* en los genotipos. Los síntomas visibles a los 7dpi revelan que los genotipos GCH-2, GCH-6, GCH-9, GCH-11, GCH-13, GCH-14, así como los controles CM334 y CW, tuvieron daños menores por debajo del nivel establecido ( $\geq 2.5$ ), mientras que GCH-5 y GCH-17 obtuvieron promedios igual a éste. Sin embargo, a los 14 dpi, todos los genotipos a excepción de CM334 obtuvieron evaluaciones por encima del estándar, con daños en los tejidos que incluyen la necrosis circundante en la base del tallo como defoliación, mostrando diferencias estadísticamente significativas. Finalmente,

a los 21 dpi, los niveles de daño continuaron aumentando en todos los genotipos, destacando ser estadísticamente iguales a diferencia del control resistente CM334 (**Cuadro 11**).

**Cuadro 11.** Severidad inducida por *P. capsici* en genotipos de chile (*Capsicum* spp.)

Genotipo	Severidad (0-6) <sup>†</sup>		
	7	14	21
GCH-1	5.6±0.17 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-2	1.0±0.51 <sup>de</sup>	5.1±0.28 <sup>abc</sup>	5.4±0.31 <sup>a</sup>
GCH-4	2.6±0.58 <sup>bcde</sup>	4.5±0.61 <sup>abc</sup>	5.3±0.67 <sup>a</sup>
GCH-5	2.5±0.17 <sup>bcde</sup>	4.8±0.28 <sup>abc</sup>	5.0±0.34 <sup>a</sup>
GCH-6	1.1±0.31 <sup>de</sup>	3.4±0.48 <sup>bc</sup>	5.1±0.36 <sup>a</sup>
GCH-7	4.9±0.53 <sup>ab</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-8	4.8±0.26 <sup>ab</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-9	1.4±0.41 <sup>de</sup>	3.6±0.45 <sup>abc</sup>	4.5±0.41 <sup>a</sup>
GCH-10	2.6±0.53 <sup>bcde</sup>	4.0±0.29 <sup>abc</sup>	4.6±0.24 <sup>a</sup>
GCH-11	1.4±0.48 <sup>bcde</sup>	3.8±0.77 <sup>abc</sup>	5.5±0.24 <sup>a</sup>
GCH-12	3.3±0.55 <sup>abcd</sup>	5.0±0.65 <sup>abc</sup>	5.8±0.22 <sup>a</sup>
GCH-13	0.7±0.30 <sup>de</sup>	3.0±0.61 <sup>c</sup>	4.3±0.30 <sup>a</sup>
GCH-14	2.0±0.74 <sup>cde</sup>	3.4±0.74 <sup>bc</sup>	4.5±0.48 <sup>a</sup>
GCH-15	4.8±0.28 <sup>abc</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
GCH-17	2.5±0.29 <sup>bcde</sup>	5.4±0.16 <sup>abc</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
cv. C. Wonder	1.8±0.58 <sup>de</sup>	5.6±0.24 <sup>ab</sup>	6.0±0.00 <sup>a</sup>
CM334	0.0±0.00 <sup>e</sup>	0.0±0.00 <sup>d</sup>	0.0±0.00 <sup>b</sup>

Los valores representan la media ± error estándar (n=8). Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ). CW: California Wonder (Control susceptible); CM334 (Control resistente). <sup>†</sup>0: Sin síntomas visibles; 1: Necrosis en la base del tallo sin rodearlo; 2: Necrosis circundante alrededor del tallo; 3: Necrosis circundante alrededor del tallo y menos del 50% de defoliación; 4: Necrosis circundante en la base del tallo y más de 50% de defoliación; 5: Plantas marchitas; 6: Planta muerta (Sanogo, 2006).

Los valores de severidad obtenidos durante la evaluación reflejan altos niveles de susceptibilidad presentados por cada genotipo. En el **Cuadro 12**, se presenta la respuesta obtenida en cada evaluación. Es fácilmente observable que la resistencia de la mayoría de los genotipos evaluados se mantuvo hasta los primeros 7 dpi, sin embargo, para los 14 dpi todos los genotipos, con excepción del control CM334 sucumbieron a la enfermedad, resultados que se mantuvieron hasta el final del experimento a los 21 dpi.

**Cuadro 12.** Respuesta inducida por *P. capsici* en genotipos criollos de chile (*Capsicum* spp.)

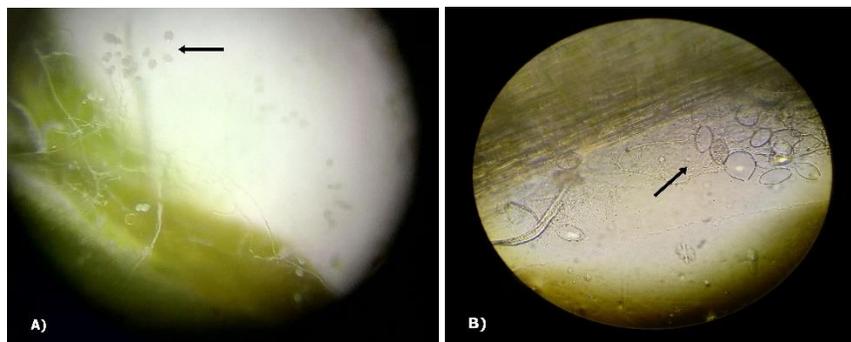
Genotipo	Respuesta		
	7	14	21
GCH-1	S	S	S
GCH-2	R	S	S
GCH-4	R	S	S
GCH-5	R	S	S
GCH-6	R	S	S
GCH-7	S	S	S
GCH-8	S	S	S
GCH-9	R	S	S
GCH-10	S	S	S
GCH-11	R	S	S
GCH-12	S	S	S
GCH-13	R	S	S
GCH-14	R	S	S
GCH-15	S	S	S
GCH-17	R	S	S
CW	R	S	S
CM334	R	R	R

R: resistente, S: susceptible. CW: cv. California Wonder (Control susceptible); CM334 (Control resistente).

La resistencia del genotipo GCH-2 resultó baja en comparación con la presentada en el experimento 1. Si bien, al comienzo de la evaluación (7dpi) mostraba un nivel de daño superior al presentado anteriormente, aún continuaba por debajo del límite establecido. Sin embargo, a los 14 dpi el deterioro constante de la enfermedad en los tejidos sometió al genotipo a quedar muy por encima del estándar marcado. Por lo que al igual que el resto de genotipos, es considerado como genotipo susceptible.

Para comprobar que la sintomatología observada en los genotipos de chile fue realmente inducida por *P. capsici*, se tomaron secciones de tallos de plantas sintomáticas, y bajo condiciones asépticas fueron colocadas en agua destilada estéril por 72 h. La inspección al microscopio y estereoscopio de los tejidos seleccionados, confirmaron la presencia del patógeno mediante la observación de las estructuras morfológicas características. Por lo que, la presencia de micelio fino con estructuras globulares en los extremos (esporangios), adherido

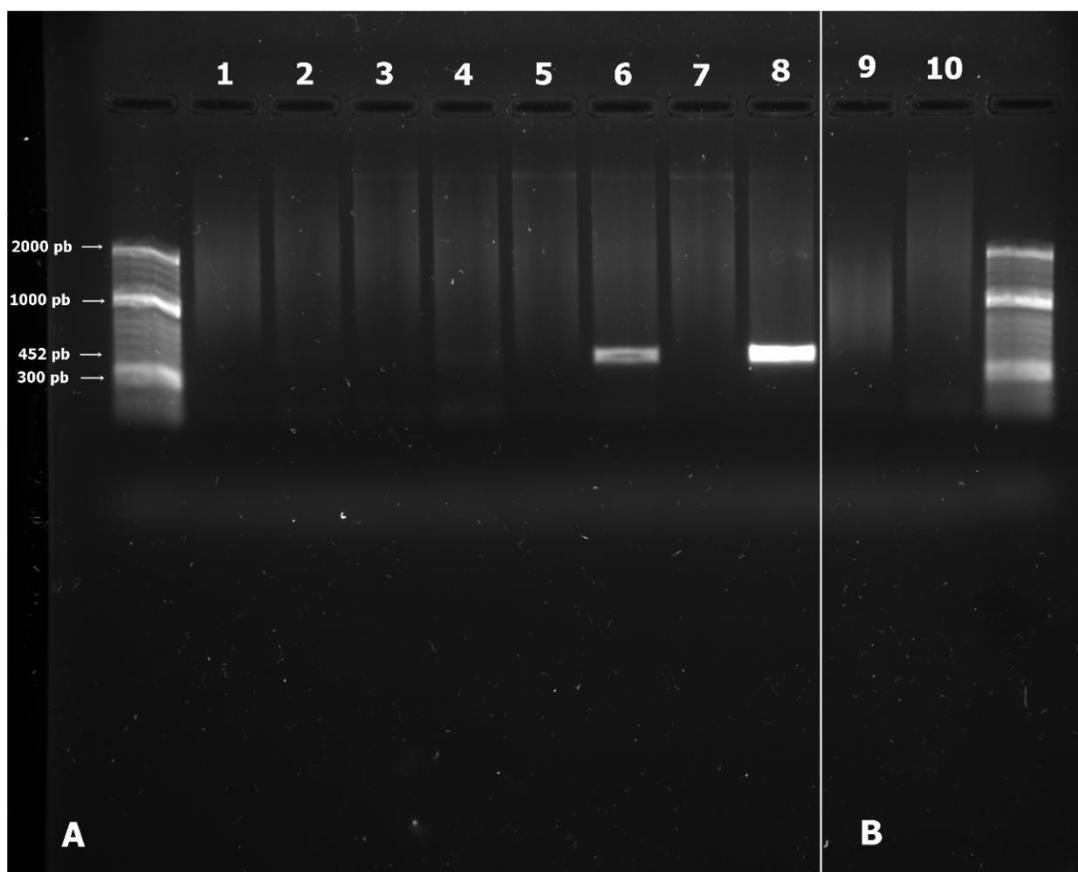
a la superficie de la planta, comprueban que la infección y síntomas visibles observados en los genotipos, efectivamente fueron causadas por *P. capsici* (**Figura 11**).



**Figura 11.** Colonización de *P. capsici* en tejido de *Capsicum*. **A)** Observación al estereoscopio. Micelio y esporangios de *P. capsici* en los tejidos superficiales de la planta. **B)** Observación al microscopio (40X). Presencia de esporangios en el medio acuoso y periferia del tejido infectado, así como en su interior.

#### 4.2. Detección molecular de *P. capsici* en plantas de chile criollos infectadas por *P. capsici*

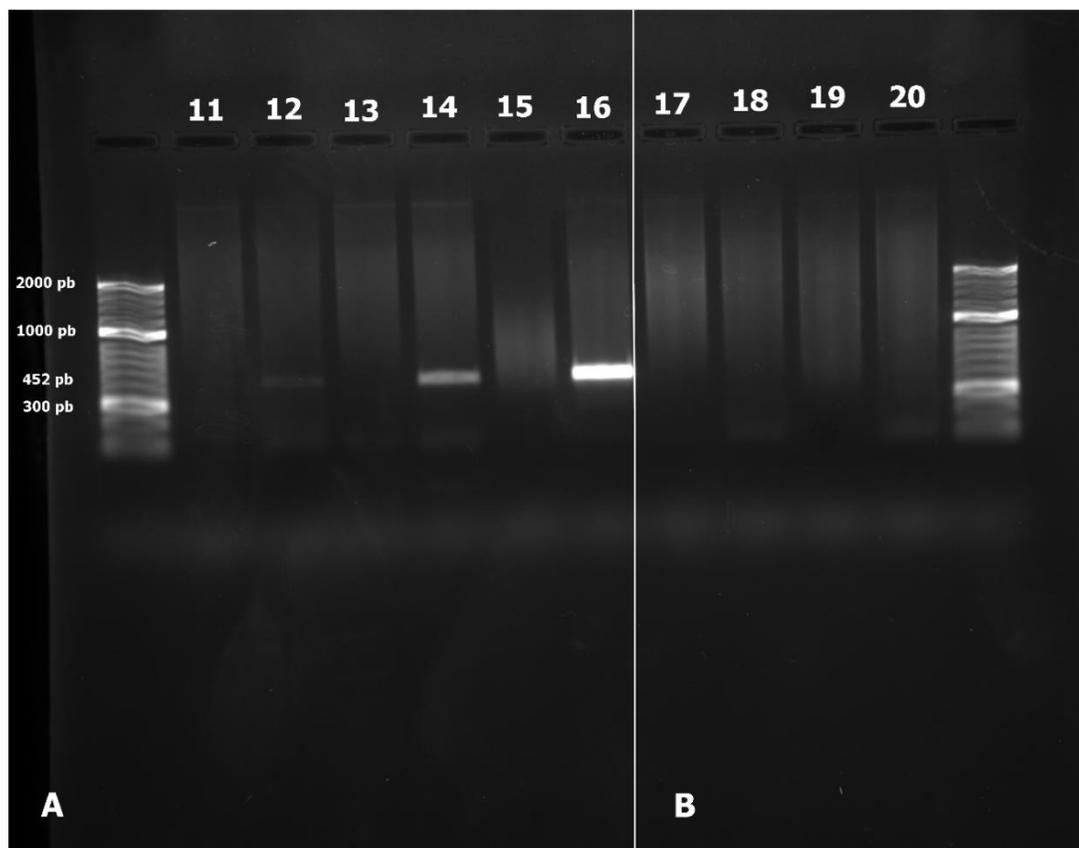
El oomiceto fue exitosamente detectado en los genotipos GCH-2, GCH-10 y en el cv. C. Wonder, a excepción de CM334 como era de esperarse. Se observaron, patrones de amplificación similares en los genotipos susceptibles como son: presencia de DNA solo en los tallos del genotipo GCH2-tallo y en el control susceptible cv. California Wonder (CW). La **Figura 12-A**, muestra los productos de PCR de las muestras obtenidas a los 3 dpi. Los carriles 1 (raíz) y 2 (tallo) correspondientes al genotipo control CM334 no muestran presencia de DNA patógeno. De igual manera, los carriles 3 y 4 correspondientes al genotipo GCH10 (raíz y tallo respectivamente) no revelan la presencia del patógeno en sus tejidos. Asimismo, el genotipo GCH2-raíz (carril 5) muestra una corrida libre de DNA del oomiceto. Sin embargo, GCH2-tallo mostrado en el carril 6 resulta fácilmente apreciable la presencia de DNA del patógeno. En el caso del genotipo control CW, se presentó un fenómeno similar al presentarse una banda que delata la presencia de *P. capsici* en el tallo (carril 8), mientras que en el carril 7 (CW-raíz) éste no fue detectado.



**Figura 12.** Productos de PCR (~452 pb) obtenidos por la amplificación del DNA genómico de *P. capsici* en plantas de Chile a distintos tiempos post-inoculación. **A)** 3 dpi: CM334 raíz (carril 1); CM334 tallo (carril 2); GCH-10 raíz (carril 3); GCH-10 tallo (carril 4); GCH-2 raíz (carril 5); GCH-2 tallo (carril 6); cv. C. Wonder raíz (carril 7); cv. C. Wonder tallo (carril 8). **B)** 7 dpi: CM334 raíz (carril 9); CM334 tallo (carril 10). Marcador 50-pb (Bioline).

Los resultados obtenidos a los 7 dpi no varían significativamente con los obtenidos a los 3 dpi. En la **Figura 12-B**, se observa que el DNA patógeno está ausente de los tejidos del genotipo CM334 tanto en tallo como en raíz (carril 9 y 10 respectivamente). Asimismo, la **Figura 13-A** muestra las amplificaciones en PCR de las muestras de DNA total a los 7 dpi y corridas de electroforesis. Si bien, el carril 11 del genotipo GCH10-raíz no muestra la presencia de DNA patógeno, el carril 12 de GCH10-tallo presenta una tenue franja que evidencia la presencia de bajos niveles de DNA patógeno. De igual manera, la muestra de raíz del genotipo GCH2 (carril 13) no reflejó la invasión del oomiceto, sin embargo, la amplificación de la muestra de tallo mostró una notable franja a la altura de los 452 pb que prueban la amplificación llevada a cabo por el cebador, por lo que es evidente la presencia del oomiceto en los tejidos del tallo del genotipo (carril 14). Como era de esperarse, el genotipo

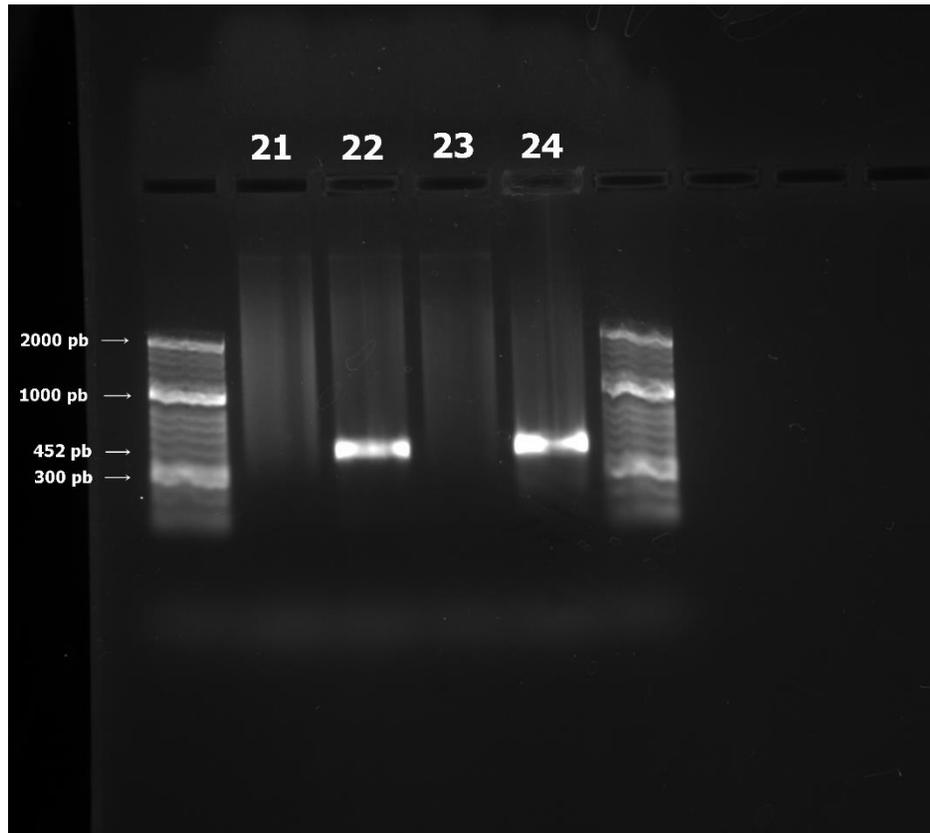
control CW continuó con la tendencia al presentar DNA patógeno en los tejidos del tallo (carril 16) y ausencia de éste en la raíz.



**Figura 13.** Productos de PCR (~452 pb) obtenidos por la amplificación del DNA genómico de *P. capsici* en plantas de Chile a distintos tiempos post-inoculación. **A)** 7 dpi: GCH-10 raíz (carril 11); GCH-10 tallo (carril 12); GCH-2 raíz (carril 13); GCH-2 tallo (carril 14); cv. C. Wonder raíz (carril 15); cv. C. Wonder tallo (Carril 16). **B)** 14 dpi: CM334 raíz (carril 17); CM334 tallo (carril 18); GCH-10 raíz (carril 19); GCH-10 tallo (carril 20). (Bioline).

En la **Figura 13-B**, puede apreciarse la ausencia de DNA genómico de *P. capsici* en los tejidos tanto de tallo como de raíz del genotipo CM334 (carril 17 y 18) en el último muestreo (14 dpi). Lo cual ocurrió también en el genotipo GCH10 (carril 19 y 20). Sin embargo, la electroforesis realizada en el genotipo GCH2-raíz (carril 21) no presenta rastros de DNA del oomiceto (**Figura 14**), la amplificación de GCH2-tallo muestra altas concentraciones de DNA del patógeno al apreciarse una banda marcada intensamente. Lo cual también ocurrió en la electroforesis de las muestras del genotipo control cv. C. Wonder, en

donde no hay presencia de DNA del oomiceto en la raíz (carril 23), mientras que la amplificación de la muestra obtenida del tallo revela la presencia de una gran cantidad de DNA de *P. capsici*.



**Figura 14.** Productos de PCR (~452) obtenidos por la amplificación del DNA genómico de *P. capsici* en plantas de chile a 14 dpi: GCH-2 raíz (carril 21); GCH-2 tallo (carril 22); cv. C. Wonder raíz (carril 23); cv. C. Wonder tallo (carril 24). Marcador 50-pb (Bioline).

## 5. DISCUSIÓN

La marchitez inducida por *P. capsici* es la principal limitante de la producción de chile (*Capsicum* spp.), llegando a causar pérdidas millonarias en todo el mundo. Aunque, se han desarrollado diversas estrategias que permiten reducir los impactos, ninguna de estas ha ofrecido una solución definitiva que permita mantener la calidad y productividad de los cultivos (Granke *et al.*, 2012). Además, el control convencional basado en la aplicación de fungicidas sintéticos trae consigo efectos secundarios no deseados, como la contaminación ambiental y resistencia a los productos aplicados. Por lo que la exploración y aprovechamiento de estrategias ambientalmente amigables como el uso de cultivares genéticamente resistentes resultan necesarias (Glosier *et al.*, 2008).

Son diversos los factores que intervienen para que el oomiceto colonice exitosamente a su hospedante, siendo la concentración del inóculo, presencia de genes de resistencia, temperatura y virulencia de los aislamientos empleados las variables que más influyen en las pruebas realizadas en laboratorio. Para las evaluaciones de este trabajo se empleó una concentración de 100,000 zoosporas por planta, relativamente alta en comparación con las inoculadas por otros investigadores. Jo *et al.* (2014), informan las diferentes respuestas obtenidas en genotipos de chile comerciales según la virulencia de los aislamientos de *P. capsici* (MY-1, KPC-1, JHAI1-7 y KPC-7) y las concentraciones del inóculo ( $5 \times 10^4$  y  $1.5 \times 10^6$ ), observando que la resistencia a KPC-1 y JHAI1-7 se vio levemente afectada en las diferentes concentraciones, pero para KPC-7 (con altos niveles de resistencia) fue notable el descenso de la resistencia al inocularse con  $1.5 \times 10^6$  zoosporas. Lo que hace posible relacionar la virulencia de los aislados de *P. capsici* con la resistencia de los cultivares.

La agresividad del oomiceto sumado a su rápido ciclo de vida le permite infectar eficientemente los tejidos del hospedero, produciendo síntomas visibles a partir de las primeras horas posteriores a la inoculación. La observación de los primeros síntomas, en la base del tallo, comenzó para algunos genotipos a partir de los 3 días post-inoculación. Lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Dunn y Smart (2015), en donde la evaluación de las interacciones de un aislado de *P. capsici* con tres genotipos de *C. annuum* mediante la expresión de un gen para la proteína verde fluorescente, reportaron la aparición de lesiones

necróticas a partir de los 3 dpi en las raíces secundarias en el pimiento Red Knight (susceptible) pero no en los genotipos resistentes Paladín y CM334. Asimismo, Moran-Bañuelos *et al.* (2010), evaluaron la resistencia de 29 poblaciones de Chile del sur de Puebla, inoculando con 50,000 zoosporas por planta, observando que más del 50% de los genotipos inoculados tenían marchitez y necrosis en la base del tallo a los 4 dpi.

La evaluación de severidad de los 15 genotipos de *Capsicum* spp. inoculados con el aislamiento de *P. capsici* 2143, denotó un alto nivel de daño, así como diversos grados de resistencia entre y dentro de los genotipos evaluados, mostrando la misma respuesta de resistencia en los experimentos 1 y 2, diferenciándose únicamente en la relación de plantas muertas. Como en los ensayos realizados por Roig *et al.* (2009), en donde se evaluó la resistencia a *P. capsici* de 32 genotipos de Chile, adicionando un genotipo de Chile Serrano y los controles Ucodulce INTA y Numex Garnet como susceptibles, así como, CM334 y Fyuco INTA como resistentes. Resultando en todos los genotipos estadísticamente diferentes con distintos grados de susceptibilidad. Siendo los genotipos criollos (CM334 y Serrano) los que menor daño presentaron. Por lo contrario, Candole *et al.* (2010), obtuvieron accesiones resistentes al oomiceto y a su vez bajos niveles de supervivencia. Para ello, se evaluaron 2301 accesiones de *C. annuum* ante la mezcla de seis aislados de *P. capsici* procedentes de Georgia, destacando PI 201237 y PI 640532 como altamente resistentes a la infección de raíz, siendo la alta variabilidad genética dentro de las accesiones un obstáculo para la evaluación de su resistencia. Asimismo, Ares *et al.* (2005), no encontraron resistencia completa a *P. capsici* tras la inoculación de 23 genotipos de Chile locales del noreste de España ante los ocho aislamientos de *P. capsici* con los que se inocularon.

Los resultados obtenidos en la evaluación de severidad reportados anteriormente no arrojaron materiales que pudiesen considerarse como una potencial fuente de resistencia genética, sin embargo, la información recaudada puede ser de utilidad para estudios futuros. Al igual que lo obtenido por Naegele *et al.* (2015), en donde se evaluaron 170 genotipos de Chile a la infección de dos aislamientos de *P. capsici*, observando una alta variabilidad genética entre las poblaciones evaluadas y dando como resultado que la mayoría de genotipos evaluados mostraron distintos niveles de susceptibilidad y solo los genotipos PI640833 y PI 566811 mostraron los niveles más altos de resistencia.

Si bien, la alta variabilidad genética dificulta la identificación de materiales genéticamente resistentes, no significa que sea imposible de conseguir. Contrario a los resultados obtenidos en el presente proyecto, investigaciones previas han logrado sobrepasar esta limitante obteniendo resultados positivos. Ejemplo de ello son los resultados obtenidos por Gómez-Rodríguez *et al.*, (2017), en donde se encontraron altos niveles de tolerancia a 10 aislamientos de *P. capsici* (nueve de México y uno de Estados Unidos) en materiales de Chile Huacle (6 líneas), así como resistencia en la totalidad de genotipos de Chile Serranos (9 líneas), evaluados frente a los mismos aislamientos, comprobando la resistencia previamente reportada en estos dos genotipos.

Otra limitante en la explotación de las fuentes de resistencia encontradas, es el complejo sistema de resistencia presentado por los genotipos con altos niveles de resistencia, así como la heredabilidad de la misma; como es el caso del genotipo considerado universalmente resistente CM334. Donde la resistencia genética es dada por genes específicos activados con la invasión del patógeno, por lo que Ortega *et al.* (1991), estudia la resistencia a *P. capsici* (BI) en el genotipo CM334, y la heredabilidad de éstos en las generaciones F1, F2, F3 y BC1 al introducirlos al cultivar Morrón INIA 224 (susceptible). Asumiendo que para que los genotipos cuenten con un nivel óptimo de resistencia, la cual sea capaz de frenar la infección del oomicete es necesario la activación de 3 genes observados en el genotipo CM334, con al menos 3 alelos heterocigotos o bien, 4 en cualquier otra posición. Por otro lado, Reifschneiden *et al.* (1992), estudiaron la herencia de la resistencia a *P. capsici* de F1 y F2 empleando como progenitores a CM334 y como susceptibles, Agronómico 10-G y Yolo Wonder. Estableciendo un modelo de 2 genes de resistencia con epistasis dominante y recesiva.

La incidencia, gravedad y pérdidas de *P. capsici* se han incrementado en las últimas décadas, por lo que la aplicación de técnicas moleculares para estudiar al oomiceto y así adecuar estrategias de control efectivas se han convertido en pieza fundamental (Lamour *et al.*, 2012). Tian y Babadoost (2004), evaluaron 45 especies de herbáceas ante diferentes aislados de *P. capsici*, logrando la detección del oomiceto en el 87.5% de las plantas sintomáticas mediante PCR, detectando que, entre el amplio rango de hospederos, las cucurbitáceas y chiles son los huéspedes más susceptibles a la infección por *P. capsici*.

Asimismo, Zhang *et al.* (2006), determinaron que la PCR punto final puede ser de gran utilidad al detectar a *P. capsici* en los tejidos del hospedante, suelo y agua de riego. Sin embargo, mediante procedimientos de PCR anidados la sensibilidad de la detección aumentó. Se confirmó la presencia del oomiceto en las plantas enfermas aislándolo en un cultivo puro y no hubo amplificación en ninguna de las plantas sanas evaluadas. Es así que los ensayos por PCR son cada vez más utilizados para la detección y cuantificación de patógenos en las plantas. La aplicación de esta herramienta resulta vital para identificar correctamente a *P. capsici*, ya que, como se mencionó anteriormente, la enfermedad puede ser confundida con las causadas por otros fitopatógenos (Silvar *et al.*, 2005). Es por ello que en este proyecto se llevó a cabo la detección de DNA de *P. capsici* en los tejidos de dos genotipos, GCH-2 y GCH-10, ya que en los experimentos de severidad mostraron los niveles de tolerancia más altos en comparación con el resto de genotipos evaluados. Lo cual resultó en la exitosa amplificación del fragmento de 452 pb de la región ITS del oomiceto.

Se detectó la presencia del oomiceto en ambos genotipos evaluados, así como en el control cv. C. Wonder, siendo CM334 el único genotipo sin la presencia de éste en sus tejidos en los diferentes tiempos de evaluación. A los 3 dpi se detectó la presencia de DNA del oomiceto en los tallos de los genotipos GCH-2 y cv. C. Wonder, sin embargo, el genotipo control cv. C. Wonder fue el único que presentó necrosis en la base del tallo, mientras que GCH-2 permaneció asintomático. A los 7 dpi, el genotipo GCH-2 presenta los síntomas iniciales de la enfermedad y nuevamente es detectado el DNA del patógeno en los tejidos del tallo, mientras que la severidad de la marchitez en cv. C. Wonder se hizo más evidente al presentar damping-off, defoliación y un anillo necrótico que comenzaba a expandirse hacia el tallo, el avance de la enfermedad se vio reflejada en la amplificación de una gran cantidad de DNA de *P. capsici* en el tallo del genotipo. Si bien el genotipo GCH-10 permanecía asintomático, la amplificación por PCR reveló la presencia de una baja cantidad de DNA en el tallo. Sin embargo, a los 14 dpi la presencia de DNA del oomiceto en el genotipo GCH-10 no fue detectada a pesar de que las plantas exhibían necrosis en la base del tallo y comenzaban a perder hojas. Por otro lado, la presencia de DNA de *P. capsici* se mantuvo presente en los tallos de los genotipos GCH-2 y cv. C. Wonder ya que la severidad de la enfermedad se hacía cada vez más notable al presentar síntomas como necrosis avanzada y defoliación superior al

50% para GCH-2 y síntomas devastadores para cv. C. Wonder con la totalidad de plantas muertas.

La inoculación con zoosporas en la base del tallo de plantas en macetas inundadas y la resistencia específica en cada parte de las plantas puede ser un factor a considerar para que el avance de la enfermedad hacia la parte aérea de la planta. Al contrario de lo reportado por Dunn y Smart (2015), en donde reportan lesiones necróticas en las raíces secundarias de Red Knight, avanzando la enfermedad hacia la raíz principal, coronas y tallo posteriormente. Silvar *et al.* (2005), implementaron la PCR en tiempo real para detectar y cuantificar a *P. capsici* en los tejidos de plantas con diferentes grados de resistencia. Los autores detectaron la presencia de DNA de *P. capsici* a los 8 dpi en plantas asintomáticas, observando un rápido incremento en la concentración de DNA patógeno en los genotipos susceptibles y un incremento considerablemente más lento en genotipos resistentes. Se logró la correlación de la susceptibilidad de la pudrición de raíz con la cantidad de DNA del patógeno detectado en cada genotipo, logrando a su vez relacionar la virulencia del patógeno con el grado de colonización que *P. capsici* tiene en los tejidos. A su vez, se observó una mayor concentración del oomiceto en los tallos de las plantas evaluadas.

## 6. CONCLUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos en el último tiempo de evaluación, ninguno de los genotipos criollos y silvestres evaluados (GCH-1, GCH-2, GCH-4, GCH-5, GCH-6, GCH-7, GCH-8, GCH-9, GCH-10, GCH-11, GCH-12, GCH-13, GCH-14, GCH-15 y GCH-17), fue resistente al oomiceto *Phytophthora capsici*, debido a que registraron valores de severidad elevados. Sin embargo, aun cuando algunos de los genotipos mostraron daños considerables, muchos de ellos lograron expresar menores grados de severidad que los expresados por el cv. California Wonder.

Por otro lado, se logró la detección de DNA de *P. capsici* en los tallos de GCH2, y cv. C. Wonder a en los tres tiempos de muestreo (3, 7 y 14 dpi), destacando la presencia de poco material genético del oomiceto en el tallo del genotipo GCH10 a los 7 dpi. Por lo anterior, la presencia de DNA genómico del oomiceto garantiza que la sintomatología observada en estos genotipos de Chile fue efectivamente inducida por *P. capsici*.

## 7. REFERENCIAS

- Aguilar, R. V. H., Corona, T. T., López, L. P., Latournerie, M. L., Ramírez, M. M., Villalón, M. H. y Aguilar, C. J. A. (2010). Los chiles de México y su distribución. SINAFERI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114.
- Aguilar-Meléndez, A., Morrell, P. L., Roose, M. L., y Kim, S. C. (2009). Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany*, 96(6), 1190-1202.
- Aguirre, H. E. y Muñoz, O. V. (2015). El chile como alimento. *Revista ciencia*, 3(66),15-23.
- Alevar-Mejía, J.J., Lara-Herrera, A., Llamas-Illamas, J.J. y Luna-Flores, M. (2010). Enfermedades del chile en Zacatecas. En V. Peralta (Presidencia). Primer foro para productores de chile. Memorias. Conferencia llevada a cabo en Zacatecas, México.
- Andrade-Luna, M. I., Espinosa-Victoria, D., Gómez-Rodríguez, O., Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, M. L., Trejo-Téllez, L. I., y Delgadillo-Martínez, J. (2017). Severidad de una cepa de *Phytophthora capsici* en plantas de chayote *Sechium edule* a nivel de cámara de crecimiento. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(1), 40-57.
- Ares, J. A., Martínez, A. R., y Paz, J. F. (2005). Resistance of pepper germplasm to *Phytophthora capsici* isolates collected in northwest Spain. *Spanish journal of agricultural research*, 3(4), 429-436.
- Aristizábal, C., N., y Torres, G. (2015). Morphological and Molecular Characterization of *Phytophthora* in Pepper (*Capsicum frutescens* var. Tabasco), Valle del Cauca. *Revista de Ciencias*, 19(2), 71-89.
- Barchenger, D. W., Lamour, K. H., y Bosland, P. W. (2018). Challenges and strategies for breeding resistance in *Capsicum annuum* to the multifarious pathogen, *Phytophthora capsici*. *Frontiers in plant science*, 9, 628.

- Bartual, R., Lacasa, A., Marsal, J. I., y Tello, J. C. (1993). Efectos epistáticos en la resistencia a *Phytophthora capsici* Leon en pimiento (*Capsicum annuum*). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 19, 485-490.
- Candole, B. L., Conner, P. J., y Ji, P. (2010). Screening *Capsicum annuum* accessions for resistance to six isolates of *Phytophthora capsici*. *HortScience*, 45(2), 254-259.
- Cárdenas, M., Camilo, H., Gutiérrez S. P. A., y Marín M. M. (2015). Detección del Potato virus Y (PVY) en tubérculos de papa mediante TAS-ELISA y qRT-PCR en Antioquia (Colombia). *Bioagro*, 27(2), 83-92.
- Castellón-Martínez, É., Chávez-Servia, J. L., Carrillo-Rodríguez, J. C., y Vera-Guzman, A. M. (2012). Preferencias de consumo de chiles (*Capsicum annuum* L.) nativos en los valles centrales de Oaxaca, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(SPE5), 27-35.
- Castro R. A., Fernández P. S. P., y Osuna A. P. (2012). Mecanismos de defensa del chile en el patosistema *Capsicum annuum-Phytophthora capsici*. *Revista mexicana de fitopatología*, 30(1), 49-65.
- Ceballos, R.I. (2001). Importancia del cultivo del chile (*Capsicum annuum* L.), en México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División de Agronomía. Coahuila, México.
- Cedrón, J. C. (2013). La capsaicina. *Revista de Química*, 27(1-2), 7.
- CNCUB. (2019). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Consultado el 23 de abril del 2019 en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/ usos/ alimentacion/ chile.html#>
- Conti, M., y Mateo Box, J. M. (2000). *Principales virus de las plantas hortícolas*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. 206.
- Cosme-Velázquez, Y., Guzmán-Plazola, R. A., Sandoval-Islas, S., Corona-Torres, T., y Mendoza-Pérez, D. (2015). Efecto del acibenzolar S-metil en plantas de chile serrano (*Capsicum annuum*) infectadas con *Phytophthora capsici* en diferentes edades. *Revista mexicana de fitopatología*, 33(2), 156-172.

- De Coninck, B., Timmermans, P., Vos, C., Cammue, B. P., y Kazan, K. (2015). What lies beneath: belowground defense strategies in plants. *Trends in Plant Science*, 20(2), 91-101.
- De, A. K. (Ed.). (2004). *Capsicum: the genus Capsicum*. CRC Press.
- do Rêgo, E. R., do Rêgo, M. M., y Finger, F. L. (2016). *Production and breeding of chilli peppers (Capsicum spp.)*. Springer.
- Dunn, A. R., y Smart, C. D. (2015). Interactions of *Phytophthora capsici* with resistant and susceptible pepper roots and stems. *Phytopathology*, 105(10), 1355-1361.
- Egea, C., Alcázar, M. D., y Candela, M. E. (1996). Capsidiol: Its role in the resistance of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum*, 98(4), 737-742.
- Ezziyyani, M. (2005). El cultivo del pimiento (*Capsicum annuum*) en la Región de Murcia y los efectos nocivos del uso de bromuro de metilo (II). *Eubacteria*, (15), 5.
- FAO. (2016). CULTIVOS. FAOSTAT. Consultado el 19 de septiembre del 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Fernandez-Herrera, E., Rojas-Martinez, R. I., Gomez-Rodriguez, O., Guevara-Olvera, L., Rivas-Dávila, M. E., Valadez-Moctezuma, E., y Zavaleta-Mejía, E. (2012). Defense genes, enzymatic activity and capsidiol content in CM-334 chilli pepper inoculated with *Phytophthora capsici*. *Interciencia*, 37(5), 370-376.
- Fernández-Pavía, S., Díaz-Celaya, M. y Rodríguez-Alvarado, G. (2013). *Phytophthora* in Mexico. In: K. Lamour, ed., *Phytophthora: A Global Perspective*, 1st ed. University of Tennessee, Knoxville, USA. 215-221.
- Foster, J. M., y Hausbeck, M. K. (2010). Resistance of pepper to *Phytophthora* crown, root, and fruit rot is affected by isolate virulence. *Plant Disease*, 94(1), 24-30.
- Gabriel, J., Indacochea, B., Ayón, F., Valverde A., Máximo, V., Castro, C. y Manobanda, M. (2017). Principios básicos de la resistencia genética a patógenos, plagas y factores abióticos. Grupo COMPAS, Universidad Estatal del Sur de Manabí (UNESUM), Jipijapa, Ecuador. 36-38.

- García, B. E. (2013). *Caracterización de la variabilidad genética y patogénica de aislados de phytophthora capsici Leonian en ají y pimentón de zonas productoras del Valle del Cauca*. Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia.
- Gevens, A. J., Roberts, P. D., McGovern, R. J., y Kucharek, T. A. (2011). Vegetable diseases caused by *Phytophthora capsici* in Florida. *Plant Pathology Department SP159. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida*. Available: <http://edis.ifas.ufl.edu/vh045>.
- Glosier, B. R., Ogundiwin, E. A., Sidhu, G. S., Sischo, D. R., y Prince, J. P. (2008). A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica*, 162(1), 23-30.
- Gómez-Rodríguez, O., Corona-Torres, T., y Aguilar-Rincón, V. H. (2017). Differential response of pepper (*Capsicum annum* L.) lines to *Phytophthora capsici* and root-knot nematodes. *Crop protection*, 92, 148-152.
- Gonzáles, C. M., Villordo, P. E., Pons, H. J.L., Delgadillo, S. F., Paredes, M. R., Godoy, H. H., Anaya, L. J.L., Gámez, V. F., Medina C. T. y Rodríguez G. R. (2009). Guía para el manejo de la marchitez del chile en Guanajuato. Consejo estatal de productores de chile. Editorial: Prometeo Editores. Guanajuato.
- Gonzáles, E. T., Zúñiga, A. J. J. y Vázquez, F. F. (2018). Mejoramiento genético del chile habanero de la Península de Yucatán. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Yucatán, México. 188.
- González-Chavira, M.M., Villordo-Pineda, E., Torres-Pacheco, I., Delgadillo-Sánchez, R., Rodríguez-Guerra, R., Guzmán-Maldonado, S.H., Pons-Hernández, J.L., Guevara-González, R.G. y Guevara-Olvera, L. (2015). Búsqueda de genotipos resistentes a patógenos de raíz causantes de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L.). Consultado el 07 de junio del 2019 en: [https://www.researchgate.net/publication/268286737\\_BUSQUEDA\\_DE\\_GENOTIPOS\\_RESISTENTES\\_A\\_PATOGENOS\\_DE\\_RAIZ\\_CAUSANTES\\_DE\\_LA\\_MARCHITIZ\\_DEL\\_CHILE\\_Capsicum\\_annuum\\_L](https://www.researchgate.net/publication/268286737_BUSQUEDA_DE_GENOTIPOS_RESISTENTES_A_PATOGENOS_DE_RAIZ_CAUSANTES_DE_LA_MARCHITIZ_DEL_CHILE_Capsicum_annuum_L)

- Granke, L. L., Quesada-Ocampo, L., Lamour, K., y Hausbeck, M. K. (2012). Advances in research on *Phytophthora capsici* on vegetable crops in the United States. *Plant Disease*, 96(11), 1588-1600.
- Hausbeck, M. K., y Lamour, K. H. (2004). *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges. *Plant disease*, 88(12), 1292-1303.
- Hernández-Verdugo, S., Aranda-Dávila, P., y Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. Review of taxonomy, origin and domestication of the genus *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 64, 65-84.
- Hernández-Verdugo, S., Guevara-González, R. G., Rivera-Bustamante, R. F., Vázquez-Yanes, C., y Oyama, K. (1998). Los parientes silvestres del chile (*Capsicum spp.*) como recursos genéticos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 62(1), 171-181.
- Hernández-Verdugo, S., Luna-Reyes, R., y Oyama, K. (2001). Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from Mexico. *Plant Systematics and evolution*, 226(3-4), 129-142.
- INIA. (2018). Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín No. 360. Santiago de Chile.
- Iribarren, M. J., Borassi, C., Ferri, A. M., González, B., Steciow, M., y Guillin, E. A. (2016). Estructura genética de poblaciones de *Phytophthora capsici* en el noreste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Gerencia de Comunicación e Imagen Institucional, DNA SICC, INTA.
- Jardón, B. L. (2017). De Sonora a Yucatán. Chiles en México: Diversidad y Domesticación. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado el 03 de junio del 2019 en: <http://web.ecologia.unam.mx/oikos3.0/index.php/todos-los-numeros/articulos-antteriores/221-chiles-en-mexico>
- Jo, S. J., Shim, S. A., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, J. C., y Choi, G. J. (2014). Resistance of chili pepper cultivars to isolates of *Phytophthora capsici*. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 32(1), 66-76.

- Kraft, K. H., Luna-Ruíz, J., y Gepts, P. (2013). A new collection of wild populations of *Capsicum* in Mexico and the southern United States. *Genetic resources and crop evolution*, 60(1), 225-232.
- Lamour, K. H., Stam, R., Jupe, J., y Huitema, E. (2012). The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular plant pathology*, 13(4), 329-337.
- Lamour, K., y Kamoun, S. (2009). Oomycete genetics and genomics: diversity, interactions and research tools. John Wiley & Sons.
- Lozano A. N., Guzmán-Plazola, R. A., Zavaleta, M. E., Aguilar R., V. H., y Ayala E., V. (2015). Etiología y evaluación de alternativas de control de la marchitez del chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) en La Vega de Metztlán, Hidalgo, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 33(1). 31-53.
- Luna, R. (2010). Variedades de chile y producción de semilla. En V. Peralta (Presidencia). Primer foro para productores de chile. Memorias. Conferencia llevada a cabo en Zacatecas, México.
- Mo, H., Kim, S., Wai, K. P. P., Siddique, M. I., Yoo, H., y Kim, B. S. (2014). New sources of resistance to *Phytophthora capsici* in *Capsicum* spp. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 55(1), 50-55.
- Mongkolporn, O., y Taylor, P. W. (2011). *Capsicum*. In *Wild Crop relatives: Genomic and breeding resources*. Springer, Berlin, Heidelberg. 43-57.
- Montes, H. S. (2010). Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México. Campo experimental Bajío. INIFAP. México. 73.
- Morales V., G., Redondo J., E., Covarrubias P., J., y Cárdenas S., E. (2002). Detección y localización de *Phytophthora capsici* Leo. en semilla de chile. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(1).
- Morán-Bañuelos, S. H., Aguilar-Rincón, V. H., Corona-Torres, T., y Zavaleta-Mejía, E. (2010). Chilli pepper landraces of southern Puebla, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(4), 21-26.

- Muñoz-Medina, M. B., Velázquez, S. F., y Valderas-Hernández, V. E. (2018). Aislamiento y caracterización de hongos con propiedades de biocontrol sobre *Phytophthora capsici* L. en el estado de Zacatecas. *Biotecnología y Sustentabilidad*, 1(1).
- Naegele, R. P., Tomlinson, A. J., y Hausbeck, M. K. (2015). Evaluation of a diverse, worldwide collection of wild, cultivated, and Landrace Pepper (*Capsicum annuum*) for resistance to phytophthora fruit rot, genetic diversity, and population structure. *Phytopathology*, 105(1), 110-118.
- Nguyen, V.L. (2015). Spread of *Phytophthora capsici* in Black Pepper (*Piper nigrum*) in Vietnam.
- Niks, R.E., Ellis, P.R. y Parlevliet, J.E. (1993). Resistance to parasites. In M.D. Hayward, N.O. Bosermark & I. Romagosa, eds. *Plant breeding: principles and prospects*. London, Chapman & Hall. 422-447.
- Obregón, V., Ibñez, M. y Lattar, T. (2016). Guía para la identificación de las enfermedades de pimiento en invernadero. Ediciones INTA. 1ª edición. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Centro Regional Corrientes. Bella Vista. Argentina. 3-17.
- Ortega, R. G., Español, C. P., y Zueco, J. C. (1991). Genetics of Resistance to *Phytophthora capsici* in the Pepper Line 'SCM-334'. *Plant breeding*, 107(1), 50-55.
- Palacios, C. S. (2007). Caracterización morfológica de accesiones de *Capsicum* spp. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Escuela de posgrados. Colombia.
- Palma-Martínez, E., Aguilar-Rincón, V. H., Corona-Torres, T., y Gómez-Rodríguez, O. (2017). Resistencia a *Phytophthora capsici* Leo. en líneas de chile Huacle (*Capsicum annuum* L.). *Fitotecnia mexicana*, 40, 359-363.
- Pérez-Acevedo, C. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., Perales-Segovia, C., del Valle, R. E., y Villegas-Aparicio, Y. (2017). Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en Valles Centrales de Oaxaca. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(2). 281-293.

- Pérez-Castañeda, L. M., Castañón-Nájera, G., Ramírez-Meraz, M., y Mayek-Pérez, N. (2015). Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de *Capsicum* spp. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 2(4), 117-128.
- Piñero, D., Caballero-Mellado, J., Cabrera-Toledo, D., Canteros, C. E., Casas, A., y Castañeda-Sortibrán, A. (2008). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. *Capital natural de México*, 1, 437-494.
- Reeves, G., Monroy-Barbosa, A., y Bosland, P. W. (2013). A novel *Capsicum* gene inhibits host-specific disease resistance to *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, 103(5), 472-478.
- Reifschneider, F. J. B., Boiteux, L. S., Della V., P. T., Poulos, J. M., y Kuroda, N. (1992). Inheritance of adult-plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. *Euphytica*, 62(1), 45-49.
- Ristaino, J. B., y Johnston, S. A. (1999). Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease*, 83(12), 1080-1089.
- Roig, J. M., Occhiuto, P., Piccolo, R. J., y Galmarini, C. R. (2009). Evaluación de resistencia a *Phytophthora capsici* Leo. en germoplasma argentino de pimiento para pimentón. *Horticultura Argentina*.
- Ros, C., Martínez, M. A., Guerrero, M. M., Torres, J., Lacasa, M. C., Lacasa, A., & Bello, A. (2007). Comportamiento de la resistencia a *Phytophthora* y *Meloidogyne* de patrones de pimiento. *Actas de Horticultura*, 48, 534-537.
- Sanogo, S., (2006). Predispositional effect of soil water saturation on infection of chile pepper by *Phytophthora capsici*. *HortScience* 41 (1), 172e175.
- Sanogo, S., y Bosland, P. W. (2013). Biology and management of *Phytophthora capsici* in the Southwestern USA. *Phytophthora: A Global Perspective. CABI Plant Protection Series, Oxfordshire*. 87-95.

- Sanogo, S., y Ji, P. (2012). Integrated management of *Phytophthora capsici* on solanaceous and cucurbitaceous crops: current status, gaps in knowledge and research needs. *Canadian journal of plant pathology*, 34(4), 479-492.
- SIAP. (2016). Anuario estadístico de la producción agrícola. SIAP. México. Consultado el 19 de septiembre del 2018. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Sierra-Muñoz, J. C., Siqueiros-Delgado, M. E., Flores-Ancira, E., Moreno-Rico, O., y Arredondo-Figueroa, J. L. (2015). Riqueza y distribución de la familia Solanaceae en el estado de Aguascalientes, México. *Botanical Sciences*, 93(1), 97-117.
- Silvar, C., Díaz, J., y Merino, F. (2005). Real-time polymerase chain reaction quantification of *Phytophthora capsici* in different pepper genotypes. *Phytopathology*, 95(12), 1423-1429.
- SNICS. (2017). Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. Consultado el 17 de julio del 2019 en: <https://www.gob.mx/snics/documentos/carteles-de-diversidad-de-cultivos-nativos-de-mexico>
- Soto, A. (2018). Principales enfermedades que afectan el chile. *Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín No. 360. Santiago de Chile. 69-76.
- Tian, D., y Babadoost, M. (2004). Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. *Plant Disease*, 88(5), 485-489.
- Uribe, L., Castro, L., Arauz, L. F., Henríquez, C., y Blanco, M. (2014). Pudrición basal causada por *Phytophthora capsici* en plantas de chile tratadas con vermicompost. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 243-253.
- Velásquez Valle, R., Reveles Torres, L. R., y Reveles Hernández, M. (2013). Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México.
- Velásquez, V. R., y Medina, A. M. M. (2006). Manejo Integrado de Enfermedades. Tecnología de producción de chile seco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Pabellón. Pabellón. Aguascalientes. México. Libro Técnico No 5. 121-150.

- Velásquez-Valle, R., Medina-Aguilar, M. M., y Luna-Ruiz, J. D. J. (2001). Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annuum* L.) en el norte-centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(2), 175-181.
- Velásquez-Valle, R., y Valle-Garcia, P. (1999). First report of powdery mildew of pepper in North-Central Mexico. *Plant Disease*, 83(3), 302-302.
- Walker, C. A. y Van West, P. (2007). Zoospore development in the oomycetes. *Fungal biology reviews*, 21(1), 10-18.
- Zhang, Z. G., Li, Y. Q., Fan, H., Wang, Y. C., y Zheng, X. B. (2006). Molecular detection of *Phytophthora capsici* in infected plant tissues, soil and water. *Plant pathology*, 55(6), 770-775.