



Pathogenicity of *Phytophthora capsici* Leon and *Rhizoctonia solani* Khün, on seedlings of 'costeño' pepper (*Capsicum annuum* L.)

Patogenicidad de *Phytophthora capsici* Leon y *Rhizoctonia solani* Khün, en plántulas de chile 'costeño' (*Capsicum annuum* L.)

Gómez-Hernández, D.¹; Carrillo-Rodríguez, J. C.¹; Chávez-Servia, J. L.^{2,3}; Perales-Segovia, C.³

¹Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, Ex-hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, C.P. 71230, Oaxaca, México.

²Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Oaxaca, Hornos Núm. 1003, Col. Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, C.P. 71230, Oaxaca México.

³Instituto Tecnológico El Llano, km. 18 Carr. Aguascalientes-San Luis Potosí, C.P. 20256, El Llano, Aguascalientes, México.

Cite this paper/Como citar este artículo: Gómez-Hernández, D.; Carrillo-Rodríguez, J. C.; Chávez-Servia, J. L.; Perales-Segovia, C. (2018). Pathogenicity of *Phytophthora capsici* Leon and *Rhizoctonia solani* Khün, on seedlings of 'costeño' pepper (*Capsicum annuum* L.). *Revista Bio Ciencias* 5, e356. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.05.e356>



ABSTRACT

For decades, there has been a need to continuously evaluate the *Capsicum* germplasm to identify sources of resistance to *Phytophthora capsici* and *Rhizoctonia solani*. The objective of this study was to evaluate the pathogenicity and severity of eight *P. capsici* isolates and two *R. solani* isolates in 'costeño' pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.). Chile pepper plants exhibiting symptoms of wilt were collected from 11 communities in Oaxaca, and eight isolates of *P. capsici* and two of *R. solani* were obtained in the laboratory from diseased tissue. Of these isolates, two independent experiments were designed according to the pathogen using a randomized complete block design with three replicates in 'costeño' pepper seedlings that

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: September 27th 2017.

Accepted/Aceptado: March 6th 2018.

Available on line/Publicado: November 12th 2018.

RESUMEN

Desde hace décadas existe la necesidad de evaluar continuamente germoplasma de *Capsicum* para identificar fuentes de resistencia a *Phytophthora capsici* y *Rhizotonia solani*. El objetivo fue evaluar la patogenicidad y severidad de ocho aislamientos de *P. capsici* y dos de *R. solani* en plántulas de chile Costeño (*Capsicum annuum* L.). Plantas de chiles con síntomas de marchitez fueron colectadas en 11 comunidades de Oaxaca y a partir de tejido enfermo se obtuvieron ocho aislamientos de *P. capsici* y dos de *R. solani* en laboratorio. De estos aislamientos se integraron dos experimentos independientes por patógeno, bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, en plántulas de chile 'costeño' previamente germinadas e inoculadas a 17 días posteriores al trasplante. Determinándose diferencias significativas entre origen de inóculos de *P. capsici* para todas las variables evaluadas, y se determinó que una vez invadida la plántula por el patógeno, ésta muere en menos de 21 días. Entre aislamientos de *R. solani* no hubo diferencias significativas

*Corresponding Author:

Chávez-Servia, José Luis. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Oaxaca, Hornos Núm. 1003, Col. Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, C.P. 71230, Oaxaca México. E-mail: jchavez@ipn.mx

were previously germinated and inoculated 17 days after transplantation. Significant differences between the *P. capsici* inocula origin were observed for all the evaluated variables, and it was determined that once the seedling was invaded by the pathogen, it died in less than 21 days. Among the *R. solani* isolates, there were no significant differences in the damage variables, but they could cause seedling death in less than 15 days after inoculation. Regarding pathogenicity, the *P. capsici* isolates from San José El Progreso and San A. Castillo Velasco, Oaxaca, caused greater damage and seedling death in less than 10 days; thus, they are useful for identifying possible sources of tolerance among pepper populations. In *R. solani*, the isolates from San Sebastián Abasolo (RS7) and El Arrogante, Ejutla de Crespo (RS52) did not show significant differences in terms of virulence in the pepper seedlings.

KEY WORDS

Pathogenic isolates, pathogenic complex, pepper wilt, pathosystems.

Introduction

Chile pepper wilt is a difficult-to-control plant disease, and there are no simple methods or strategies that allow for the adequate control of the pathogen complex, which is composed of *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Macrophomina* spp., *Pythium* spp. and *Scerotium rolfsii*, among others (Ristaino & Johnston, 1999; Velásquez-Valle *et al.*, 2001 and 2003; González-Pérez *et al.*, 2004; Rico-Guerrero *et al.*, 2004; Vásquez *et al.*, 2009; Montero-Tavera *et al.*, 2013). Each pathogen can act in isolation, although the presence of complexes is common. Among the most aggressive and pathogenic are *Phytophthora capsici* and *Rhizoctonia solani*. The presence of pathogen complexes makes it difficult to establish a specific epidemiological pattern, and as a result, several control strategies must be used (Montero-Tavera *et al.*, 2013) because up to 100 % of losses can occur during chili pepper production.

R. solani is a soil-borne pathogen that is very aggressive to newly transplanted seedlings when there is excess moisture in the transplant soil or bed. It is a pathogen that causes damping off of seedlings, and its prevalence and incidence is high in fields and greenhouses and in

en variables de daño pero llegan a provocar la muerte de plántulas en menos de 15 días después de la inoculación. En cuanto a la patogenicidad, los aislamientos de *P. capsici* provenientes de San José El Progreso y San A. Castillo Velasco, Oaxaca, generaron mayor daño y muerte de plántulas en menos de 10 días, por lo que son útiles para identificar posibles fuentes de tolerancia entre poblaciones de Chile. En *R. solani*, los aislamientos de San Sebastián Abasolo (RS7) y El Arrogante, Ejutla de Crespo (RS52) no mostraron diferencias significativas en cuanto a virulencia sobre las plántulas de Chile.

PALABRAS CLAVE

Aislamientos, complejo patogénico, marchitez del Chile, patosistemas.

Introducción

La marchitez o secadera del Chile es un problema fitopatológico difícil de controlar, no existen métodos o estrategias simples que permitan un adecuado control del complejo patogénico integrado por: *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Macrophomina* spp., *Pythium* spp. y *Scerotium rolfsii*, entre otros (Ristaino & Johnston, 1999; Velásquez-Valle *et al.*, 2001 & 2003; González-Pérez *et al.*, 2004; Rico-Guerrero *et al.*, 2004; Vásquez *et al.*, 2009; Montero-Tavera *et al.*, 2013). Cada patógeno puede actuar de manera aislada aunque es común la presencia de complejos, entre los más agresivos y patogénicos se encuentran *Phytophthora capsici* y *R. solani*. La presencia de complejos patogénicos hace difícil establecer un patrón epidemiológico específico, y en consecuencia deben utilizarse varias estrategias de control (Montero-Tavera *et al.*, 2013) debido a que se producen pérdidas de hasta 100 % en la producción de Chile.

R. solani es un patógeno que se propaga en el suelo y presenta alta agresividad en plántulas recién trasplantadas con excesos de humedad en el suelo o cama de trasplante. Es un patógeno que causa el síntoma de *damping off* o ahogamiento de plántulas y la prevalencia e incidencia es frecuente en campos e invernaderos y cultivos con siembras continuas de hortalizas sin rotaciones. El patógeno permanece en el suelo después de cada ciclo de cultivo en etapas tanto parasítica como saprofítica con reproducciones sexuales y asexuales. Regularmente en suelos infestados permanecen micelios o esclerocios

vegetable crops with no crop rotations. This pathogen remains in soil after each crop growth cycle in both the parasitic and saprophytic stages with sexual and asexual reproduction. The mycelia or sclerotia created by asexual reproduction usually remain in infested soils, and these structures are the source of crop infections. They form dense masses of moniloid cells as a mechanism for protecting themselves against environmental changes by producing exudates composed of phenolic compounds, carboxylic acids, carbohydrates, fatty acids and amino acids, which help increase their fungal and phytotoxic activity (Aliferis & Jabaji, 2010; Zachow et al., 2011).

During the initial growth phase of seedlings, *R. solani* causes mortality close to 25 % of the crop, and it is usually associated with *Pythium*, which also causes wilt or damping off (González-Pérez et al., 2004) and damages up to 33 % of productive adult plants (Montero-Tavera et al., 2013). To date, several management strategies have been proposed for crops infested with *R. solani*, such as the use of bacteria of the *Bacillus* genus, among other microorganisms and chemical products. However, the results have been unfavorable (Velásquez-Valle et al., 2003; Guillén-Cruz et al., 2006).

P. capsici causes severe losses during *Capsicum* spp. production because it survives from crop cycle to crop cycle in residues from the previous crop in the form of oospores, which are resistant to drought and extreme climate variations for several years, even in the absence of host plants, and they later germinate with moisture (Banadoost, 2005). Severe infections cause root rot, strangulation of the stem base, yellowing, leaf shedding and plant death.

The lesions caused by *P. capsici* are overrun by other pathogenic oomycetes (Avelar & Marban, 1989; Velásquez-Valle et al., 2001). The planting soils overrun by this pathogen favor sexual and asexual reproduction, and therefore, they favor the presence of multiple pathogenic races. In *Capsicum*, up to 20 races of *P. capsici* have been identified; the most common races cause root rot and four induce leaf blights. In all cases, the sources of host resistance are controlled by multigene complexes (Lefebvre & Palloix, 1996; Oelke et al., 2003; Sy et al., 2008). In addition to the diversity of pathogenic races, there is high variability in the virulence among isolates with the same geographic origin (Muhyi & Bosland, 1995; González-Pérez et al., 2004).

generados por reproducción asexual y estas estructuras son la fuente de infección de los cultivos, debido a que forman densas masas de células moniloides como mecanismo de protección a los cambios ambientales mediante la producción de exudados formados por compuestos fenólicos, ácidos carboxílicos, carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos, que contribuyen a incrementar su actividad fúngica y fitotóxica (Aliferis & Jabaji, 2010; Zachow et al., 2011).

En la fase de crecimiento inicial de plántulas, *R. solani* causa una mortalidad cercana al 25 % del cultivo, usualmente se asocia con *Pythium*, ambos causan secadera o ahogamiento (González-Pérez et al., 2004), además de daños hasta 33 % de plantas adultas en producción (Montero-Tavera et al., 2013). Hasta ahora se han propuesto varias estrategias de manejo del cultivo infestado con *R. solani*, como el uso de bacterias del género *Bacillus* entre otros microorganismos y productos químicos, no obstante, los resultados han sido desfavorables (Velásquez-Valle et al., 2003; Guillén-Cruz et al., 2006).

P. capsici causa pérdidas severas en la producción de *Capsicum* spp. porque sobrevive de ciclo a ciclo de cultivo en residuos de la cosecha anterior en forma oosporas, las cuales resisten sequía, variaciones climáticas extremas durante varios años aun sin plantas hospederas y posteriormente germinan con la humedad (Banadoost, 2005). Las infecciones severas causan pudrición de raíz, estrangulamiento de base del tallo, amarillamiento, caída de hojas y muerte de la planta.

Las lesiones provocadas por *P. capsici* son invadidas por otros oomicetos patogénicos (Avelar & Marban, 1989; Velásquez-Valle et al., 2001). Los suelos de siembra invadidos por el patógeno favorecen su reproducción sexual y asexual y con ello la presencia de múltiples razas patogénicas. En *Capsicum* se han identificado hasta 20 razas de *P. capsici*, las más comunes generan pudrición de raíz y cuatro inducen tizones foliares y en todos los casos las fuentes de resistencia en el huésped están controladas por complejos multigénicos (Lefebvre & Palloix, 1996; Oelke et al., 2003; Sy et al., 2008). Además de la diversidad de razas patogénicas, se presenta una alta variabilidad en cuanto a virulencia entre aislamientos del mismo origen geográfico (Muhyi & Bosland, 1995; González-Pérez et al., 2004).

A pesar de las investigaciones realizadas falta documentar la distribución y agresividad de diferentes razas patogénicas de *P. capsici*, su variabilidad genética y quimiosensibilidad

Despite the research carried out on this subject, the distribution and aggressiveness of different pathogen races of *P. capsici*, their genetic variability and the chemosensitivity that promote damage to the plant have not been documented (Bower *et al.*, 2007; Meitz *et al.*, 2010; Oh *et al.*, 2010; Quesada-Ocampo *et al.*, 2011; Glosier *et al.*, 2008; Sy *et al.*, 2008). In addition, it is necessary to understand the behavior of pathogenic isolates and the variability in their infective potential (Quesada-Ocampo *et al.*, 2011) and evaluate the identification of etiological patterns or resistance in germplasm in the laboratory or field (Montero-Tavera *et al.*, 2013). In regional experiments to identify *Capsicum* resistance to pathogens that induce wilt, the isolates and pathogen races from the region will be released where the native plants or genetically improved material will be grown (Meitz *et al.*, 2010; Moran-Bañuelos *et al.*, 2010; Anaya-López *et al.*, 2011; Pérez-Acevedo, 2014).

It is generally difficult to predict the pathogenic behavior of a race and its isolates because it depends on the variations in the environmental conditions, the aggressiveness of the pathogenic race or anastomotic group as well as the host plant growth conditions (Ristaino & Johnston, 1999). Therefore, it is necessary to evaluate the aggressiveness of *P. capsici* (Gil-Ortega *et al.*, 1995; Black & Berke, 1998; Oelke *et al.*, 2003; Glosier *et al.*, 2008; Sy *et al.*, 2008) and *R. solani* (Muhyi & Bosland, 1995; El-Abdean *et al.*, 2013) by considering the different geographical origins of the isolates from each species. Thus, the pathogenicity and incidence of different *Phytophthora capsici* L. and *Rhizoctonia solani* isolates were evaluated in 'costeño' pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in Oaxaca, Mexico.

Materials and Methods

Collection of plants with symptoms caused by *P. capsici* and *R. solani*

Plants damaged by *P. capsici* and *R. solani* were collected from 11 communities in the Central Valleys of Oaxaca (also known as the Oaxaca Valley; Table 1) between 16° 01' and 17° 33' N, 95° 58' and 97° 30' W, a region with an average annual temperature between 18 and 22 °C and 725 mm of average annual rainfall. The exploration and collection was designed based on previous studies that reported the presence of *P. capsici* and *R. solani* pathogenic isolates (Vásquez *et*

que favorecen daños a la planta (Bower *et al.*, 2007; Meitz *et al.*, 2010; Oh *et al.*, 2010; Quesada-Ocampo *et al.*, 2011; Glosier *et al.*, 2008; Sy *et al.*, 2008). Además, se requiere conocer el comportamiento de aislamientos patogénicos, su variabilidad infectiva (Quesada-Ocampo *et al.*, 2011) y evaluar la identificación de patrones etiológicos o resistencias en germoplasma en laboratorio o campo (Montero-Tavera *et al.*, 2013). En ensayos regionales de *Capsicum* para identificar resistencia a patógenos que inducen la marchitez, se recomienda utilizar los aislamientos y razas patogénicas de la región en donde se piensa cultivar la población nativa o liberar el material mejorado (Meitz *et al.*, 2010; Moran-Bañuelos *et al.*, 2010; Anaya-López *et al.*, 2011; Pérez-Acevedo, 2014).

En general, es difícil predecir el comportamiento patogénico de una raza y sus aislamientos, este depende de la consecuencia de variación de las condiciones ambientales, agresividad de la raza patogénica o grupo anastomótico y condiciones de crecimiento de la planta huésped (Ristaino & Johnston, 1999). Por tanto, es necesario evaluar la agresividad de *P. capsici* (Gil-Ortega *et al.*, 1995; Black & Berke, 1998; Oelke *et al.*, 2003; Glosier *et al.*, 2008; Sy *et al.*, 2008) y *R. solani* (Muhyi & Bosland, 1995; El-Abdean *et al.*, 2013) considerándose diferentes orígenes geográficos de los aislamientos de cada especie. En este sentido, se evaluó la patogenicidad e incidencia de diferentes aislamientos de *Phytophthora capsici* L. y *Rhizoctonia solani* en plántulas de chile costeño (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México.

Materials and Methods

Colecta de plantas con síntomas causados por *P. capsici* y *R. solani*

Plantas con daño por *P. capsici* y *R. solani*, fueron colectadas en 11 comunidades de la región de Valles Centrales de Oaxaca (Table 1), entre 16° 01' y 17° 33' LN, 95° 58' y 97° 30' LO, región con una temperatura media anual entre 18 y 22 °C y 725 mm precipitación promedio anual. La exploración y colecta se diseñó en función de otros estudios previos que reportaron la presencia de aislamientos patogénicos por *P. capsici* y *R. solani* (Vásquez *et al.*, 2009; Pérez-Acevedo *et al.*, 2017). Se colectaron varias plantas de 'chile de agua' por comunidad, estas fueron transportadas en bolsas de plástico al laboratorio del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca.

Table 1.
Communities where were collected pepper plants with symptoms caused by
***P. capsici*, and *R. solani* from the Valles Centrales of Oaxaca, May-August 2015.**

Tabla 1.
Comunidades donde se colectaron plantas de chile con síntomas causados por
***P. capsici* y *R. solani* en los Valles Centrales de Oaxaca durante mayo-agosto de 2015.**

Community	Municipality	Latitude (N)	Longitude (W)	Altitude (m.a.s.l)
Ejutla de Crespo	El Arrogante, Ejutla de Crespo	16° 31'	96° 41'	1,550
San José El Progreso	San José El Progreso	16° 41'	96° 41'	1,580
Ocotlán de Morelos	Ocotlán de Morelos	16° 48'	96° 40'	1,500
Del Magdalena Teitipac	Magdalena Teitipac	16° 54'	96° 33'	1,730
San Jerónimo Tlacoahuaya	San Jerónimo Tlacoahuaya	17° 00'	96° 09'	1,180
Villa de Etla	Villa de Etla	17° 12'	96° 48'	1,660
San Juan de Dios	Reyes Etla	17° 12'	96° 49'	1,630
San A. Castillo Velasco	San Jerónimo Taviche	16° 48'	96° 41'	1,480
El Carrizal	Cuillapan de Guerrero	16° 59'	96° 47'	1,560

al., 2009; Perez-Acevedo et al., 2017). Several 'chile de agua' pepper plants were collected from each community and were transported in plastic bags to the laboratory at the Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca.

Isolation and multiplication of *P. capsici* and *R. solani*

From chili pepper plants damaged by *P. capsici*, 1-cm stem sections were cut, washed in running water and disinfected with 1.5 % sodium hypochlorite. They were then transferred to petri dishes containing PDA (potato, dextrose and agar) medium and V8[®] Juice (20 %), and they were incubated in a humidity chamber at room temperature under white light for 10 days. Once the growth was identified as *P. capsici* according to the keys by Romero-Cova (1988), the isolates were placed in new petri dishes to multiply. The release of the zoospores was induced by decreases in temperature for half an hour in a refrigerator at a temperature of 5 °C followed by one hour at room temperature, and this procedure was repeated four times. The concentration was adjusted to 25,000 zoospores m L⁻¹ of water with the help of a Neubauer chamber.

For *R. solani*, RS-1 and RS-2 were used; these were obtained from diseased chili pepper plants from crops established in the Ejutla-Ocotlan region of Oaxaca. The isolates were cultivated in PDA for seven days at room

Aislamiento y multiplicación de *P. capsici* y *R. solani*

De plantas de chile con daño por *P. capsici*, se cortaron segmentos de tallo de 1 cm, se lavaron en agua corriente y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1.5 %. Posteriormente fueron transferidos a cajas petri con medio de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar) más Jugo V8[®] (20 %) y se incubaron en una cámara húmeda a temperatura ambiente y luz blanca durante 10 días. Una vez que hubo crecimiento se identificó como *P. capsici*, de acuerdo con las claves de Romero-Cova (1988), los aislamientos se colocaron en nuevas cajas petri para multiplicarse. La liberación de las zoosporas se indujo mediante descensos de temperatura por periodos de media hora en un refrigerador a una temperatura de 5 °C y después una hora a temperatura ambiente, repitiendo este procedimiento cuatro veces. Se ajustaron a una concentración de 25,000 zoosporas m L⁻¹ de agua con la ayuda de la cámara de Neubauer.

R. solani (RS-1 y RS-2), fueron obtenidos de plantas enfermas de cultivos de chile establecidos en la región de Ejutla-Ocotlan, Oaxaca. Los aislamientos se incrementaron en papa-dextrosa-agar (PDA), durante siete días a temperatura ambiente y en oscuridad. Después a la multiplicación del hongo que estaba en cajas petri se le adicionó 10 mL de agua, posteriormente con una espátula

temperature in the dark. Once the fungus that had been placed in the petri dishes had multiplied, 10 mL of water was added; the mycelium was subsequently removed with a spatula to make a homogeneous mixture and the solution was adjusted to a concentration of 90,000 fragments m^{-1} of water with the help of the Neubauer chamber. This solution was used to inoculate the chili pepper seedlings.

Inoculation and evaluation of pathogenicity

To evaluate the pathogenicity of *P. capsici* and *R. solani*, a population of 'costeño' peppers (*Capsicum annuum* L.) was used. The sowing and seedling growth occurred from September to November 2015 in polystyrene trays containing *Peat moss*® substrate in the greenhouse at the Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. When the seedlings had 4 to 6 true leaves, they were transplanted to 1-L Styrofoam pots with vermiculite (inert substrate), and they were watered with 15-30-15 Ultrasol fertilizer (initial stage). In both cases, the evaluations were made under a randomized complete block design with three repetitions and 12 seedlings as experimental units plus an uninoculated control. Eight isolates of *P. capsici* and two of *R. solani* were evaluated during independent experiments.

Seventeen days after transplantation, the plants were inoculated with *P. capsici* isolates that were previously prepared by adding 10 mL of a solution containing 25,000 zoospores/mL in distilled water to the base of the stem. The plants were subsequently irrigated to the daily field capacity to promote infection by the pathogen. The greenhouse

se retiró el micelio para hacer una mezcla homogénea, la solución se ajustó a una concentración de 90,000 fragmentos m^{-1} de agua con la ayuda de la cámara de Neubauer. Con esta solución se hicieron las inoculaciones a las plántulas de Chile.

Inoculación y evaluación de la patogenicidad

Para evaluar la patogenicidad de *P. capsici* y *R. solani*, se utilizó una población de Chile costeño (*Capsicum annuum* L.). La siembra de semilla y crecimiento de plántulas se realizó de septiembre a noviembre de 2015, en charolas de poliestireno con sustrato *Peat moss*®, en condiciones de invernadero del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Cuando las plántulas tenían de 4 a 6 hojas verdaderas se trasladaron a vasos de unícel de capacidad de 1 L, con vermiculita (sustrato inerte), dándoles riegos con el fertilizante 15-30-15 Ultrasol (etapa inicial). En ambos casos las evaluaciones se hicieron bajo un diseño bloques completos al azar con tres repeticiones y 12 plántulas como unidad experimental más un testigo sin inocular. Se evaluaron ocho aislamientos de *P. capsici* y dos de *R. solani* en experimentos independientes.

A 17 días de trasplante, se hicieron inoculaciones con los aislamientos de *P. capsici*, previamente preparados mediante una aplicación de 10 mL de una solución de 25,000 zoosporas/mL de agua destilada, a la base de tallo. Posteriormente, se regaron las plantas a capacidad de campo diario para favorecer la infección del patógeno. Los regímenes de temperatura (22 a 36 °C) y humedad relativa (42 a 100 %) en invernadero durante el desarrollo del experimento se presentan en la Figura 1.

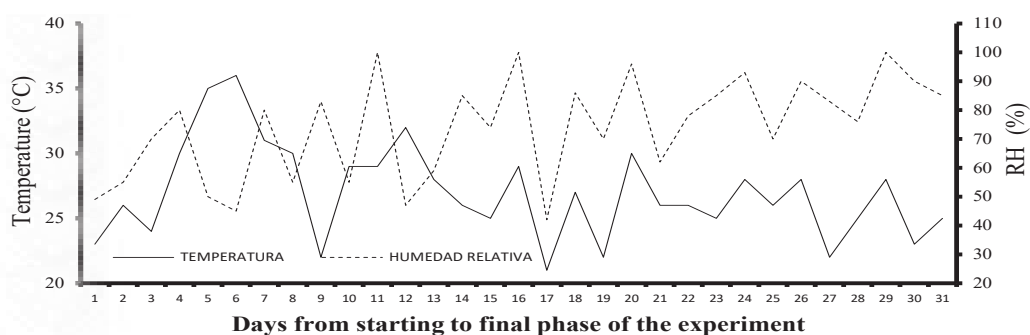


Figure 1. Regimes of temperatures and relative humidity percentage (RH) during evaluation of damages by *P. capsici* and *R. solani*.

Figura 1. Regímenes de temperaturas y porcentaje de humedad relativa (RH) durante la evaluación de daños generado por *P. capsici* y *R. solani*.

temperature (22 to 36 °C) and relative humidity (42 to 100 %) readings in the greenhouse during the experiment are shown in Figure 1.

Twenty-eight days after the transplantation (6 true leaves), *R. solani* was inoculated (90,000 fragments/mL of water) at the base of the stem, and irrigation was performed to promote pathogen growth. The temperature oscillations in the greenhouse ranged from 22 to 28 °C and the relative humidity ranged from 45 to 100 % (Figure 1).

Once the first damage by *P. capsici* was observed in the pepper seedlings, the incidence of damage by treatment (isolates) was evaluated every 24 hours (when they reached 100 % damage) by using an ordinary scale from 0 (no damage) to 10 (necrotic tissue and dead plants), as previously described by Moran-Bañuelos et al. (2010). With the recorded readings, the incidence of damage was estimated using the following formula:

$$li = \sum \left(\frac{ni}{Ni} \right) * 100$$

Where li = incidence of diseased seedlings at moment i ; ni = number of diseased seedlings at time i ; and Ni = total population of inoculated seedlings. The days elapsed from the transplantation to the death of the seedlings were also evaluated once the first incidence of damage was observed; a weighted average for the damage was calculated and the cumulative damage was calculated based on the damage incidence scale (Moran-Bañuelos et al., 2010). A key variable was the disease progression through the area under the disease progress curve (AUDPC), which was based on the trapezoidal integration method, and it was determined using the following equation:

$$AUDPC = \sum_i^{n*1} \left\{ \left(\frac{y_{i+1} + y_i}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \right\}$$

Where n = number of evaluations; t_{i+1} = time of evaluation (d, days); t_i = time of (d) immediate evaluation; y_{i+1} = damage severity (%) in t_i ; and y_i = severity (%) in t_i . In addition, the number of dead plants was quantified by evaluating the isolate and days elapsed from the inoculation to the death of the plants, and for descriptive purposes, the percentage of dead plants was calculated.

Statistical analysis

From the data calculated in the damage assessments generated for each treatment or each isolate and in each repetition, analyses of variances and comparisons of means were performed by the Tukey

Después de 28 días del trasplante (6 hojas verdaderas) se inoculó *R. solani* (90,000 fragmentos/mL de agua) en la base del tallo realizando un riego para favorecer el crecimiento del patógeno. Las oscilaciones de temperatura en el invernadero fueron de 22 a 28 °C y humedad relativa de 45 a 100 % (Figura 1).

Una vez que se observó el primer daño a las plántulas de chile por *P. capsici*, se procedió a evaluar la incidencia de daño por tratamiento (aislamientos) cada 24 horas (cuando alcanzaron el 100 % de daño) mediante una escala ordinaria de 0 (sin daño) a 10 (tejido necrosado y plantas muertas), previamente descrita por Moran-Bañuelos et al. (2010). Con las lecturas registradas se estimó la incidencia de daño mediante la fórmula siguiente:

$$li = \sum \left(\frac{ni}{Ni} \right) * 100$$

Donde li = incidencia de plántulas enfermas en el momento i ; ni = número de plántulas enfermas en el momento i ; Ni = población total de plántulas inoculadas. También se evaluaron los días transcurridos desde el trasplante a la muerte de plántulas una vez que se observó la primera incidencia de daño, se calculó una media ponderada de daño y el daño acumulado con base en la escala de incidencia de daños (Moran-Bañuelos et al., 2010). Una variable clave fue el progreso de la enfermedad mediante el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC), con base en el método de integración trapezoidal, a través de la ecuación siguiente:

$$AUDPC = \sum_i^{n*1} \left\{ \left(\frac{y_{i+1} + y_i}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \right\}$$

Donde: n = número de evaluaciones; t_{i+1} = tiempo de evaluación (d, días); t_i = tiempo de evaluación (d) inmediata anterior; y_{i+1} = severidad de daño (%) en t_i ; y_i = severidad (%) en t_i ; Complementariamente, se cuantificó el número de plantas muertas por aislamiento evaluado y días transcurridos desde la inoculación hasta la muerte de plantas, y con fines descriptivos se calculó el porcentaje de plantas muertas.

Análisis estadístico

A partir de los datos calculados en las evaluaciones de daños generados por cada tratamiento o aislamiento y en cada repetición, se hicieron análisis de varianzas y comparaciones de medias por el método de Tukey ($p < 0.05$) con el propósito de determinar las diferencias entre aislamientos, en relación con el testigo. Los análisis se realizaron en el programa estadísticos SAS® versión 9.0.

method ($p < 0.05$) to determine the differences between the isolates and the control. The analyses were performed using SAS® version 9.0 statistical software.

Results and Discussion

Incidence of damage

The isolates obtained from diseased chili pepper plants in the Oaxaca Valley communities corresponded to *P. capsici*. The identification of the pathogen indicates that both the pathogen and the damages to the chili pepper crops in the Oaxaca Valley prevail, as previously documented by Vásquez *et al.* (2009) when they were studying the etiology of *P. capsici* in the same region. Lamour & Hausbeck (2002) noted that *P. capsici* is polycyclic; it can remain in the soil and produce sporangia that release spores, which are transported by wind or water. When the spores find adequate host and environmental conditions, the pathogen reproduces asexually or sexually, which bolsters the pathogen's invasion of crops such as the chili pepper. Thus, the chili pepper producers of the Oaxaca Valley do not sow the same crop continuously in the same plots if *P. capsici* damage has been observed during a crop cycle.

An evaluation of the incidence of damage caused by eight inocula and a control without inoculation showed significant differences ($p \leq 0.01$) between the origins of the inocula and the average damage, cumulative damage, days to seedling death and area under the disease progression curve (Table 2). The differences in the damage among origins of the inocula indicate that each isolate evaluated here has differences in the invasion and the death of cells, organs and seedlings, perhaps due to the aggressiveness or segregation of cell wall-degrading pectins (Feng *et al.*, 2010).

The seedling symptoms began with yellowing of the lower leaves, then the presence of gray to dark spots on the stem, the shedding of lower leaves, the onset of leaf wilt and stem collapse, and stem necrosis and seedling death (5 days). These are the characteristic symptoms of *Capsicum* spp. as indicated by Velásquez-Valle *et al.* (2001). The weighted average of the damages is an indicator of the percentage of seedling mortality through the evaluated experimental units. In this case, the isolates from San Jose del Progreso, Villa de Etla and San Antonino Castillo Velasco showed more than 40 % damage relative to the total seedlings as evaluated by isolate (Table 3).

Resultados y Discusión

Incidencia de daños

Los aislamientos obtenidos de plantas de chile enfermas en comunidades de Valles Centrales de Oaxaca, correspondieron a *P. capsici*. La identificación del patógeno indica que prevalece tanto el patógeno como los daños a los cultivos de chile en los Valles Centrales, tal como fue documentado previamente por Vásquez *et al.* (2009) al estudiar la etiología de *P. capsici* en la misma región. Lamour & Hausbeck (2002) señalan que *P. capsici* es policíclico, puede permanecer en el suelo, producir esporangios que liberan esporas, que son transportadas por el viento o agua, cuando encuentran hospederio y condiciones ambientales apropiadas el patógeno se multiplica de manera asexual o sexual, lo que potencializa la invasión de las plantas cultivadas como chile. Por esta circunstancia, los productores de chile de los Valles Centrales de Oaxaca no siembran de manera continua en las mismas parcelas si en algún ciclo de cultivo ya se observaron daños por *P. capsici*.

En la evaluación de incidencias de daño generada por ocho inóculos y un testigo sin inoculación, se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$), entre orígenes de inóculos con relación al promedio de daño, daño acumulado, días a muerte de plántulas y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (Tabla 2). Las diferencias de daño entre orígenes de inóculos indican que, cada aislamiento evaluado tienen diferencias en invasión, muerte de células, órganos y plántulas, quizás por la agresividad o segregación de pectinas degradadoras de las paredes celulares (Feng *et al.*, 2010).

Los síntomas en plántula iniciaron con amarillamiento de hojas inferiores, después presencia de manchas grisáceas a oscuras en tallo, caída de hojas inferiores, inicio de marchitez en hojas e inclinación de tallo hasta incrementar la necrosis de tallo y finalmente muerte de plántula (5 días), tal como señala Velásquez-Valle *et al.*, (2001), quienes reportan los síntomas característicos para *Capsicum* spp. La media ponderada de daños es un indicador del porcentaje de mortalidad de plántulas a través de las unidades experimentales de evaluación. En este caso, los aislamientos provenientes de San Jose del Progreso, Villa de Etla y San Antonino Castillo Velasco presentaron más de 40 % de daño en relación al total de plántulas evaluadas por aislamiento (Tabla 3).

Los resultados mostraron que, una vez que *P. capsici* invade la plántula termina por provocar su muerte en menos de 25

Table 2.
Significance of square means in the analysis of variances of variables indicators of damage caused by inoculations of *Phytophthora capsici* to seedlings of 'costeño' pepper.

Tabla 2.
Significancia de cuadrados medios de los análisis de varianzas de variables indicadoras de incidencia de daño generado por aislamientos de *Phytophthora capsici* en plántulas de chile 'costeño'.

Sources of variation	df	Weighted average of damage	Cumulative damage	Days to death of seedlings	AUDPC ¹
Replications (R)	2	2.3 ^{ns}	9.2 ^{ns}	0.26 ^{ns}	70.6 ^{ns}
Inoculums	7	71.2 ^{**}	106.9 ^{**}	20.82 ^{**}	3631.7 ^{**}
Seedlings/R	33	1.6 ^{ns}	21.3 ^{ns}	0.55 ^{ns}	97.3 ^{ns}
Error	23	2.02	21.8	0.56	110.3
Variation coef. (%)	6	27.2	26.3	20.2	30.1

df= degree freedom; ^{ns}not significant ($p>0.05$); ^{**}significant at $p\leq 0.01$. ¹AUDPC= Area under disease progress curve.

df= grado de libertad; ^{ns}no significativas ($p>0.05$); ^{**}significativo a $p\leq 0.01$. ¹AUDPC= área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

Table 3.
Comparison of means of damage incidence by eight isolate de *P. capsici* on seedlings of 'costeño'

Tabla 3.
Comparación de promedios de incidencia de daño generado por ocho aislamientos de *P. capsici*, en plántulas de chile 'costeño'.

Origin of isolates from Oaxaca, Mexico	Weighted average of damage	Cumulative damage	Days to death of seedlings	AUDPC ¹ (%)
San José El Progreso	47.1 a ²	390.8 ab	8.7 e	2056.3 a
Ocotlán de Morelos	15.9 d	347.2 abc	23.8 a	544.5 d
Magdalena Teitipac	27.3 b	343.1 abc	13.9 cd	1509.4 b
San Jerónimo Tlacoahuaya	17.0 cd	283.7 bc	20.4 ab	810.1 cd
Villa de Etla	43.2 a	415.6 a	10.2 de	1958.3 a
San Juan de Dios Etla	17.9 bcd	251.6 c	19.9 ab	838.3 cd
San A. Castillo Velasco, San Jerónimo Taviche	50.0 a	365.6 abc	7.5 e	2160.6 a
El Carrizal, Cuilapam	26.4 bc	299.4 abc	16.6 bc	1235.6 bc
Testigo sin inoculaciones	WVD ³	WVD	WVD	WVD

¹AUDPC = Area under disease progress curve, on base to Moran-Bañuelos et al. (2010); ²in column, means with letter are not different significantly (Tukey's test, $p<0.05$); ³WVD = without visual damage.

¹AUDPC = área bajo la curva del progreso de la enfermedad, con base en Moran-Bañuelos et al. (2010); ²en columna, medias con la misma letra no difieren significativamente (Tukey's test, $p<0.05$); ³WVD = sin daño visual.

The results showed that once *P. capsici* invades the seedling, it causes seedling death in less than 25 days. However, the most aggressive isolates were those collected in San José del Progreso, San Antonino Castillo Velasco, and Villa de Etla and Magdalena Teitipac, which cause seedling death in 7.5 to 14 days (Table 3). Although the pathogenic races were not identified, we can infer that each inoculum has the capacity to invade the intercellular spaces or break the cell walls in the roots, stems, and leaves and cause the deaths of chili pepper seedlings.

Regarding the area under the disease progress curve (AUDPC), previous observations regarding the incidence of the disease were confirmed. The inocula obtained in San José del Progreso, Villa de Etla and San Antonino Castillo Velasco showed greater areas under the curve and significant differences in the areas estimated for the inoculants from Ocotlán, San Jerónimo Tlacochahuaya and San Juan de Dios Etla (Table 3). The variation in AUDPC values had a significant negative correlation ($r=-0.97$) with the days elapsed from inoculation to seedling death. The larger the AUDPC, the shorter the time was leading to seedling death, which suggests different pathogenicity among isolates.

The results for the incidence of damage caused by different isolates from different communities show that the 'costeño' pepper population was susceptible to *P. capsici*. Therefore, 'costeño' pepper is not a source of germplasm for *P. capsici* resistance. Thus, only isolates with a higher degree of pathogenicity should be evaluated to identify *P. capsici* tolerance or possible resistance among populations or accessions of chili peppers.

Incidence of damage by *Rhizoctonia solani*

The first detection of damage occurred five days after inoculation, and from that day on, the recording of the damage incidence in the 'costeño' pepper plants began. In the analysis of variance, there were no significant differences ($p<0.05$) between the isolates in relation to the area under the disease progress curve (AUDPC), the plant damage and the days to the deaths of the plants (Table 4).

In the comparison of the damage effect caused by inoculations of *R. solani* in 'costeño' pepper seedlings, significant differences were observed with respect to the control. In this case, the control did not exhibit damage, unlike the inoculated treatments, thereby confirming that

días. No obstante, los aislamientos más agresivos fueron las colectas en San José del Progreso, San Antonino Castillo Velasco, Villa de Etla y Magdalena Teitipac, las que entre 7.5 y 14 días provocan la muerte de plántulas (Tabla 3). Aun cuando no se hizo la identificación de razas patogénicas podemos inferir que cada inóculo tiene capacidad de invadir espacios intercelulares o romper las paredes celulares en raíces, tallo, hojas y provocar la muerte de plántulas de Chile.

Con relación al área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC), se confirmaron las observaciones previas respecto a la incidencia de la enfermedad. Los inóculos obtenidos en San José del Progreso, Villa de Etla y de San Antonino Castillo Velasco, presentaron una mayor área bajo la curva y diferencias significativamente del área estimada para los inóculos originarios de Ocotlán, San Jerónimo Tlacochahuaya y de San Juan de Dios Etla (Tabla 3). La variación en valores de AUDPC presentó una correlación negativa y significativa ($r=-0.97$) con respecto a los días transcurridos desde la inoculación hasta la muerte de las plántulas, a mayor área menor tiempo para generar muerte de las plántulas lo cual sugiere diferencias entre aislamientos respecto a su patogenicidad.

Los resultados de incidencia de daño generado por diferentes aislamientos provenientes de diferentes comunidades, muestran que la población de Chile costeño fue susceptible a *P. capsici*. Por lo tanto, el Chile costeño no es una fuente de germoplasma para resistencia a *P. capsici* entonces cuando se evalúa, deben considerarse solo los aislamientos de mayor grado de patogenicidad que permitan identificar tolerancias o posibles resistencias entre poblaciones o accesiones de Chile a *P. capsici*.

Incidencia de daño por *Rhizoctonia solani*

La primera detección de daño fue cinco días después de la inoculación, a partir de ese día se inició el registro de incidencia del daño en las plantas en Chile costeño. En el análisis de varianza no se mostraron diferencias significativas ($p<0.05$) entre aislamientos en relación al área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC), daño por planta y días a muerte de plantas (Tabla 4).

En la comparación del efecto de daño causado por inoculaciones de *R. solani* a plántulas de Chile costeño se observaron diferencias significativas respecto al testigo. En este caso, el testigo no presentó daño y a diferencia de los

Table 4.
Significance of square means of the analysis or variances of variables related with damage incidence by two isolations of *R. solani* on seedlings of 'costeño' pepper.

Tabla 4.
Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza de variables relacionadas con incidencia de daño generado dos aislamientos de *R. solani* en plántulas de chile 'costeño'.

Sources of variation	df	AUDPC ²	Damage per plant	Days to seedling deaths
Replications (R)	2	4.0 x 10 ⁻⁵ ns	0.09 ^{ns}	0.53 ^{ns}
Isolations	1	9.0 x 10 ⁻⁵ ns	0.76 ^{ns}	0.29 ^{ns}
Seedlings/R	33	6.9 x 10 ⁻⁵ ns	0.14 ^{ns}	--
Error	31	10.5 x 10 ⁻⁵	0.23	0.37
Variation coef. (%)		54.9	27.6	21.9

¹df = degree freedoms; ²AUDPC = Area under disease progress curve; ^{ns}not significant ($p > 0.05$).

¹df = grado de libertad; ²AUDPC = area bajo la curva del progreso de la enfermedad; ^{ns}no significativo ($p > 0.05$).

Table 5.
Comparison of means of damage incidence by inoculations of two isolates from *R. solani*, on seedlings of 'costeño' pepper.

Tabla 5.
Comparación de respuestas de incidencias de daño generada por inoculación de dos aislamientos de *R. solani*, en plántulas de chile 'costeño'.

Isolates of <i>R. solani</i>	AUDPC ²	Damage per plant (%)	Days to seedling deaths	Mortality (%)
Isolate 1	722.0 a ²	55.4 a	8.2 a	38.9
Isolate 2	443.9 a	39.4 a	9.2 a	33.3
Control without inoculum	WVD ³	WVD	0.0	0.0

¹AUDPC = Area under disease progress curve; ²means with same letter are not different significantly (Tukey's test, $p < 0.05$); ³WVD = without visible damage.

¹AUDPC = área bajo la curva del progreso de la enfermedad; ²promedios con la misma letra no difieren significativamente (Tukey's test, $p < 0.05$); ³WVD = sin daño visible.

the presence of *R. solani* causes severe damage to the seedlings and is a relevant pathogen in the complex that induces pepper wilt as reported by Velásquez-Valle *et al.* (2001) and Vásquez *et al.* (2009). Among the isolates evaluated here, no significant differences were detected ($p > 0.05$) for all the evaluated variables, including the number of days to diseased seedling death and the mortality percentage, but they differed significantly with respect to the control (Table 5).

The absence of significant differences in all the variables evaluated between the inoculations of the isolates does

tratamientos con inoculaciones, confirma que la presencia de *R. solani* causa severos daños a las plántulas y es un patógeno relevante en el complejo que induce la marchitez del chile como lo reportan Velásquez-Valle *et al.* (2001) y Vásquez *et al.* (2009). Entre aislamientos evaluados no se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) para todas las variables evaluadas, incluyendo día a muerte de plántulas enfermas y porcentaje de mortalidad pero difieren significativamente respecto al testigo (Tabla 5).

La ausencia de diferencias significativas en todas las variables evaluadas entre las inoculaciones de los

not indicate the absence of damage (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017). The evidence of damage is observed in the area under the disease progress curve from 443.9 to 722.0 units, with the damage percentages per plant ranging from 39.9 to 55.4 %. In this study, once the seedlings showed increasing damage progress, death occurred from 8.2 to 9.2 days on average, and there was a mortality of 33.3 to 38.9 %. This result suggests that the *R. solani* isolates evaluated here were virulent in 'costeño' pepper seedlings and can cause important economic losses by affecting plants that initially grew and produced crops.

In the field, high soil humidity, high relative humidity, cloudy days and high temperatures favor the presence of *R. solani*, thereby resulting in the *damping off* of seedlings (González-Perez *et al.*, 2004), and when combined with *Phytophthora capsici*, it leads to chili pepper wilt. In this experiment, the results show that the conditions in which the experiment was performed also favored the presence of *R. solani*, and therefore, it is possible to conduct experimental evaluations of chili pepper populations to detect possible sources of tolerance or resistance to this pathogen.

Cubeta & Vilgalys (1997) and Muhyi & Bosland (1995) argue that it is pertinent to evaluate the *R. solani* tolerance or resistance of new genetic stocks or new improved varieties using inoculations of the pathogen with different geographical origins for the isolates. This approach is suggested because it is not sufficiently ethical to declare a population or variety of chili pepper 'resistant' unless it has been evaluated against a broad sample of genetic variability from virulent sources of *R. solani* and *P. capsici*. That is, susceptible populations must be rigorously separated from tolerant or resistant populations or varieties.

Conclusions

The isolates of *P. capsici* with greater pathogenicity were those from San José del Progreso and San Antonino Castillo Velasco, and they may be useful for identifying possible sources of tolerance to *P. capsici*. The average damage by *R. solani* in 'costeño' pepper seedlings was greater than 40 %, which indicates that both evaluated isolates are pathogenic. The population of 'costeño' pepper used in this study was susceptible to both pathogens.

aislamientos no indican ausencia de daño (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017). La evidencia de daño se observa en el área bajo la curva del progreso de la enfermedad de 443.9 a 722.0 unidades con porcentajes de daños por planta de 39.9 a 55.4 %. En este ensayo, una vez que las plántulas presentaron progreso creciente de daño, se presentó la muerte de 8.2 a 9.2 días en promedio y con una mortalidad de 33.3 a 38.9 %. Esto sugiere que, los aislamientos evaluados de *R. solani* fueron virulentos en plántulas de chile costeño y pueden generar pérdidas económicas importantes mediante reducciones en plantas de crecimiento inicial y en cultivos en producción.

En campo, la presencia de *R. solani* se favorece con alta humedad en el suelo, alta humedad relativa y días nublados, además las altas temperaturas genera *damping off* o ahogamiento de plántulas (González-Perez *et al.*, 2004) y cuando se combina con *Phytophthora capsici* produce el síntoma de marchitez del chile. En este ensayo, los resultados muestran que las condiciones en que se llevó a cabo el experimento favorecieron la presencia *R. solani* y por tanto, es posible realizar evaluaciones experimentales de poblaciones de chile para detectar posibles fuentes de tolerancia o resistencia a este patógeno.

Cubeta & Vilgalys (1997) y Muhyi & Bosland (1995) argumentan que es pertinente evaluar la tolerancia o resistencia a *R. solani* de nuevos acervos genéticos o nuevas variedades mejoradas frente a inoculaciones del patógeno con diferente origen geográfico de tales aislamientos. Todo esto debido a que no es razonablemente ético declarar a una población o variedad de chile como resistente sino se ha evaluado frente a una muestra amplia de variabilidad genética de fuentes virulentas de *R. solani* y *P. capsici*. Esto es, se debe separar rigurosamente posibles poblaciones o variedades con fuentes de tolerancia o resistencia de las poblaciones susceptibles.

Conclusiones

Los aislamientos de *P. capsici* con mayor patogenicidad fueron las originarias de San José del Progreso y de San Antonino Castillo Velasco, y pueden ser útiles para identificar posibles fuentes de tolerancia a *P. capsici*. El daño promedio en plántulas de chile costeño por *R. solani* fueron mayores a 40 % lo que coloca a ambos aislamientos evaluados como patógenos. La población de chile costeño utilizada en este ensayo fue susceptible para ambos patógenos.

References

- Aliferis, K. A., & Jabaji, S. (2010). Metabolite composition and bioactivity of *Rhizoctonia solani* sclerotial exudates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 7604-7615. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20527951>
- Anaya-López, J. L., González-Chavira M. M., Villordo-Pineda E., Rodríguez-Guerra, R., Rodríguez-Martínez, R., Guevara-González, R. G., Guevara-Olvera, L., Montero-Tavera, V., and Torres-Pacheco, I. (2011). Selección de genotipos de Chile resistentes al complejo patogénico de la marchitez. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2: 373-283. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342011000300006
- Avelar, M. J., & Marban, M. (1989). Intentos de control de la marchitez del Chile ocasionado por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo, Puebla. *Memorias del XVI Congreso Nacional de Fitopatología*. Sociedad Mexicana de Fitopatología, A. C. Montecillo, Texcoco, México.
- Banadoost, M. (2005). Managing *Phytophthora* blight of cucurbits. III. *Fruit Veg. News*, 11: 80-81. https://ag.purdue.edu/hla/fruitveg/Presentations/egel_ppt.pdf
- Black, L. L., & Berke, T. (1998). Breeding for *Phytophthora* resistance in pepper. Xth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* & Eggplant, Avignon, France, pp: 115-119.
- Bower, J.H., Martin, F.N., Tooley, P.W., and Luz, E.D.M.N. (2007). Genetic and morphological diversity of temperate and tropical isolates of *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 97: 492-503. file:///D:/Descargas/2197_.pdf
- Cubeta, M. A., & Vilgalys, R. 1997. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. *Phytopathology* 87: 480-484. <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO.1997.87.4.480>
- El-Abdean, W. Z., Abo-Elyousr, K. A. M., Hassan, M. H. A., and El-Sheakh, M. M. (2013). Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* isolates the incitant of soybean root rot. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 46: 1108-1117. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03235408.2012.759407>
- Feng, B., Li P., Wang H., and Zhang, X. (2010). Functional analysis of *Pcprme6* from oomycete plant pathogen *Phytophthora capsici*. *Microbial Pathogenesis* 49:23-31. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401010000410>
- Gil-Ortega, R., Palazón-Español, C., and Cuartero-Zueco, J. (1995). Interactions in the pepper- *Phytophthora capsici* system. *Plant Breeding* 114: 74-79. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1995.tb00763.x>
- González-Pérez, E., Yáñez-Morales, M.J., Santiago-Santiago, V., and Montero-Pineda, A. (2004). Biodiversidad fungosa en la marchitez del Chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José Manzo, El Verde, Puebla. *Agrociencia* 38: 653-661. <http://www.colpos.mx/agrociencia/Bimestral/2004/nov-dic/art-9.pdf>
- Glosier, B. R., Oguniwin, E. A., Sidhu, G. S., Sischo, D. R., and Prince, J. P. (2008). A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica* 162: 23-30. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10681-007-9532-1.pdf>
- Guillén-Cruz, R., Hernández-Castillo, F.D., and Gallegos-Morales, G. (2006). *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de Chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 24: 105-114. <https://www.redalyc.org/html/612/61224204/>
- Lamour, K. H., & Hausbeck, M. K. (2002). The spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan and implications for disease management. *Phytopathology* 92: 681-684. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.6.681>
- Lefebvre, V., & Palloix, A. (1996). Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper – *Phytophthora capsici* Leonian. *Theoretical and Applied Genetics* 93: 503-511. <https://doi.org/10.1007/BF00417941>
- Meitz, J. C., Linde, C. C., Thompson, A., Langenhoven, S., and McLeod, A. (2010). *Phytophthora capsici* on vegetable hosts in South Africa: Distribution, host range and genetic diversity. *Australasian Plant Pathology* 39: 431-439. <https://doi.org/10.1071/AP09075>
- Montero-Tavera, V., Guerrero-Aguilar, B. Z., Anaya-López, J. L., Martínez-Martínez, T. O., Guevara-Olvera, L., and González-Chavira, M. M. (2013). Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kühn) de Chile en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4: 1043-1054. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000700006

- Moran-Bañuelos, S. H., Aguilar-Rincón, V. H., Corona-Torres, T., and Zavaleta-Mejía, E. (2010). Resistencia de *Phytophthora capsici* Leon de chiles nativos del sur de Puebla, México. *Revista de Fitotecnia Mexicana* 33(4): 21-26. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802010000500006
- Muhyi, R., & Bosland, P. W. (1995). Evaluation of Capsicum germplasm for sources of resistance to *Rhizoctonia solani*. *HortScience* 30(2): 341-342. <http://hortsci.ashspublications.org/content/30/2/341.full.pdf+html>
- Oelke, L. M., Bosland P. W. and Steiner R. (2003). Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annum*. *Journal of American Society of Horticulture Science* 128: 213-218. <http://journal.ashspublications.org/content/128/2/213.full.pdf>
- Oh, S. K., Kamoun, S. and Choi, D. (2010). Oomycetes RXLR effectors function as both activator and suppressor of plant immunity. *Plant Pathology Journal* 26: 209-215. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2010.26.3.209>
- Pérez-Acevedo, C. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., Perales-Segovia, C., Enríquez del Valle, R., and 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. <https://www.redalyc.org/html/2631/263150548003/>
- Quesada-Ocampo, L. M., Granke, L.L., Mercier, M. R., Olsen, J., and Hausbeck, M. K. (2011). Investigating the genetic structure of *Phytophthora capsici* populations. *Phytopathology* 101: 1061-1073. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-10-0325>
- Sy, O., Steiner, R., and Bosland, P. W. (2008). Recombinant inbred line differential identifies race-specific resistance to *Phytophthora* root rot in *Capsicum annum*. *Phytopathology* 98(8): 867-870. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-8-0867>
- Rico-Guerrero, L., Medina, R. S., Muños, S. C. I., Guevara, O. L., Guevara G. R., Guerrero, A. B. Z., Torres, P. I., Rodríguez, G. R., and González, C. M. M. (2004). Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plantas de chile (*Capsicum annum* L.) mediante PCR. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22: 1-6. <http://www.redalyc.org/pdf/612/61222101.pdf>
- Ristaino, J. B., & Johnston, S. B. (1999). Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Diseases* 83: 1080-1089. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.12.1080>
- Romero-Cova, S. (1988). Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México, 361 pp.
- Vásquez, L., Tlapal, B. A., Yáñez, M. M. J., Pérez, P. R., and Quinteros, E. M. (2009). Etiología de la marchitez del "chile de agua" (*Capsicum annum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 127-234. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802009000200008
- Velásquez-Valle, R., Medina-Aguilar, M. M., and Luna-Ruiz, J. J. (2001). Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annum* L.) en el norte-centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 175-181. <http://www.redalyc.org/pdf/612/61219207.pdf>
- Velásquez-Valle, R., Medina-Aguilar, M. M., and Macías-Valdez, L. M. (2003). Reacción de líneas avanzadas de chile (*Capsicum annum* L) provenientes de Zacatecas a enfermedades comunes de Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 71-74. <http://www.redalyc.org/pdf/612/61221111.pdf>
- Zachow, C., Grosch, R., and Berg, G. (2011). Impact of biotic and a-biotic parameters on structure and function of microbial communities living on sclerotia of soil-borne pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. *Applied Soil Ecology* 48(2): 193-200. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26109749>