

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

Selección *in vitro* de variantes somaclonales de *Sechium edule* var. *virens levis* con resistencia a *Phytophthora capsici*

In-vitro* selection of somaclonal variants of *Sechium edule* var. *virens levis* resistant to *Phytophthora capsici

Authors/Autores: Soto-Contreras, A., Iglesias-Andreu, L.G., Núñez-Pastrana, R.

ID: e1687

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1687>

Received/Fecha de recepción: June 29th 2024

Accepted /Fecha de aceptación: November 06th 2024

Available online/Fecha de publicación: November 21th 2024

Please cite this article as/Como citar este artículo: Soto-Contreras, A., Iglesias-Andreu, L.G., Núñez-Pastrana, R. (2024). *In-vitro* selection of somaclonal variants of *Sechium edule* var. *virens levis* resistant to *Phytophthora capsici*. *Revista Bio Ciencias*, 11, e1687. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1687>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Artículo original

Selección *in vitro* de variantes somaclonales de *Sechium edule* var. *virens levis* con resistencia a *Phytophthora capsici*

In-vitro selection of somaclonal variants of *Sechium edule* var. *virens levis* resistant to *Phytophthora capsici*

Selección *in vitro* de *Sechium edule* / *In-vitro* selection of *Sechium edule*

Soto-Contreras, A.¹() , Iglesias-Andreu, L.G.² () , Núñez-Pastrana, R.^{1*}()

¹ Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana. Josefa Ortiz de Domínguez, s/n, 94945, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.

² Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA). Universidad Veracruzana. Campus para la Cultura, las Artes y el Deporte. Av. de las Culturas Veracruzanas, 101, Colonia Emiliano Zapata, 91090, Xalapa, Veracruz, México.

*Corresponding Author:

Rosalía Núñez-Pastrana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana. Josefa Ortiz de Domínguez, s/n, 94945, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. Teléfono: (+52) 271 316 45 92. E-mail: ronunez@uv.mx

RESUMEN

México es el principal productor de *Sechium edule*, reportándose 23 especies del género *Sechium*. La producción de *S. edule* es afectada por *Phytophthora capsici*, que ataca a plantas y frutos. El objetivo de este estudio fue seleccionar *in vitro* variantes somaclonales de *S. edule* var. *virens levis* con resistencia a *P. capsici*. Se obtuvieron filtrados de cultivo de tres cepas patogénicas (A1-C, A2-H y A3-O). Se determinó la concentración letal media (LC₅₀) de los filtrados de cultivo de *P. capsici* en plantas de *S. edule* germinadas *in vitro*. Posteriormente, se regeneraron variantes somaclonales de *S. edule*, mediante organogénesis indirecta y fueron sometidas a 0, 20, 40 y 60 % v/v del filtrado de cultivo de la cepa más fitotóxica (A1-C). La concentración letal media fue 25 % del filtrado de cultivo A1-C en plantas germinadas *in vitro*. Para las plantas regeneradas vía organogénesis indirecta, la concentración letal media fue 40 % del filtrado de cultivo A1-C con 50.33 % supervivencia, 61.1 % de daño foliar, 3.67 hojas marchitas y 58.88 % de daño en tallo. Las plantas de *S. edule* regeneradas vía organogénesis indirecta presentaron una mayor resistencia a *P. capsici*. Esta investigación contribuirá a los estudios de mejoramiento genético en esta especie.

PALABRAS CLAVE:

Filtrados de cultivo, variación somaclonal, fitotoxicidad *in vitro*, mejoramiento genético, chayote.

ABSTRACT

Mexico is the main producer of *Sechium edule*, with 23 species of the *Sechium* genus reported. *S. edule* production is affected by *Phytophthora capsici*, which attacks plants and fruits. The objective of this study was to select *in vitro* somaclonal variants of *S. edule* var. *virens levis* with resistance to *P. capsici*. Culture filtrates of three pathogenic strains (A1-C, A2-H, and A3-O) were obtained. The mean lethal concentration (LC₅₀) of *P. capsici* culture filtrates in *S. edule* plants germinated *in vitro* was determined. Later, *S. edule* somaclonal variants were regenerated by

indirect organogenesis and subjected to 0, 20, 40, and 60 % v/v of culture filtrates of the most phytotoxic strain (A1-C). The mean lethal concentration was 25 % of culture filtrate A1-C in *in vitro* germinated plants. For plants regenerated via indirect organogenesis, the mean lethal concentration was 40 % of culture filtrate A1-C with 50.33 % survival, 61.1 % foliar damage, 3.67 wilted leaves, and 58.88 % stem damage. *S. edule* plants regenerated via indirect organogenesis showed greater resistance to *P. capsici*. This research will contribute to genetic improvement studies in this species.

KEYWORDS: Culture filtrates, somaclonal variation, *in-vitro* phytotoxicity, genetic improvement, chayote.

Introducción

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) es una cucurbitácea con gran importancia económica debido a sus propiedades nutricionales y farmacéuticas (Chang *et al.*, 2021). México cuenta con la mayor diversidad biológica de esta especie, considerado como su centro de origen y domesticación (Newstrom, 1991; Avendaño-Arrazate *et al.*, 2012; Pu *et al.*, 2021). El estado de Veracruz es el principal productor de *S. edule*, seguido de Michoacán, Jalisco, México, Puebla y San Luis Potosí (SIAP, 2023). En el estado de Veracruz, en los meses de julio y agosto del año 2024 el precio del chayote alcanzó niveles históricamente altos, con \$1,250 la caja de 20 kg, una sola pieza llegó a costar entre \$15 a \$20. Esta alza pudo deberse a la prolongada escasez de lluvia, los efectos del cambio climático, y los fenómenos meteorológicos extremos (Hernández, 2024).

El incremento de su consumo en mercados norteamericanos ha ocasionado que en México se cultive en grandes extensiones como monocultivo, ocasionando serios problemas fitosanitarios (García-Ramírez *et al.*, 2023; SIAP, 2023). *Phytophthora capsici* es uno de los principales fitopatógenos en *S. edule* al ocasionar pérdidas del 40-50 % en las plantaciones comerciales del Estado de Veracruz, México (Lamour *et al.*, 2012; Olguín-Hernández *et al.*, 2013).

P. capsici es el agente causal de la marchitez de las plantas, amarillamiento en el follaje, y la pudrición y aparición de micelio blanco en frutos de chayote (Aguirre-Medina *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2022). En los últimos años, se ha incrementado significativamente la incidencia y severidad de este patógeno en las plantaciones de chayote, principalmente en los meses de mayor precipitación pluvial, donde se pueden observar frutos podridos y cubiertos con micelio blanco durante la producción, y posteriormente en poscosecha, causando pérdidas económicas importantes (Olguín-Hernández *et al.*, 2013; Rai *et al.*, 2020). Actualmente las estrategias para controlar la infección por *P. capsici* en chayote son químicas y culturales, los compuestos a base de metalaxil son los más utilizados (Olguín-Hernández *et al.*, 2013); sin embargo, los métodos de control químicos actualmente disponibles, no son efectivos y generan la contaminación del suelo y daño a los agroecosistemas (Lamour *et al.*, 2012; García-Ramírez *et al.*, 2023); además, se ha documentado la resistencia de *P. capsici* al metalaxil (Sevillano-Serrano *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2021). Por otra parte, los programas de mejoramiento convencional para obtener plantas resistentes a *P. capsici*, se han enfocado principalmente en chile (*Capsicum* spp.), el uso de hospederos resistentes se considera la alternativa más barata y sostenible (Barchenger *et al.*, 2018). La resistencia del chile contra *P. capsici* es poligenética (Chunthawodtiporn *et al.*, 2019) y específica de raza. En los programas de mejoramiento las plantas obtenidas suelen tener menor resistencia a la planta parental, además, el rendimiento, el tamaño del fruto y la vigorosidad de la planta pueden verse afectados (Barchenger *et al.*, 2018), incluso se ha reportado un gen en la planta de chile que inhibe su resistencia al oomiceto y que dificulta los programas de mejoramiento (Reeves *et al.*, 2013). También se han identificado marcadores moleculares asociados con la resistencia a *P. capsici* en accesiones de chile (Kaur *et al.*, 2024); sin embargo, todos estos acercamientos no se han realizado en chayote, donde únicamente la aplicación de películas durante el almacenamiento poscosecha de los frutos (Gutiérrez-Torres *et al.*, 2019) o de bioestimulantes del crecimiento (Pacheco-Narcizo *et al.*, 2022) podrían retardar el proceso de infección, estrategias que tienen que comprobarse aún.

El cultivo de tejidos vegetales (PTC) a través de la selección *in vitro* y la variación somaclonal, que es la variabilidad genética o epigenética que se presenta en plantas regeneradas durante el cultivo de tejidos, ha permitido obtener plantas tolerantes o resistentes a enfermedades (Rai *et al.*, 2011; Flores *et al.*, 2012). La obtención de variantes somaclonales a través de organogénesis indirecta, es una herramienta de mejoramiento genético que permite en lapsos de tiempo corto obtener plantas con características sobresalientes (Krishna *et al.*, 2016). Entre estas características, la obtención de genotipos vegetales tolerantes a estrés abiótico y resistentes a factores bióticos, son las principales aplicaciones (Al-Khayri & Ibraheem, 2014; Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2019; Jathunarachchi *et al.*, 2021). La selección *in vitro* consiste en someter a los explantes a la acción de uno o más agentes que ejerzan presión de selección sobre las células o tejidos en la etapa de cultivo (Sahu *et al.*, 2023). Estos agentes pueden incluir las células mismas del patógeno, filtrados de cultivo, o sustancias purificadas que tengan papeles esenciales en el proceso patogénico (Rai *et al.*, 2011; Mishra *et al.*, 2021). Existen dos formas de selección *in vitro*, la selección directa, que hace referencia a exponer a una población de células, brotes y/o plantas a concentraciones elevadas del agente selectivo y la selección gradual, en la cual se determina la concentración letal media (LC₅₀) y se exponen a los individuos a concentraciones superiores graduales hasta que se logra la resistencia (Rai *et al.*, 2011; Flores & Bruckner, 2014; Sahu *et al.*, 2023). La selección gradual ha sido la más utilizada en el mejoramiento de cultivos de importancia agronómica (Thakur *et al.*, 2002; Purwati & Harran, 2007; Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2015). Estas estrategias biotecnológicas han permitido obtener genotipos vegetales resistentes a patógenos del género *Phytophthora*, por ejemplo en manzana, se seleccionaron plantas durante el cultivo *in vitro* en medio suplementado con filtrados tóxicos de *Phytophthora cactorum* (Verma *et al.*, 2021); en fresa, después a la variación somaclonal, se seleccionaron plantas tolerantes a *P. cactorum* en invernadero (Yoo *et al.*, 2022); en jitomate (*Solanum lycopersicum*) también se han obtenido plantas con mayor tolerancia a *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* mediante la regeneración de plántulas a partir de callo (Kumar *et al.*, 2019); también se pueden utilizar agentes mutagénicos en las plantas de interés durante el cultivo *in vitro* en búsqueda de incrementar la resistencia o tolerancia (Pati *et al.*, 2017).

Actualmente, no se dispone de genotipos de *S. edule* resistentes a *P. capsici* y los métodos de control disponibles para este patógeno no son eficientes. Este oomiceto continúa causando grandes pérdidas económicas en todo el mundo y particularmente en el cultivo de chayote en el estado de Veracruz, México. Por tanto, el objetivo de este estudio fue seleccionar *in vitro* variantes somaclonales de *S. edule* var. *virens levis* con resistencia a *P. capsici*. Estos resultados contribuirán al desarrollo de los programas de mejora genética en este cultivo.

Material y Métodos

Obtención de los filtrados de cultivo (CF) de *Phytophthora capsici*

Para preparar los filtrados de cultivo (CF), se utilizaron tres cepas altamente patogénicas de *P. capsici* (A1-C, A2-H y A3-O) las cuales fueron identificadas morfológica y molecularmente por Soto-Contreras *et al.* (2024). Se resguardaron en la Unidad de Manejo y Conservación de Recursos Genéticos de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Veracruzana.

Los CF se prepararon inoculando un disco micelial de 5 mm de diámetro de cada cepa, en cajas de Petri que contenían agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron en oscuridad a 25 °C durante 5 d. Posteriormente, de estos cultivos, se tomaron discos miceliales de 10 mm de diámetro y se colocaron en matraces Erlenmeyer de 500 mL conteniendo 250 mL de caldo de papa dextrosa (PDB) a un pH de 5.8. Previamente, los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 121 °C y 124 kPa durante 15 min. Cada cepa se cultivó por triplicado (cada réplica consistió de un matraz conteniendo 250 mL de medio de cultivo inoculado). Los cultivos se incubaron estáticamente en oscuridad durante 21 d a 25 °C. Después, se filtraron inicialmente por gravedad, a través de un cono (alto 20.3 cm, ancho 13 cm, fondo 2.7 cm) de papel filtro desechable (marca Melitta Super Premium #4) con

microperforaciones; posteriormente, se filtraron dos veces, utilizando un sistema de filtración continua al vacío Nalgene, con papel filtro Whatman™ No. 1. Nuevamente se volvieron a filtrar tres veces, utilizando el mismo sistema, pero con membranas de ésteres de celulosa Millipore™ (tamaños de poro de 0.45 y 0.22 μm). Los CF de las tres cepas de *P. capsici* se almacenaron a 5 °C en frascos ámbar estériles hasta su uso.

Material vegetal

Se utilizaron plantas *in vitro* provenientes del establecimiento de embriones cigóticos de *S. edule* var. *virens levis* recolectados en el mes de junio de 2022, en la plantación comercial “J Ventura”, Municipio de Huatusco, Veracruz, México.

Medio de cultivo y condiciones de crecimiento

El medio de cultivo basal utilizado en todos los experimentos consistió en sales y vitaminas Murashige y Skoog (MS) (Murashige & Skoog, 1962) al 100 %, excepto para la germinación de embriones cigóticos, donde se utilizó MS al 50 % (Cruz-Martínez *et al.*, 2017). El medio fue suplementado con 30 g L⁻¹ de sacarosa, 100 mg L⁻¹ de myo-inositol y solidificado con 2.5 g L⁻¹ de Phytigel™ (Sigma P8169). Para la evaluación de la fitotoxicidad *in vitro* de los CF de *P. capsici* en plantas de *S. edule*, no se adicionaron reguladores de crecimiento vegetal (PGRs), al medio MS, suplementado con los CF del patógeno. El pH del medio se ajustó a 5.8 con un potenciómetro (Thermo Scientific®) y se esterilizó en una autoclave vertical (AESA®) a 1.5 kg cm⁻² de presión y 121° C durante 15 min. Todos los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C, bajo un fotoperiodo de 16/8 h (luz/oscuridad) y a una intensidad lumínica de 50 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$.

Establecimiento *in vitro* de embriones cigóticos de *S. edule*

Los frutos de 10 plantas se lavaron tres veces con jabón comercial y se enjuagaron tres veces con agua de la llave. Posteriormente, se les extrajeron los embriones cigóticos, siguiendo la metodología de Cruz-Martínez *et al.* (2017). Se retiró el exocarpio y el mesocarpio de los frutos de *S. edule*, después se cortó un cubo de aproximadamente 4 x 5 x 4 cm (alto, ancho, fondo) que contenía el embrión, los cotiledones y el endospermo. Los cubos fueron esterilizados superficialmente, primero por inmersión en etanol al 70 %, durante 3 min, luego con hipoclorito de sodio al 3 % durante 5 min. Posteriormente, los cubos se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Los cotiledones y los embriones se extrajeron asépticamente, y se sembraron en frascos de 170 mL (Vitro, Monterrey, México) conteniendo 25 mL de medio basal descrito anteriormente. Los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C, bajo un fotoperiodo de 16/8 h (luz/oscuridad) y a una intensidad lumínica de 50 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ durante 15-20 d, hasta que germinaran los embriones. Como resultado se obtuvieron 30 plántulas con 4 a 6 hojas bien desarrolladas.

Multiplicación del material vegetal

Las plántulas obtenidas se utilizaron como material de partida para la micropropagación. Para ello se utilizaron segmentos nodales de tallo de aproximadamente 2.0 cm que contenían dos yemas axilares como explantes, después se sembraron en medio MS suplementado con 1.0 mg L⁻¹ de 6-bencilaminopurina (BAP, Sigma-Aldrich) y se incubaron durante 30 d bajo las condiciones de crecimiento mencionadas anteriormente.

Obtención de variantes somaclonales a través de organogénesis indirecta

Para la inducción de callos y regeneración *in vitro* se utilizó la metodología descrita por Soto-Contreras *et al.* (2022). Para ello, se utilizaron 50 plantas de 5 cm de longitud de *S. edule*, provenientes de dos subcultivos de 30 d cada uno, que fueron divididas para obtener 100 segmentos nodales de 10 mm de longitud, que se cultivaron en frascos de 113 mL (Vitro, Monterrey, México)

conteniendo 20 mL de medio MS, suplementado con 1.5 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D, Sigma-Aldrich). Los cultivos se incubaron durante 14 d, bajo completa oscuridad, en las condiciones de cultivo antes referidas. Para la regeneración, 100 callos compactos, de peso aproximado de 1 g, se subcultivaron en frascos de 170 mL (Vitro, Monterrey, México) conteniendo 20 mL de medio de cultivo MS suplementado con 0.5 mg L⁻¹ de tidiazurón (TDZ, Sigma-Aldrich) y 1.0 mg L⁻¹ de BAP, y se incubaron durante 90 d bajo las condiciones de cultivo antes mencionadas para obtener brotes de chayote.

Determinación de la concentración letal media (LC₅₀)

Se determinó la LC₅₀ en plantas que provenían de la germinación de embriones cigóticos de chayote, que es la cantidad de CF que ocasiona el 50 % de mortalidad de las plantas. En la Tabla 1 se relacionan los tratamientos utilizados para determinar la LC₅₀, en donde se muestran las concentraciones de CF de las tres diferentes cepas de *P. capsici* utilizadas. Doscientas diez plantas *in vitro* de 3 cm de longitud fueron sometidas a concentraciones de 25 y 50 % (v/v) de CF provenientes de las cepas (A1-C, A2-H y A3-O). Las concentraciones se calcularon con base en el volumen total del medio MS utilizado (1000 mL), el CF fue agregado al medio de cultivo en la campana de flujo laminar con un filtro Corning® estéril para jeringa de 0.22 µm. Además, se estableció un tratamiento testigo, constituido solo por el medio MS sin la adición de los CF de *P. capsici*. Los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C, bajo un fotoperiodo de 16/8 h (luz/oscuridad), y a una intensidad lumínica de 50 µmol m² s⁻¹. Transcurridos 21 d de cultivo, se realizaron las evaluaciones por tratamiento que se describen a continuación.

Tabla 1. Tratamientos utilizados para la determinación de la LC₅₀ en plantas de *S. edule* germinadas *in vitro*

Tratamientos	Cepas de <i>P. capsici</i>	Medio MS (%)	CF de <i>P. capsici</i> (%)
T1	-	100	-
T2	A1-C	75	25
T3	A1-C	50	50
T4	A2-H	75	25
T5	A2-H	50	50
T6	A3-O	75	25
T7	A3-O	50	50

T1: Control sin CF de *P. capsici*; T2–T7: diluciones de los filtrados de cultivo de *P. capsici*, A1-C, A2-H y A3-O (25 y 50 %), respectivamente.

Escala de severidad

Se elaboró una escala de severidad del 0 al 6 para indicar el grado de daño que las plantas *in vitro* de *S. edule* var. *virens levis* presentaron al ser sometidas a las diferentes concentraciones de los CF de *P. capsici*. Se consideró el porcentaje de supervivencia de las plantas, el porcentaje de daño foliar, el número de hojas marchitas, el porcentaje de daño en el tallo, la longitud del daño en el tallo y el tipo de daño presente. El 0 = ningún daño (0 % de daño); 1 = base del tallo con amarillamiento (40 % - 50 % de daño); 2 = amarillamiento de la base del tallo y el tallo (51 % - 70 % de daño); 3 = amarillamiento de la base del tallo y el tallo (71 % - 80 % de daño); 4 = amarillamiento de la base del tallo, tallo y hojas (81 % - 89 % de daño); 5 = base del tallo y tallo necróticos con amarillamiento en hojas (90 - 99 % de daño); y 6 = brotes necróticos muertos (100 % de daño en las plantas *in vitro*).

Evaluación de la fitotoxicidad *in vitro* del CF de la cepa más patogénica A1-C de *P. capsici* en plantas de *S. edule* regeneradas por organogénesis indirecta

Se sometieron plantas de *S. edule* regeneradas por organogénesis indirecta de 3 cm de longitud a diferentes concentraciones (inferiores y superiores) de la LC_{50} determinada previamente, utilizando la cepa más patogénica, la A1-C. En la campana de flujo laminar se adicionaron al medio MS diferentes concentraciones del CF A1-C (0, 20, 40 y 60 % v/v), se empleó un filtro Corning® estéril para jeringa de 0.22 μ m. Además, se estableció un tratamiento testigo, constituido solo por el medio MS sin CF de *P. capsici*. Los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C, bajo un fotoperiodo de 16/8 h (luz/oscuridad), a una intensidad lumínica de 50 μ mol m² s⁻¹. Transcurridos 21 d de cultivo, se evaluaron por tratamiento el porcentaje de supervivencia de las plantas, el porcentaje de daño foliar, el número de hojas marchitas, el porcentaje de daño y longitud del daño en el tallo, así como el tipo de daño según la escala de severidad 0-6 propuesta anteriormente.

Análisis estadístico

Para la determinación de la LC_{50} y fitotoxicidad *in vitro*, se estableció un diseño completamente al azar, con 30 plantas por tratamiento. Cada unidad experimental estuvo constituida por dos explantes cultivados en frascos conteniendo 20 mL de medio de cultivo. Los datos se sometieron a pruebas de normalidad y homocedasticidad de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente. Los datos que no cumplían con estos requisitos se transformaron en logaritmos naturales (ln) mientras que los datos expresados en porcentajes se transformaron según arco seno de la raíz del por ciento (transformación angular de Bliss), antes de efectuar el análisis de varianza (ANOVA), seguidos de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) mediante el software estadístico IBM SPSS (versión 25 para Windows Inc., Chicago, IL) (Morgan *et al.*, 2019).

Resultados y Discusión

Germinación *in vitro* de *S. edule*

Después de 20 d de cultivo en medio MS al 50 % se observó la germinación *in vitro* del 90 % de los embriones cigóticos de *S. edule* var. *virens levis* con una tasa de contaminación del 10 %. La germinación inició a los 5 d de cultivo, y finalizó a los 20 d; las plántulas obtenidas crecieron y desarrollaron las primeras hojas verdaderas (Figura 1). La elevada tasa de germinación *in vitro* del 90 % y la baja tasa de contaminación del 10 %, obtenida en este estudio fue la esperada con base a lo reportado por Cruz-Martínez *et al.* (2017) quienes establecieron un protocolo de desinfección efectivo en *S. edule* basado en dos etapas de desinfección consecutivas, en la que se empleaba etanol al 70 %, seguido de hipoclorito de sodio al 3 %; con ello estos autores obtuvieron un 90% de germinación y solo un 7 % de contaminación.

Obtención de variantes somaclonales a través de organogénesis indirecta

Se logró la inducción de callos compactos después de 14 d de cultivo de los explantes en medio MS suplementado con 1.5 mg L⁻¹ de 2,4-D. Se obtuvo la total supervivencia de los explantes, así como un 100 % de respuesta en la inducción de callos.

En cuanto a la regeneración, se logró la obtención de brotes después de 90 d de cultivo de los callos en medio MS suplementado con 0.5 mg L⁻¹ de TDZ y 1.0 mg L⁻¹ de BAP. Se obtuvo el 90 % de regeneración de brotes; se formaron de 8-9 brotes en promedio por callo con una longitud de 2.5-3.0 cm, aproximadamente. La organogénesis indirecta es una de las vías morfogénicas ampliamente utilizada para inducir variación somaclonal, que se refiere a las variaciones genéticas y epigenéticas que se expresan en las plantas provenientes del cultivo *in vitro*, en relación a la

variación expresada en la planta madre (Larkin & Scowcroft, 1981). Existen diferentes estudios que utilizan las variaciones somaclonales para la selección *in vitro* de plantas con resistencia a patógenos (Pati *et al.*, 2017; Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2019; Verma *et al.*, 2021).

Determinación de la concentración letal media (LC₅₀)

Transcurridos 21 d de cultivo, se observó que el CF de la cepa A1-C al 25 % de concentración, produjo efectos fitotóxicos *in vitro*, lo cual afectó el 50 % de la supervivencia de las plantas de *S. edule* provenientes de embriones cigóticos, estas plantas carecen de raíz, ya que, aunque se obtuvieron por germinación de los embriones cigóticos, fueron multiplicadas antes del tratamiento (Figura 2). Con base a estos resultados se consideró el 25 % de los CF de A1-C como la LC₅₀ (Tabla 2).



Figura 1. Germinación *in vitro* en *S. edule*; a) Embrión cigótico; b, c) inicio de la germinación a los 5 d de cultivo y d, e) término de la germinación, y crecimiento y desarrollo de las plántulas a los 20 d de cultivo.

Tabla 2. Fitotoxicidad *in vitro* de los CF de *P. capsici* en plantas de *S. edule* germinadas *in vitro*

Tratamientos	Supervivencia (%)	Daño foliar (%)	Número de hojas marchitas	Daño en tallo (%)	Longitud daño en tallo (cm)	Tipo de daño	Escala de severidad (0-6)*
T ₁	100.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^d	0.00 ± 0.00 ^d	0.00 ± 0.00 ^d	0.00 ± 0.00 ^d	Ninguno	0
T ₂	50.00 ± 6.66 ^b	74.00 ± 8.96 ^{abc}	3.70 ± 0.44 ^{abc}	80.00 ± 6.75 ^{ab}	2.40 ± 0.20 ^{ab}	amarillamiento de la base y tallo	3
T ₃	0.00 ± 0.00 ^d	100.00 ± 0.00 ^a	5.00 ± 0.00 ^a	100.00 ± 0.00 ^a	3.00 ± 0.00 ^a	Brotos necróticos muertos	6
T ₄	80.00 ± 3.31 ^{ab}	42.00 ± 0.08 ^c	2.10 ± 0.50 ^c	40.66 ± 10.00 ^c	1.22 ± 0.30 ^c	base del tallo con amarillamiento	1
T ₅	30.00 ± 5.22 ^{cd}	84.00 ± 8.32 ^{ab}	4.20 ± 0.41 ^{ab}	82.66 ± 8.91 ^{ab}	2.48 ± 0.26 ^{ab}	amarillamiento de la base, tallo y hojas	4
T ₆	70.00 ± 5.27 ^{ab}	54.00 ± 0.34 ^{bc}	2.70 ± 0.51 ^{bc}	60.66 ± 8.66 ^{bc}	1.82 ± 0.25 ^{bc}	amarillamiento de la base y tallo	2
T ₇	20.00 ± 3.33 ^{cd}	90.00 ± 6.83 ^a	4.50 ± 0.34 ^a	92.00 ± 5.42 ^a	2.76 ± 0.16 ^a	base y tallo necróticos con amarillamiento en hojas	5

Se representa la media ± error estándar. Diferentes letras en cada columna expresan diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). *El 100 % de las plantas T₁ mostraron un nivel 0 de severidad; el 50 % de las plantas T₂ mostraron un nivel 3 de severidad; el 100 % de las plantas T₃ mostraron un nivel 6 de severidad; el 80 % de las plantas T₄ mostraron un nivel 1 de severidad; el 30 % de las plantas T₅ mostraron un nivel 4 de severidad; el 70 % de las plantas T₆ mostraron un nivel 2 de severidad; y el 20 % de las plantas T₇ mostraron un nivel 5 de severidad.

Los efectos fitotóxicos observados en las plántulas fueron un 74 % de daño foliar, 3.70 de hojas marchitas, un 80 % de daño en tallo, 2.40 cm en la longitud de daño en tallo y como tipo de daño brotes necróticos (Figura 2b). La concentración al 50 % de esta cepa, produjo además efectos fitotóxicos *in vitro* letales, ya que ocasionó la mortalidad del 100 % de las plantas (Tabla 2; Figura 2c). Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, así como diferentes afectaciones según el tipo de filtrados de la cepa utilizada (Tabla 2; Figura 2).

Los menores efectos fitotóxicos *in vitro* se observaron al emplear los CF de las cepas A2-H y A3-O al 25 % de concentración. Estos CF generaron una supervivencia del 80 y 70 %, un daño foliar de 42 y 54 %, 2.10 y 2.70 de hojas marchitas, 40.66 y 60.66 cm de daño en tallo, así como una longitud de daño en tallo de 1.22 y 1.82 cm y daño en la base con amarillamiento, y base de tallo y tallo con amarillamiento, respectivamente (Tabla 2; Figura 2d, f). Como era de esperar no se observaron afectaciones en las plantas desarrolladas en el tratamiento testigo carente de los CF (Tabla 2; Figura 2a).

Los métodos de selección *in vitro* que se llevan a cabo considerando la LC_{50} , garantizan que los niveles de estrés generados por los agentes de selección no ocasionen efectos deletéreos a nivel celular, que supriman materiales que quizá, tuvieran la capacidad de regenerar plantas tolerantes al patógeno (Anil *et al.*, 2018; Sahu *et al.*, 2023).

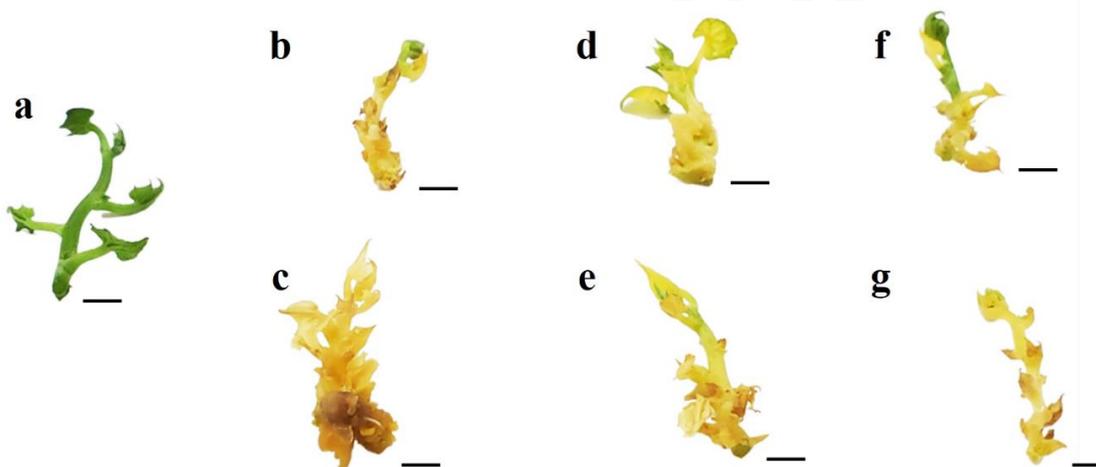


Figura 2. Tipo de daño de los CF de *P. capsici* en plantas de *S. edule* regeneradas de embriones cigóticos; a) T0 sin CF; b), c) CF de A1-C 25 y 50 %; d), e) CF de A2-H 25 y 50 %; f), g) CF de A3-O 25 y 50 %, respectivamente. Barra = 1cm

La diferencia fitotóxica de los CF de las tres cepas de *P. capsici* utilizadas (A1-C, A2-H y A3-O), podrían representar una diferencia en su virulencia, lo cual es común en diferentes aislados de *P. capsici*; este fenómeno se ha atribuido a diversos factores entre los que se encuentran diferencias a nivel genético, por ejemplo, la expansión de familias de genes involucrados en la patogenicidad (Lee *et al.*, 2021). Las especies del género *Phytophthora* secretan efectores apoplásticos en el espacio extracelular, que pueden inducir la muerte celular en la planta hospedera; en *P. capsici* se han identificado proteínas que inducen la necrosis durante la infección (Midgley *et al.*, 2022).

El uso de filtrados de cultivo de patógenos es una técnica de selección *in vitro* ampliamente utilizada debido a que permite la adición de las fitotoxinas secretadas por los patógenos sin tener que agregar el patógeno completo al medio de cultivo (Patiño *et al.*, 2007; Ochoa *et al.*, 2016). Pati *et al.* (2017) utilizaron CF para seleccionar plantas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush.) resistentes

a *Phytophthora parasitica*. Ramírez-Mosqueda *et al.* (2019) utilizaron CF para seleccionar plantas de vainilla (*Vanilla planifolia*) resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. Mientras que Verma *et al.* (2021) utilizaron CF para seleccionar plantas del portainjerto de manzano Malling-Merton 106 (*Malus spp.*) resistentes a *Phytophthora cactorum* y Rebouças *et al.* (2021) utilizaron CF para seleccionar plantas de banano (*Musa spp.*) resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

Evaluación de la fitotoxicidad *in vitro* del CF A1-C de *P. capsici* en plantas de *S. edule* regeneradas por organogénesis indirecta

Transcurridos 21 d de cultivo, se observaron diferentes afectaciones dependientes de la concentración de los CF de la cepa A1-C (Tabla 3; Figura 3), se observó un aumento en las afectaciones de las plantas de *S. edule*, al aumentar la concentración del CF de la cepa A1-C. El CF de la cepa A1-C al 40 % de concentración, produjo efectos fitotóxicos *in vitro* y también afectó el 50.33 % de la supervivencia de las plantas de *S. edule* regeneradas por organogénesis indirecta, por lo que, esta concentración se consideró como la LC₅₀ (Tabla 3).

Table 3. *In-vitro* phytotoxicity of *P. capsici* A1-C CF in *S. edule* plants produced by indirect organogenesis.

Tratamientos CF (% v/v)	Supervivencia (%)	Daño foliar (%)	Número de hojas marchitas	Daño en tallo (%)	Longitud del daño en tallo (cm)	Tipo de daño	Escala de severidad (0-6)*
0	100.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^d	Ninguno	0			
20	91.67 ± 5.20 ^a	27.77 ± 5.50 ^c	1.67 ± 0.31 ^c	27.21 ± 2.64 ^c	0.81 ± 0.07 ^c	Base del tallo con amarillamiento	1
40	50.33 ± 5.27 ^b	61.10 ± 5.55 ^b	3.67 ± 0.33 ^b	58.88 ± 2.81 ^b	1.76 ± 0.08 ^b	Amarillamiento de la base y tallo	2
60	33.33 ± 5.22 ^b	83.33 ± 4.30 ^a	5.00 ± 0.25 ^a	87.77 ± 1.64 ^a	2.63 ± 0.04 ^a	Amarillamiento de la base y tallo	3

Se representa la media ± error estándar. Diferentes letras en cada columna expresan diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). *El 100 % de las plantas sin CF mostraron un nivel 0 de gravedad; el 91.67 % de las plantas con CF del 20 % mostraron un nivel 1 de gravedad; el 50.33 % de las plantas con CF del 40 % mostraron un nivel 2 de gravedad; el 33.33 % de las plantas con CF del 60 % mostraron un nivel 3 de gravedad.



Figura 3. Tipo de daño del CF A1-C de *P. capsici* en plantas de *S. edule* regeneradas de callos; a) T0 sin CF; b) 20 % CF; c) 40 % CF y d) 60 % CF. Barra = 1cm

Se observó un 61.1 % de daño foliar causado por los efectos fitotóxicos de los filtrados. Estos ocasionaron 3.67 de hojas marchitas, un 58.88 % de daño en tallo, 1.76 cm de longitud daño en tallo, así como amarillamiento y necrosis en hojas y tallo (Tabla 3; Figura 3c).

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados (Tabla 3). La concentración del 60 %, fue la que produjo los mayores efectos fitotóxicos *in vitro*, ya que provocó un 33.33 % de supervivencia, un 83.33 % de daño foliar, un mayor número hojas marchitas (5.00), 87.77 % de daño en tallo, 2.63 cm de longitud de daño en tallo, así como efectos de necrosis (Tabla 3; Figura 3d).

La concentración del 20 % produjo los menores efectos fitotóxicos *in vitro*, una supervivencia de 91.67 %, daño foliar de 27.77 %, número de hojas marchitas 1.67, daño en tallo de 27.21 %, longitud daño en tallo de 0.81 cm y amarillamiento en hojas y tallo (Tabla 3; Figura 3b). Cabe señalar que no se observaron afectaciones en las plantas desarrolladas en ausencia del CF (Tabla 3; Figura 3a).

En contraste a las plantas germinadas *in vitro*, que mostraron una resistencia menor a los CF (LC₅₀ de 25 % de los CF), las plantas regeneradas mostraron una LC₅₀ del 40 % de los CF de *P. capsici*. Después de 30 d de este estudio se obtuvo un 70 % de supervivencia de las plantas resistentes a *P. capsici* en su etapa *in vitro*. Una posible causa por la que se observa una resistencia a *P. capsici* en las plantas de *S. edule* regeneradas a partir de callo, es que se trabajó con un elevado número de individuos y esto aumentó la posibilidad de encontrar plantas resistentes al patógeno; sin embargo, los resultados sugieren que las plantas regeneradas podrían ser variantes somaclonales que sobrevivieron a la presión *in vitro* selectiva de los CF de *P. capsici*, especialmente si observamos las diferencias entre las Figura 2 y 3. Existen diversos estudios que apoyan esta teoría, ya que el uso del 2,4-D para inducir la formación de callo y posteriormente inducir la regeneración de brotes, ha permitido en algunas especies vegetales la obtención de variantes somaclonales (Armijos *et al.*, 2021; Vitamvas *et al.*, 2019), y el uso de CF de patógenos permite seleccionar variantes genéticas o epigenéticas que presentan algún grado de resistencia a la enfermedad *in vivo*. Además, varios estudios realizados en laboratorio o campo con diferentes especies han documentado que los somaclones generados han producido progenie que conserva la característica de resistencia adquirida en la fase de cultivo de tejidos (Ahmed *et al.*, 1996; Švábová & Lebeda, 2005).

En cuanto a la selección *in vitro* de plantas resistentes a patógenos fúngicos, destacan los estudios realizados por Nyange *et al.* (1995), quienes obtuvieron variantes somaclonales de café arábigo (*Coffea arabica*) resistentes a *Colletotrichum kahawae* que causa antracnosis. Mientras que Mohanraj *et al.* (2003) y Sengar *et al.* (2009) obtuvieron variantes somaclonales de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) resistentes a *Colletotrichum falcatum* que causa la pudrición roja. Ramírez-Mosqueda *et al.* (2015) obtuvieron variantes somaclonales de vainilla (*Vanilla planifolia*) resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* que causa la pudrición del tallo y la raíz de las plantas, y Rebouças *et al.* (2021) obtuvieron variantes somaclonales de banano (*Musa spp.*) resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *cubense* que causa la marchitez en las plantas.

En esta investigación se corroboró la utilidad de realizar ensayos de fitotoxicidad *in vitro* en plantas provenientes de organogénesis indirecta, utilizando como agente selectivo filtrados de cultivo de *P. capsici* en chayote, y con base en ello, hacer una selección *in vitro* de las variantes somaclonales resistentes al patógeno, que sirvan de base para el desarrollo de los programas de mejora genética en este cultivo.

Conclusiones

Se corroboró que las plantas de *S. edule* provenientes de organogénesis indirecta presentaron una resistencia mayor a los filtrados de cultivo de la cepa A1-C de *P. capsici*, en comparación con las plantas de *S. edule* provenientes de germinación de embriones cigóticos. Se sugiere que se obtuvieron variantes somaclonales de *S. edule* var. *virens levis* con cierto grado de resistencia a los CF de *P. capsici*, sin embargo, es necesario corroborarlo mediante el uso de marcadores moleculares. Estos resultados sientan las bases para el desarrollo de programas de mejoramiento genético con el fin de obtener genotipos promisorios de *S. edule* resistentes a *P. capsici*.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, NPR, SCA; desarrollo de la metodología, SCA; manejo de software, SCA; validación experimental, IALG, NPR; análisis de resultados, SCA; manejo de datos, SCA, IALG, NPR; escritura y preparación del manuscrito, SCA, IALG, NPR; redacción, revisión y edición, SCA, IALG, NPR; administrador de proyectos, NPR; adquisición de fondos, NPR. Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada con fondos propios

Declaraciones éticas

No aplicable

Declaración de consentimiento informado

No aplicable.

Agradecimientos

ASC-Agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca otorgada 932915.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés

Referencias

- Aguirre-Medina, J. F., Cadena-Iñiguez, J., Olgún-Hernández, G., Aguirre-Cadena, J. F., & Andrade-Luna, M. I. (2021). Co-Inoculation of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Plants with *Rhizophagus intraradices* and *Azospirillum brasilense* to Reduce *Phytophthora capsici* Damage. *Agriculture*, 11(5), 391. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050391>
- Ahmed, R., & Gray, D. (1996). Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science*, 272(5258), 54-60. <https://doi.org/10.1126/science.272.5258.54>
- Al-Khayri, J. M., & Ibraheem, Y. (2014). *In vitro* selection of abiotic stress tolerant date palm (*Phoenix dactylifera* L.): a review. *Emir. J. Food Agric*, 26(11), 921-933. <http://ejfa.info/index.php/ejfa/article/view/18975/9582>
- Anil, V. S., Lobo, S., & Bennur, S. (2018). Somaclonal variations for crop improvement: Selection for disease resistant variants *in vitro*. *Plant Science Today*, 5(2), 44-54. <https://doi.org/10.14719/pst.2018.5.2.382>
- Armijos, R., Espinosa-Delgado, L., & Cueva, A. (2021). Indirect shoot regeneration using 2,4-D induces somaclonal variations in *Cinchona officinalis*. *Floresta Ambiente*, 28(3), e20210017. <https://doi.org/10.1590/2179-8087-FLORAM-2021-0017>

- Avendaño-Arrazate, C. H., Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, M. L., Cisneros-Solano, V. M., Aguirre-Medina, J. F., Moreno-Pérez, E. D. C., Cortés-Cruz, M., Castillo-Martínez, C.R., & Ramírez-Vallejo, P. (2012). Variación genética en el complejo infraespecífico de chayote evaluada mediante sistemas isoenzimáticos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(2), 244-252. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000200013>
- Baklouti, E., Beulé, T., Nasri, A., Romdhane, A. B., Drira, R., Doubeau, S., Rival, A., Drira, N., & Fki, L. (2022). 2,4-D induction of somaclonal variations in in vitro grown date palm (*Phoenix dactylifera* L. cv Barhee). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 150, 191–205. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02259-8>
- Barchenger, D. W., Lamour, K. H., & 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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00628>
- Chang, K. A., Ley, S. L., Lee, M. Y., Yaw, H. Y., Lee, S. W., Chew, L. Y., Neo, Y. P., & Kong, K. W. (2021). Determination of nutritional constituents, antioxidant properties, and α -amylase inhibitory activity of *Sechium edule* (chayote) shoot from different extraction solvents and cooking methods. *LWT*, 151, 112-177. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112177>
- Chunthawodtiporn, J., Hill, T., Stoffel, K., & Deynze, A V. (2019). Genetic Analysis of Resistance to Multiple Isolates of *Phytophthora capsici* and Linkage to Horticultural Traits in Bell Pepper. *HortScience*, 54(7), 1143-1148. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13359-18>
- Cruz-Martínez, V., Castellanos-Hernández, O. A., Acevedo-Hernández, G. J., Torres-Morán, M. I., Gutiérrez-Lomelí, M., Ruvalcaba-Ruiz, D., & Rodríguez-Sahagún, A. (2017). Genetic fidelity assessment in plants of *Sechium edule* regenerated via organogenesis. *South African Journal of Botany*, 112, 118-122. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.020>
- Flores, P. S., Otoni, W. C., Dhingra, O. D., de Souza Diniz, S. P. S., Santos, T. M. D., & Bruckner, C. H. (2012). *In vitro* selection of yellow passion fruit genotypes for resistance to *Fusarium* vascular wilt. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 108, 37-45. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-0009-5>
- Flores, P. S., & Bruckner, C. H. (2014). Gamma rays on the survival of yellow passion fruit inoculated with *Fusarium oxysporum* f sp. Passiflorae/Raios gama na sobrevivencia de plantas de maracujazeiro amarelo inoculadas con *Fusarium oxysporum* f sp. Passiflorae. *Ciência Rural*, 44(4), 639-645. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782014000400011>
- García-Ramírez, E., Contreras-Oliva, A., Salinas-Ruiz, J., Hernández-Ramírez, G., Spinoso-Castillo, J. L., & Colmenares Cuevas, S. I. (2023). Plant extracts control *in vitro* growth of disease-causing fungi in chayote. *Plants*, 12(9), 1800. <https://doi.org/10.3390/plants12091800>
- Gutiérrez-Torres, J., Núñez-Pastrana, R., Leyva-Ovalle, O. R., Ortiz-Laurel, H., Contreras-Oliva, A., López-Espíndola, M., & Herrera-Corredor, J. A. (2019). Determinación de la vida útil sensorial en chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) de exportación con cuatro recubrimientos comerciales almacenado a temperatura ambiente y refrigeración. *Agroproductividad*, 12, 57-62. <https://doi.org/10.32854/agrop.v0i0.359>
- Hernández, E. (2024). Así fue como la sequía en Veracruz ha disparado el precio del chayote en México. *México Forbes*. <https://www.forbes.com.mx/fmi-recorta-perspectivas-de-crecimiento-para-mexico-en-2024-a-2-2/>

- Jathunarachchi, A. S., Perera, P. I. P., & Salgadoe, A. S. A. (2021). Plant genetic resources assay for abiotic stress-tolerant traits using tissue culture techniques: a review. *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*, 53(3), 334-351.
- Kaur, N., Lozada, D. N., Bhatta, M., Barchenger, D. W., Khokhar, E. S., Nourbakhsh, S. S., & Sanogo S. (2024). Insights into the genetic architecture of *Phytophthora capsici* root rot resistance in chile pepper (*Capsicum* spp.) from multi-locus genome-wide association study. *BMC Plant Biology*, 24, 416. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05097-2>
- Krishna, H., Alizadeh, M., Singh, D., Singh, U., Chauhan, N., Eftekhari, M., & Sadh, R. K. (2016). Somaclonal variations and their applications in horticultural crops improvement. 3 *Biotech*, 6(54), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0389-7>
- Kumar, A., Kaur, R., & Sharma, M. (2019). *In vitro* cell selection and its molecular confirmation in tomato against buckeye rot (*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*). *International Journal of Chemical Studies*, 7, 3278-3283
- Lamour, K. H., Stam, R., Jupe, J., & Huitema, E. (2012). The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular plant pathology*, 13(4), 329-337. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00754.x>
- Larkin, P. J., & Scowcroft, W. R. (1981). Somaclonal variation a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and applied genetics*, 60(4), 197-214. <https://doi.org/10.1007/BF02342540>
- Lee, J. H., Siddique, M. I., Kwon, J. K., & Kang, B. C. (2021). Comparative genomic analysis reveals genetic variation and adaptive evolution in the pathogenicity-related genes of *Phytophthora capsici*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 694136. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.694136>
- Li, T., Ai, G., Fu, X., Liu, J., Zhu, H., Zhai, Y., & Dou, D. (2022). A *Phytophthora capsici* RXLR effector manipulates plant immunity by targeting RAB proteins and disturbing the protein trafficking pathway. *Molecular Plant Pathology*, 23(12), 1721-1736. <https://doi.org/10.1111/mpp.13251>
- Midgley, K. A., Van den Berg, N., & Swart, V. (2022). Unraveling plant cell death during *Phytophthora* infection. *Microorganisms*, 10(6),1139. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061139>
- Mishra, N., Tripathi, M. K., Tiwari, S., Tripathi, N., Sapre, S., Ahuja, A., & Tiwari, S. (2021). Cell suspension culture and *in vitro* screening for drought tolerance in soybean using Polyethylene glycol. *Plants*, 10(3), 517. <https://doi.org/10.3390/plants10030517>
- Mohanraj, D., Padmanaban, P., & Karunakaran, M. (2003). Effect of phytotoxin of *Colletotrichum falcatum* Went. (*Physalospora tucumanensis*) on sugarcane in tissue culture. *Acta phytopathologica et entomologica hungarica*, 38(1-2), 21-28. <https://doi.org/10.1556/aphyt.38.2003.1-2.4>
- Morgan, G. A., Barrett, K. C., Leech, N. L., & Gloeckner, G. W. (2019). *IBM SPSS for introductory statistics: Use and interpretation*. Routledge, 266. <https://doi.org/10.4324/9780429287657>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Newstrom, L. E. (1991). Evidencia para el centro do origen del chayote, *Sechium edule* (*Cucurbitaceae*). *Economic Botany*, 45, 410-428. <https://doi.org/10.1007/BF02887082>

- Nyange, N. E., Williamson, B., McNicol, R. J., Lyon, G. D., & Hackett, C. A. (1995). *In vitro* selection of *Coffea arabica* callus for resistance to partially purified phytotoxic culture filtrates from *Colletotrichum kahawae*. *Annals of applied biology*, 127(3), 425-439. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1995.tb07602.x>
- Ochoa, M. J., Rivera-López, L., & Gómez-Leyva, J. F. (2016). *In vitro* selection method in explants of *Opuntia* sps. with resistance to black spot caused by *Pseudocercospora opuntiae*. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 48 (1), 21-31. http://revista.fca.uncu.edu.ar/images/stories/pdfs/2016-01/Cp03_Ochoa.pdf
- Olgún-Hernández, G., Valdovinos Ponce, G., Cadena Íñiguez, J., & Arévalo Galarza, M. (2013). Etiology of Chayote (*Sechium edule*) wilting plants in the state of Veracruz. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(2), 161-169. ISSN 2007-8080.
- Pacheco-Narcizo, A., Trejo-Télez, L. I., Hidalgo-Contreras, J. V., Núñez-Pastrana, R., & Gómez-Merino, F. C. (2022). Bioestimulación del chayote [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.] en respuesta a la aplicación de fosfito. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 45(4), 483-492. <https://doi.org/10.35196/rfm.2022.4.483>
- Pati, P. K., Virk, G. S., & Nagpal, A. (2017). *In vitro* selection of resistant/tolerant mutants lines of *Citrus jambhiri* Lush. using crude culture filtrate of *Phytophthora parasitica* and their randomly amplified polymorphic DNA analysis. *Journal of Phytopathology*, 165(11-12), 771-781. <https://doi.org/10.1111/jph.12617>
- Patiño, T.C., Hoyos, S.R., & Afanador, K.L. (2007). Selección y regeneración *in vitro* de somaclones de tomate de árbol (*Solanum betacea* cav. Sendt) utilizando filtrados de cultivo de *Colletotrichum acutatum* con actividad pectinasa. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 60(2), 3923-3937. ISSN 0304-2847
- Purwati, R. D., & Harran, S. (2007). *In vitro* selection of abaca for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 14(2), 65-70. <https://doi.org/10.4308/hjb.14.2.65>
- Pu, Y.T., Luo, Q., Wen, L. H., Li, Y.R., Meng, P.H., Wang, X.J., & Tan, G.F. (2021). Origin, Evolution, Breeding, and Omics of Chayote, an Important Cucurbitaceae Vegetable Crop. *Frontiers in Plant Science*, 12, 739091. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.739091>
- Rai, M. K., Kalia, R. K., Singh, R., Gangola, M. P., & Dhawan, A. K. (2011). Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection—an overview of the recent progress. *Environmental and experimental botany*, 71(1), 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.10.021>
- Rai, G. S., Liew, E. C., & Guest, D. (2020). Survey, identification, and genetic diversity of *Phytophthora capsici* causing wilt of chilli (*Capsicum annuum* L.) in Bhutan. *European Journal of Plant Pathology*, 158(3), 655-665. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02108-4>
- Ramírez-Mosqueda, M. A., Iglesias-Andreu, L. G., Luna-Rodríguez, M., & Castro-Luna, A. A. (2015). *In vitro* phytotoxicity of culture filtrates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* in *Vanilla planifolia* Jacks. *Scientia Horticulturae*, 197, 573-578. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.019>
- Ramírez-Mosqueda, M. A., Iglesias-Andreu, L. G., Teixeira da Silva, J. A., Luna-Rodríguez, M., Noa-Carrazana, J. C., Bautista-Aguilar, J. R., Leyva-Ovalle, O.R., & Murguía-González, J. (2019). *In vitro* selection of vanilla plants resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 40. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2832-y>

- Rebouças, T. A., de Jesus Rocha, A., Cerqueira, T. S., Adorno, P. R., Barreto, R. Q., dos Santos Ferreira, M., Morais Lino L.S., de Oliveira Amorim, V.B., dos Santos-Serejo, J. A., Haddad, F., Fortes, F.C., & Amorim, E. P. (2021). Pre-selection of banana somaclones resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, subtropical race 4. *Crop Protection*, 147, 105692. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105692>
- Reeves, G., Monroy-Barbosa, A., & Bosland, P. W. (2013). A novel *Capsicum* gene inhibits host-specific disease resistance to *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, 103 (5), 472 - 478. <https://doi.org/10.1094/PHTO-09-12-0242-R>
- Sahu, M., Maurya, S., & Jha, Z. (2023). *In vitro* selection for drought and salt stress tolerance in rice: an overview. *Plant Physiology Reports*, 28(1), 8-33. <https://doi.org/10.1007/s40502-023-00713-z>
- Sengar, A. S., Thind, K. S., Kumar, B., Pallavi, M., & Gosal, S. S. (2009). *In vitro* selection at cellular level for red rot resistance in sugarcane (*Saccharum* sp.). *Plant growth regulation*, 58, 201-209. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9368-x>
- Sevillano-Serrano, J., Larsen, J., Rojas-Rojas, F. U., & Vega-Arregu, J. C. (2024). Increasing virulence and decreasing fungicide sensitivity in *Phytophthora capsici* after continuous metalaxyl-chlorothalonil exposure. *Journal of Plant Pathology*, <https://doi.org/10.1007/s42161-024-01713-0>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP]. (2023). <https://www.siap.gob.mx>
- Soto-Contreras, A., Nnez-Pastrana, R., Rodríguez-Demneghi, M. V., Aguilar-Rivera, N., Galindo-Tovar, M. E., & Ramírez-Mosqueda, M. A. (2022). Indirect organogenesis of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 58(6), 903-910. <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10304-6>
- Soto-Contreras, A., Caamal-Chan, M. G., Ramírez-Mosqueda, M. A., Murgua-González, J., & Nnez-Pastrana, R. (2024). Morphological and Molecular Identification of *Phytophthora capsici* Isolates with Differential Pathogenicity in *Sechium edule*. *Plants*, 13(12), 1602. <https://doi.org/10.3390/plants13121602>
- vbov, L., & Lebeda, A. (2005). *In vitro* selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens. *Journal of Phytopathology*, 153(1), 52-64. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2004.00928.x>
- Thakur, M., Sharma, D., & Sharma, S. (2002). *In vitro* selection and regeneration of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) plants resistant to culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Plant cell reports*, 20, 825-828. <https://doi.org/10.1007/s00299-001-0412-1>
- Verma, S., Modgil, M., & Patidar, S. (2021). *In vitro* screening of apple rootstock MM106 some clone with *Phytophthora cactorum* culture filtrate. *Journal of Plant Pathology*, 103, 231-240. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00722-z>
- Vitamvas, J., Viehmannova, I., Cepkova, P. H., Mrhalova, H., & Eliasova, K. (2019). Assessment of somaclonal variation in indirect morphogenesis-derived plants of *Arracacia xanthorrhiza*. *Pesquisa Agropecuria Brasileira*, v.54, e00301. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00301e>
- Wang, W., Liu, D., Zhuo, X., Wang, Y., Song, Z., Chen, F., Pan, Y., & Gao, Z. (2021). The *RPA190-pc* gene participates in the regulation of metalaxyl sensitivity, pathogenicity and growth in *Phytophthora capsici*. *Gene*, 764, 145081. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145081>

Yoo, C. M., Dalid, C. Moyer, C., Whitaker, V., & Lee, S. (2022). Improving strawberry varieties by somaclonal variation. *IFAS Extension, University of Florida*, 2022(5), 1-5.
<https://doi.org/10.32473/edis-HS1448-2022>

ARTÍCULO EN PRENSA