

SELECCIÓN DE GENOTIPOS DE CHILE RESISTENTES AL COMPLEJO PATOGÉNICO DE LA MARCHITEZ*

SELECTION OF CHILI PEPPER GENOTYPES RESISTANT TO PATHOGENIC WILT DISEASE COMPLEX

José Luis Anaya-López¹, Mario Martín González-Chavira¹, Emiliano Villordo-Pineda¹, Raúl Rodríguez-Guerra², Raúl Rodríguez-Martínez², Ramón Gerardo Guevara-González³, Lorenzo Guevara-Olvera³, Víctor Montero-Tavera¹ e Irineo Torres-Pacheco^{4§}

¹Campo Experimental Bajío. INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5. Celaya, Guanajuato, México. C. P. 38110. ²Campo Experimental General Terán. INIFAP. ³Campo Experimental Delicias. INIFAP. ⁴Departamento de Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Celaya. [§]Ingeniería de Biosistemas. Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de Querétaro. [§]Autor para correspondencia: irineo.torres@uaq.mx.

RESUMEN

En México la enfermedad de raíz más importante del cultivo de chile es la marchitez, esta se controla principalmente con fumigantes y fungicidas que contribuyen a seleccionar aislados resistentes, y provocan daños al ambiente y a la salud. Una opción inocua con el ambiente podría ser el cultivo de variedades resistentes; sin embargo, hay pocas variedades con resistencia a esta enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue aislar los patógenos asociados a la marchitez del chile, en la región centro y norte de México e identificar genotipos de chile resistentes. Durante 2006 y 2007, se colectaron plantas de chile con síntomas de marchitez en 118 lotes de los estados de Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas, a partir de las cuales se aislaron los patógenos y se obtuvieron cultivos puros. Estos se inocularon individualmente o en mezcla para seleccionar germoplasma resistente en 44 accesiones de chile del banco de germoplasma del INIFAP y 141 colectas procedentes de Durango, Guanajuato, Michoacán, San Luis Potosí y Zacatecas. *Fusarium* spp. fue aislado con una frecuencia de 42.6%, *Rhizoctonia solani* 37%, y *Phytophthora capsici* 3.9%. Se identificaron 26 colectas con al menos un individuo resistente a *Fusarium* spp., y seis a *R. solani*. Sólo las accesiones BG102 y BG107 del banco de germoplasma

ABSTRACT

In Mexico the most important root disease of the chili pepper crop is the wilt disease, it is primarily controlled with fumigants and fungicides that help to select resistant isolates and cause environment and health damage. A safe environmental option could be the resistant varieties cultivation, but there are few disease resistance varieties. This study's aim was to isolate the pathogens associated with chili pepper wilt disease in central and north of Mexico and to identify chili pepper resistant genotypes. During 2006 and 2007, chili pepper plants with wilt disease symptoms were collected in 118 lots from Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí and Zacatecas, from which pathogens were isolated and pure cultures were obtained. They were individually or in mixtures inoculated to select resistant germplasm, in 44 chili pepper accessions of INIFAP's germplasm bank and 141 collections from Durango, Guanajuato, Michoacán, San Luis Potosí and Zacatecas. *Fusarium* spp., was isolated with a 42.6% frequency, *Rhizoctonia solani* 37% and *Phytophthora capsici* 3.9%. 26 collections were identified with at least one of them resistant to *Fusarium* spp., and six to *R. solani*. Only BG102 and BG107 accessions from the gene bank were

* Recibido: octubre de 2010
Aceptado: abril de 2011

fueron resistentes a *P. capsici* y a la mezcla de los tres patógenos. Estos materiales tienen potencial para usarse en programas de mejoramiento genético del chile.

Palabras clave: *Fusarium* spp., *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, criollos de Morelos, germoplasma de chile.

INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum annuum* L.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes en México. En 2007 ocupó 27.5% de la superficie cultivada de hortalizas y generó más de \$ 5 000 millones de pesos, esto es el 23% de la producción hortícola (SIACON, 2008). La marchitez destaca como la enfermedad de raíz más importante del cultivo de chile, pues provoca la muerte prematura de la planta. Esta enfermedad fue identificada por primera vez en Nuevo México por Leonian (1922), quien estableció a *P. capsici* como el agente causal. Este patógeno es considerado el factor limitante más importante para la producción de chile en el mundo (Silvar *et al.*, 2006). Se estima que puede causar entre 25 y 40% de pérdidas en el cultivo del chile, mismas que pueden llegar a ser totales en función de las condiciones ambientales, los ecotipos y la cantidad de inóculo en el suelo (Palomo-Rodríguez *et al.*, 2003; Hausbeck y Lamour, 2004). En México, además de *P. capsici* se han reportado como agentes causales de la marchitez a *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. verticilloides*, y *F. solani* (Palomo-Rodríguez *et al.*, 2003; González-Pérez *et al.*, 2004), por lo que es probable que estos patógenos actúen formando un complejo.

En México se ha reportado la incidencia de la marchitez, en casi todos los estados productores de chile como Aguascalientes, Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Sinaloa, Sonora, Chihuahua, Querétaro, Hidalgo y Michoacán (García *et al.*, 2000; Guigón y González-González, 2001). Sin embargo, en Nelson *et al.*, 1983, Aguascalientes, Guanajuato y San Luis Potosí la superficie de siembra se redujo casi 60% (SIACON, 2008), por lo que han sido los estados más afectados a causa de esta enfermedad. Desde su descubrimiento las estrategias de manejo de *P. capsici* se han enfocado principalmente en el control químico (Pérez *et al.*, 1990; Parra y Ristaino, 1998), biológico (Ahmed *et al.*, 1996; Ezziyyani *et al.*, 2004) o cultural (Hoitink y Fahy, 1986; Chávez *et al.*, 1995).

resistant to *P. capsici* and to the group of three pathogens. These are potential materials to be used in chili pepper genetic improvement.

Key words: *Fusarium* spp., *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, chili pepper germplasm, Creoles of Morelos.

INTRODUCTION

Chili pepper (*Capsicum annuum* L.) is one of the most important horticultural crops in Mexico. In 2007 it was 27.5% of the vegetable cultivated and generated more than \$ 5 000 million pesos, this represents 23% of vegetable production (SIACON, 2008). Wilt disease stands out as the most important root disease in chili pepper crop, causing the premature plant's death. This disease was first identified in New Mexico for Leonian (1922), who established *P. capsici* as the causal agent. This pathogen is considered the most important limiting factor for the chili pepper production in the world (Silva *et al.*, 2006). It is estimated to cause about 25 to 40% losses in the chili pepper cultivation, and can reach a 100% in function of environmental conditions, ecotypes and the soil inoculum amount (Palomo-Rodríguez *et al.* 2003; Hausbeck and Lamour, 2004). Besides of *P. Capsici*, in Mexico there have been reported as wilt disease causal agents *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. verticilloides*, and *F. solani* (Palomo-Rodríguez *et al.*, 2003; González-Pérez *et al.*, 2004), so maybe these pathogens act as a complex.

Mexico has reported the incidence of wilt disease in almost every chili pepper-producing state like Aguascalientes, Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Sinaloa, Sonora, Chihuahua, Querétaro, Hidalgo and Michoacán (García *et al.*, 2000; Guigon and González-González, 2001). However, according to Nelson *et al.*, 1983, in Aguascalientes, Guanajuato and San Luis Potosí, the sowing area was reduced by almost 60% (SIACON, 2008), becoming the most affected states due to this disease. Since its discovery, the *P. capsici* management strategies have focused mainly on chemical control (Pérez *et al.*, 1990; Parra and Ristaino, 1998), biological (Ahmed *et al.*, 1996; Ezziyyani *et al.*, 2004) or cultural (Hoitink and Fahy, 1986; Chávez *et al.*, 1995).

Con el descubrimiento de 19 criollos resistentes a *P. capsici* originarios del estado de Morelos (Redondo, 1979), la generación de variedades resistentes como estrategia para el control de la marchitez cobró interés en los años 80, entre ellos destacó la línea 334 (CM334) debido que exhibía consistentemente un alto grado de resistencia al patógeno (Gil-Ortega *et al.*, 1991). Estos materiales junto con algunos introducidos de otros países se han usado ampliamente en México y el mundo para generar variedades resistentes (Tamietti *et al.*, 1998; Walker y Bosland, 1999; Thabuis *et al.*, 2001), desafortunadamente no se ha alcanzado el éxito esperado y la enfermedad sigue causando grandes pérdidas en el país. Un aspecto clave para la incorporación de resistencia a una variedad de chile comercial, es usar progenitores con resistencia genética. Es por ello que en el presente trabajo planteó evaluar la resistencia de colectas de chile con un complejo patogénico formado por aislados de *P. capsici*, *Fusarium* spp., y *R. solani* procedentes de las principales regiones productoras, con problemas de marchitez para identificar nuevas fuentes de resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de patógenos

Durante los ciclos agrícolas verano e invierno de 2006 y 2007 se muestrearon 118 lotes de 35 municipios con problemas de marchitez en los estados de Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas, que representan en su mayoría a la zona productora de chile de la región norte-centro del país. En cada lote se colectaron dos o tres plantas adultas completas, incluyendo las raíces con la tierra circundante y con síntomas característicos de la marchitez del chile tales como necrosis en la base del tallo, estrangulamiento, marchitez y defoliación.

Las plantas se colocaron en bolsas de plástico individuales de 66*44 cm, y se transportaron a temperatura ambiente al laboratorio de fitopatología del Campo Experimental Bajío del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-CEBAJ). Se lavó el tallo y se eliminó la tierra de las raíces con agua, se desinfectaron por un minuto con una solución de hipoclorito de sodio al 1%, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril, se sembraron fragmentos en cajas petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA DIFCO) y se incubaron a 27 °C durante tres días.

With the discovery of 19 *P. capsici* resistant Creole from Morelos state (Redondo, 1979), the generation of resistant varieties as a strategy for wilt disease control took interest in the 80, line 334 (CM334) stood out because it exhibited a high pathogen resistance degree (Gil-Ortega *et al.*, 1991). These materials and some from other countries, have been widely used in Mexico and the world for resistant varieties development (Tamietti *et al.*, 1998; Walker and Bosland, 1999; Thabuis *et al.*, 2001), unfortunately it has not been successful and the disease continues causing great losses in the country. A key for resistance incorporation into a commercial variety of chili pepper, is to use genetic resistance parents. That is why we propose to evaluate chili pepper collections resistance to a pathogenic complex formed by isolates of *P. capsici*, *Fusarium* spp., and *R. solani* from the major producing regions with wilt disease problems to identify new resistance sources.

MATERIALS AND METHODS

Pathogens isolation

During summer and winter growing seasons of 2006 and 2007, we sampled 118 plots of 35 municipalities with wilt disease problems in Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí and Zacatecas, which represent most of the chili pepper-producing area of north-central Mexico. In each batch there were collected two or three full grown plants, including roots and surrounding soil with wilt disease characteristic symptoms such as stem base necrosis, strangling, wilt diseasing and defoliation.

The plants were placed in individual plastic bags (66*44 cm) and transported at room temperature at the pathology laboratory of the Experimental Bajío's Field of the National Forestry, Agriculture and Livestock Research Institute (INIFAP-CEBAJ). Stems were washed and soil was removed from the roots with water, disinfected for a minute with a sodium hypochlorite solution at 1%, washed twice with sterile distilled water, fragments were sown in Petri dishes with culture medium potato dextrose agar (PDA DIFCO) and incubated at 27 °C for three days.

The fungal colonies were identified with compound microscope and separated according to the typical morphology of each gender, using the Nelson *et al.* (1983)

Las colonias fúngicas se identificaron bajo el microscopio compuesto, y se separaron de acuerdo a la morfología típica de cada género empleando las claves de Nelson *et al.* (1983); Sneh *et al.* (1991) para *Fusarium* y *R. solani*, y de Stamps *et al.* (1990); Waterhouse, (1963) para *P. capsici*. A partir de estos aislamientos se obtuvieron cultivos puros; para ello se indujo la esporulación de los aislados de *P. capsici* de acuerdo al protocolo de Bosland y Lindsey (1991); *Fusarium* spp. se cultivó en medio PDA a 15 °C durante 14 días, las esporas se colectaron en agua estéril y se sembraron diluciones seriadas en cajas petri, para separar una colonia y resembrarla en PDA (Muñoz y Bailey, 1998); para *R. solani* se realizaron cultivos de punta de hifa cortando con un bisturí la punta de la hifa detrás de la célula terminal y sembrándola en una caja con PDA fresco.

El inóculo de cada uno de los patógenos se preparó de acuerdo al método de producción de inóculo de *R. solani* en granos de cereal (Papavizas y Davey, 1962), pero se utilizó PDA en lugar de cereal. La patogenicidad de cada cultivo puro se confirmó inoculando *in vitro* plántulas de la variedad Sonora Anaheim (Seminis) en la etapa de cuatro hojas verdaderas con 0.5 kg m⁻² de inóculo. La severidad de síntomas de *Fusarium* spp. y *R. solani* se determinó con la siguiente escala de síntomas 1= sin síntomas visibles de decoloración; 2= de 1 al 10% de la raíz principal con decoloración; 3= de 11 al 15% de la raíz principal con decoloración; 4= de 26 al 50% de la raíz principal con decoloración; 5= más del 50% de la raíz principal con decoloración; y 6= planta muerta. En el caso de *P. capsici* se usó la escala reportada por Bosland y Lindsey (1991).

Búsqueda de genotipos de chile resistentes

Germoplasma de chile. Se evaluaron 44 accesiones de chile del banco de germoplasma del INIFAP-CEBAJ y 141 genotipos de *Capsicum annuum* colectados durante los ciclos agrícolas verano e invierno de 2006 y 2007, en localidades productoras con problemas de marchitez de los estados de Durango, Guanajuato, Michoacán, San Luis Potosí y Zacatecas. El criterio de la colecta fue tomar frutos de chile maduros de plantas con apariencia sana que estuvieran rodeadas de plantas enfermas con síntomas característicos de la marchitez del chile.

Las semillas de los frutos se lavaron durante 5 min con una solución de hipoclorito de sodio al 5% y se enjuagaron con agua destilada estéril. Como testigo susceptible se usó a la variedad Sonora Anaheim (Seminis). Las semillas de las

code; Sneh *et al.* (1991) for *Fusarium* and *R. solani*, and Stamps *et al.* (1990); Waterhouse (1963) for *P. capsici*. Pure crops were obtained from these isolates, there was induced sporulation of *P. capsici* isolates according to the Bosland and Lindsey (1991) protocol, *Fusarium* spp. was grown in PDA medium at 15 °C for 14 days, spores were collected in sterile water and then serial dilutions were plated in petri dishes, to separate and replant a colony on PDA (Muñoz and Bailey, 1998) for *R. solani* we performed hyphal tip cultures, cutting with a scalpel the hypha tip just behind the terminal cell and seeding in a box with fresh PDA.

The inoculum of each pathogen was prepared according to the *R. solani* inoculum production method in cereal grains (Papavizas and Davey, 1962), using PDA instead of cereal. The pathogenicity of each pure culture was confirmed *in vitro* by inoculating seedlings of the Sonora Anaheim (Seminis) variety in the four true leaves stage with 0.5 kg m⁻² inoculum. The symptoms severity of *Fusarium* spp. and *R. solani* was determined with the following symptoms scale: 1= no discoloration visible symptoms, 2= 1 to 10% of the main root discolored, 3= 11 to 15% of the main root discolored, 4= 26 to 50% of the main root with discoloration, 5= more than 50% of the main root with discoloration and 6= dead plant. In the case of *P. capsici* reported scale by Bosland and Lindsey (1991) was used.

Chili pepper resistant genotypes search

Chili pepper germplasm. We evaluated 44 chili pepper accessions from INIFAP-CEBAJ germplasm bank and 141 genotypes of *Capsicum annuum*, collected during the Summer and Winter crop seasons 2006 and 2007 in locations with wilt disease problems from Durango, Guanajuato, Michoacán, San Luis Potosí and Zacatecas. The collection criteria was to take mature chili pepper fruits from healthy looking plants that were surrounded by diseased plants with characteristic symptoms of wilt disease.

The seeds were washed for 5 minutes with a sodium hypochlorite solution at 5% and rinsed with sterile distilled water. Sonora Anaheim (Seminis) was used as a susceptible control variety. The collection seeds, the germplasm bank accessions and the control were sown in germination trays with peat (Sunshine), previously sterilized with 75 g m⁻² methyl bromide. Seedlings were kept in trays until the four true leaves stage.

colectas, de las accesiones del banco de germoplasma y del testigo se sembraron en charolas de germinación con turba (Sunshine), previamente esterilizada con 75 g m^{-2} bromuro de metilo. Las plántulas se mantuvieron en charolas hasta la etapa de cuatro hojas verdaderas.

Evaluación de resistencia. Los ensayos de resistencia se realizaron en bancales de $5.6 \text{ m}^2 \times 20 \text{ cm}$ de profundidad en los invernaderos del INIFAP-CEBAJ, en Celaya, Guanajuato, México, ubicado a $20^\circ 34'$ latitud norte, $100^\circ 49'$ longitud oeste y a 1 765 m de altitud. La temperatura promedio del invernadero fue de 21.5°C .

Se seleccionaron los cinco cultivos puros más virulentos de cada género, y se evaluó la resistencia de las colectas a la inoculación individual y a la mezcla tripartita en cantidades iguales de cada género (w/w) (*P. capsici*, *R. solani* y *Fusarium* spp.). El inóculo de cada género se preparó con la mezcla de cinco cultivos puros, de manera que la mezcla tripartita estuvo integrada por 15 cultivos. El suelo se esterilizó previamente con 75 g m^{-2} de bromuro de metilo y se homogenizó con 0.5 k m^{-2} de inóculo. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Se trasplantaron 20 plántulas de cada colecta dando un total de 3 700 plantas evaluadas.

Cada 20 colectas se colocaron hileras de 20 plantas de la variedad susceptible como testigo. La densidad de plantación fue de $10.7 \text{ plantas m}^{-2}$. La humedad del suelo se mantuvo a capacidad de campo. Se consideraron resistentes a los individuos que presentaron una severidad de síntomas igual a 1 cuando se inocularon con *Fusarium* o *R. solani*, y menor o igual a 2 con *P. capsici*. Para evitar la posibilidad de escape, las plantas que no presentaron síntomas después de 40 días se volvieron a inocular en la raíz. Las plantas que sobrevivieron a este tratamiento fueron consideradas como resistentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de patógenos

Se obtuvieron 284 colectas con síntomas característicos de la marchitez del chile, de las cuales hubo mayor frecuencia de aislamiento (FA) de *Fusarium* spp. con 42.6%, seguida de *R. solani* con 37%, y en menor magnitud *P. capsici* con 3.9%. Esta tendencia se observó también en la FA de los patógenos en los estados, ya que *Fusarium* spp. y *R. solani*

Resistance evaluation. Resistance tests were performed in $5.6 \text{ m}^2 \times 20 \text{ cm}$ deep plots in the INIFAP-CEBAJ greenhouses in Celaya, Guanajuato, Mexico, located at $20^\circ 34' \text{ N}$, $100^\circ 49'$ west longitude and 1 765 m altitude. The average greenhouse temperature was 21.5°C .

Five most virulent pure cultures were selected from each gender and assessed the collections strength to individual inoculation and tripartite mix in equal amounts of each gender (w/w) (*P. capsici*, *R. solani* and *Fusarium* spp.). Each genus inoculum was prepared with five pure cultures mixture, so that the tripartite mixture was made with 15 crops. The soil was previously sterilized with 75 g m^{-2} of methyl bromide and homogenized with 0.5 k m^{-2} inoculums. We used a completely randomized design. 20 seedlings were transplanted in each collection for a total of 3 700 evaluated plants.

Collections were placed in 20 rows of 20 plants from susceptible variety as control. The planting density was $10.7 \text{ plants m}^{-2}$. Soil moisture was maintained at field capacity. We considered resistant those individuals who showed symptom severity equal to 1 when they were inoculated with *Fusarium* or *R. solani*, and less than or equal to 2 with *P. capsici*. To avoid the possibility of escape, plants that did not show symptoms after 40 days were re-inoculated at the root. Plants that survived this treatment were considered resistant.

RESULTS AND DISCUSSION

Pathogens isolation

284 collections with typical symptoms of chili pepper wilt disease were obtained, there was a greater isolation frequency (FA) of *Fusarium* spp. with 42.6%, followed by *R. solani* with 37% and less frequently *P. capsici* with 3.9%. This trend was also observed in the FA of pathogens in the states, as *Fusarium* spp. and *R. solani* were found in almost all sampled sites, while *P. capsici* was isolated only in one Durango municipality, two in Guanajuato, one in San Luis Potosí and two in Zacatecas.

The incidence of the three pathogens observed in this study is consistent with the proportions trend from other studies in which pathogens were isolated

se encontraron en casi todos los sitios muestreados, mientras que *P. capsici* se aisló solo en un municipio de Durango, dos de Guanajuato, uno en San Luis Potosí y dos de Zacatecas.

La incidencia de los tres patógenos observada en este trabajo, concuerda en cuanto a la tendencia de las proporciones con otros estudios, en los que se aislaron patógenos de la raíz o el tallo de plantas de chile con síntomas de marchitez (Velásquez-Valle *et al.*, 2001; Andrés-Ares, *et al.*, 2005; Escalona *et al.*, 2006); así, la mayor frecuencia de aislamiento en todos los casos fue del género *Fusarium*, seguida por *Rhizoctonia* y *Phytophthora* (cuadro 1). A partir de 237 aislados se obtuvieron 97 cultivos puros de *Fusarium* spp., 73 de *R. solani* y 11 de *P. capsici*. El rango de severidad de síntomas fue de 1 a 5.8 para *Fusarium* spp., 1 a 4.7 para *R. solani*, y 4.7 a 9.3 para *P. capsici* (Cuadro 1).

from the root or stem of chili pepper plants with wilt disease symptoms (Velásquez-Valle *et al.* 2001; Andrés-Ares, *et al.* 2005; Escalona *et al.*, 2006), so the higher frequency of isolation in all cases was *Fusarium*, followed by *Rhizoctonia* and *Phytophthora* (Table 1). From 237 isolates, 97 *Fusarium* spp. pure cultures were obtained, 73 from *R. solani* and 11 from *P. capsici*. The severity symptoms range was 1 to 5.8 for *Fusarium* spp., 1 to 4.7 for *R. solani*, and 4.7 to 9.3 for *P. capsici* (Table 1).

FA differences reported by those authors and those found in this work, according to Nelson *et al.* 1983; may be due to climatic conditions of the site where sampling was conducted, sample size or phenological stage of crop at the time of collection.

Cuadro 1. Aislados de los patógenos *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solana* y *Phytophthora capsici*, cultivos puros e índices de severidad de síntomas inducidos en chile susceptibles a marchitez.

Table 1. Isolated pathogens from *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solana* and *Phytophthora capsici*, pure cultures and severity indices of symptoms induced in wilt disease susceptible chili peppers.

Estado	M	L	C	A ^F	Cp ^F	S ^{F¶}	A ^R	Cp ^R	S ^{R¶}	A ^P	Cp ^P	S ^{P§}
Chihuahua	10	37	80	44	42	1-5.8	11	5	1.3-4.5	0	0	-
Colima	2	16	12	7	3	1.1-3.4	5	3	1.9-4.7	0	0	-
Durango	2	10	31	11	10	1-4.1	12	12	1.1-4.5	2	2	5.2-7.3
Guanajuato	16	25	57	12	17	1-5.1	32	17	1-4.1	3	3	6.8-9.1
Querétaro	1	2	3	2	4	2.3-3.6	1	1	2.1	0	0	-
San Luis Potosí	1	5	24	16	5	3.4-4.9	5	2	3.1-3.5	2	2	4.7-6.2
Zacatecas	3	23	77	29	16	1.0-5.2	39	33	1.1-4.6	4	4	5.4-9.3
Total	35	118	284	121	97		105	73		11	11	-
FA (%)				42.6			37			3.9		

M= número de municipios; L= lotes; C= colectas; A= aislamientos; Cp= cultivos puros; S= valor mínimo y máximo de la severidad de síntomas inducida en el control susceptible con los cultivos puros; FA= frecuencia de aislamiento; ^F= *Fusarium* spp.; ^R= *Rhizoctonia solani*; ^P= *Phytophthora capsici*; [¶]= determinado de acuerdo a la escala de síntomas de 1 a 6 reportada en este trabajo; [§]= con la escala de 1 a 9 reportada por Bosland y Lindsey (1991).

Las diferencias en la FA reportadas por estos autores y lo encontrado en este trabajo, según Nelson *et al.*, 1983; puede deberse a las condiciones climáticas del sitio, donde se realizó el muestreo, tamaño de muestra o la etapa fenológica del cultivo en el momento de la colecta.

Estos resultados reforzaron la noción que además de *P. capsici*, *Fusarium* spp. y *R. solani* están asociados con la enfermedad de la marchitez del chile (Rivelli, 1989; Muhyi y Bosland, 1992; Nelson *et al.*, 1983; Velásquez-Valle *et al.*, 2001; Yousaf y Khalid, 2007). Por lo que se consideraron como parte del patosistema para evaluar la resistencia de las colectas de chile a cada uno y a la mezcla de los tres géneros de patógenos.

These results confirm the notion that in addition to *P. capsici*, *Fusarium* spp. and *R. solani* are associated with chili pepper wilt disease (Rivelli, 1989; Muhyi and Bosland, 1992; Nelson *et al.* 1983; Velásquez-Valle *et al.* 2001; Yousaf and Khalid, 2007). And were considered as part of the pathosystem, to evaluate chili pepper collections resistance to each one and to the mix of the three pathogens genus.

Resistant germplasm selection

141 chili pepper collections were obtained from Durango, Guanajuato, Michoacán, San Luis Potosí, Zacatecas and 44 accessions from the INIFAP-CEBAJ gen bank

Selección de germoplasma resistente

Se obtuvieron 141 colectas de chile procedentes de los estados de Durango, Guanajuato, Michoacán, San Luis Potosí y Zacatecas, y 44 accesiones del banco de germoplasma del INIFAP-CEBAJ (Cuadro 2). Los chile presentes fueron del tipo anaheim, ancho, caribe, cascabel, cristalino, de árbol, guajón, güero, pico de pájaro, bolita, mirasol, paprika, serrano, puya y tornachile.

(Table 2). Chili peppers varieties were: anaheim, ancho, caribe, cascabel, cristalino, de árbol, guajón, güero, pico de pájaro, bolita, mirasol, paprika, serrano, puya y tornachile.

At the time of infection with the three pathogens mixture, all Sonora Anaheim plants used as susceptible control died about 14 days after transplanting (DAT). In the case of collections and germplasm accessions, more than 90% of

Cuadro 2. Resistencia del germoplasma de chile evaluado a la inoculación individual y en mezcla de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici*.

Table 2. Evaluated Chili pepper germplasm resistance to inoculation individually and in mixture of *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici*.

Origen del germoplasma	Municipios	Colectas y accesiones	F [§]	R [§]	P [§]	F+R+P [§]	Tipos de chile resistentes
Banco de germoplasma	8	44	3	1	2	2	Mirasol, serrano y puya
Durango	5	28	4	0	0	0	Ancho, de árbol y puya
Guanajuato	1	3	1	0	0	0	Bolita
Michoacán	1	5	1	0	0	0	Pico de pájaro
San Luis Potosí	5	21	6	2	0	0	Bolita, cascabel y de árbol, guajón, mirasol y paprika puya
Zacatecas	7	84	11	3	0	0	Ancho, cristalino y de árbol, güero, mirasol, puya y serrano
Total		185	26	6	2	2	

§= número de colectas y accesiones resistentes; F= *Fusarium* spp.; R= *R. solani*; P= *P. capsici*.

Cuando se realizó la infección con la mezcla de los tres patógenos, todas las plantas de Sonora Anaheim usadas como testigo susceptible, murieron en promedio a los 14 días después del trasplante (DDT). En el caso de las colectas y accesiones del banco de germoplasma, más de 90% de las plantas se comportaron como susceptibles y presentaron síntomas de necrosis en la base del tallo, estrangulamiento, marchitez, caída de hojas (6 DDT), y muerte (15 DDT).

the plants behaved as susceptible and showed symptoms of necrosis in the stem, strangling, wilting, leaf drop (6 DAT) and death (15 DAT).

Aunque algunas plantas mostraron tolerancia, ya que superaron los primeros 15 DDT sin manifestar síntomas, gradualmente presentaron síntomas de clorosis, marchitez, caída de hojas y flores, hasta que murieron 60 DDT; incluso algunas lograron terminar su ciclo de vida pero con disminución en su fructificación. Las plantas asintomáticas se volvieron a inocular 40 DDT para descartar la posibilidad de un escape causado por la falta de inóculo en la zona radicular. Quince días después de la reinfección varias plantas presentaron síntomas de marchitez y murieron.

Although some plants showed tolerance and exceeded the first 15 DAT without symptoms, they gradually developed symptoms of chlorosis, wilting, leaf and flowers drop, until they died 60 DAT, some managed to complete their life cycle but with fruiting decrease. Asymptomatic plants were inoculated 40 DAT to eliminate the possibility of a leak caused by a lack of inoculum in the root zone. Fifteen days after reinfection several plants showed wilt disease symptoms and died.

Se identificaron 26 colectas resistentes a *Fusarium* spp. y seis a *R. solani* (Cuadro 2) en las que hubo al menos un individuo resistente. La resistencia a *Fusarium* spp. se

We identified 26 collections resistant to *Fusarium* spp. and six to *R. solani* (Table 2) in which at least one of them was resistant. Resistance to *Fusarium* spp. was identified in 11 mirasol collections, three of each type the árbol, puya and serrano, two from ancho and one type from cascabel, guajón, pico de pájaro y bolita, while those resistant to *R. solani* were: ancho, cristalino, guajón, güero, paprika and puya. In regard to resistance to *P. capsici*, 18 plants from BG102 accession and 20 from BG107 of gen bank were resistant to *P. capsici* and to the three pathogens mixing

identificó en 11 colectas del tipo mirasol, tres de cada una de los tipos de árbol, puya, y serrano; dos de ancho, y una de tipo cascabel, guajón, pico de pájaro y bolita; mientras que las resistentes a *R. solani* fueron de los tipos ancho, cristalino, guajón, güero, paprika y puya. En relación a la resistencia a *P. capsici*, 18 plantas de la accesión BG102 y 20 de la BG107 del banco de germoplasma fueron resistentes a *P. capsici* y a la mezcla de los tres géneros de patógenos (Figura 1), lo que indicó que ambos materiales tienen alto potencial como fuentes de genes de resistencia al complejo *P. capsici*, *R. solani* y *Fusarium* spp. Ambas accesiones corresponden a chiles criollos de tipo serrano procedentes de Xochitepec y Tepalcingo, Morelos.

Aunque ya se ha reportado la resistencia del chile serrano criollo de Morelos a *P. capsici* Leo. (Bosland y Lindsey, 1991; Andrés *et al.*, 2006), esta se ha identificado en un solo material genético conocido como “criollo de Morelos 334” (CM334 o SCM134) o en cruzamientos derivados del mismo con base genética reducida (Bartual *et al.*, 1994). En este trabajo se han detectado dos accesiones más, BG102 y BG107, también nativas del estado de Morelos, con las cuales se incrementan las alternativas en los programas de mejoramiento genético, para incorporar resistencia a la marchitez en los diferentes tipos de chile comerciales, principalmente contra *P. capsici* Leo. (Thabuis *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2008), situación que se ha dificultado por la resistencia horizontal y vertical observada en chile, debido al carácter epistático de los genes involucrados (Bartual *et al.*, 1994; Bnejdi *et al.*, 2008), o la participación de diferentes rutas de defensa involucradas a nivel bioquímico (Egea *et al.*, 1996; García-Pérez *et al.*, 1998).

Como se ha señalado, las colectas de chile del estado de Morelos tienen antecedentes de resistencia a *P. capsici*; sin embargo, hasta ahora no se había reportado su resistencia a *Fusarium* spp. o a *R. solani*. Además, el hecho que siete de nueve accesiones del banco de germoplasma, que previamente se habían caracterizado como resistentes a *P. capsici* (Redondo, 1979), hayan sido susceptibles a la inoculación individual con este patógeno y a la mezcla de los tres géneros hace interesante el estudio de BG102 y BG107, ya que fueron resistentes a la mezcla de aislados procedentes de distintos ambientes y mantuvieron su resistencia a aislados de *P. capsici*, obtenidos casi tres décadas después de haberse identificado. Lo que sugiere una resistencia eficaz, tal vez involucrando no sólo a varios genes sino también a diferentes mecanismos

(Figure 1), indicating that both materials have high potential as sources of resistance genes to the complex *P. capsici*, *R. solani* and *Fusarium* spp. Both accessions are creole serrano chili peppers from Xochitepec and Tepalcingo, Morelos.

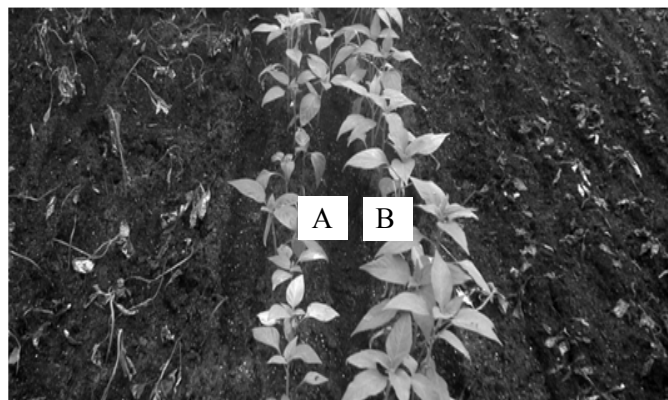


Figura 1. Plantas de chile resistentes a la inoculación con la mezcla tripartita de *Fusarium* spp, *R. solani* y *P. capsici*. Surcos A y B accesiones BG102 y BG107 respectivamente.

Figure 1. Chili pepper plants resistant to *Fusarium* spp, *R. solani* and *P. Capsici* tripartite mix inoculation. Furrows A and B, accessions BG102 and BG107 respectively.

Although it has been reported Morelos Creole Serrano's chili pepper resistance to *P. capsici* Leo. (Bosland and Lindsey, 1991; Andrés *et al.*, 2006), it has only been identified in one genetic material known as “Morelos Creole 334” (CM334 or SCM134) or in derived crosses with narrow genetic base (Bartual *et al.*, 1994). In this study we have detected two more accessions: BG102 and BG107, also native from Morelos state, which increases alternatives in breeding programs to incorporate, wilt disease resistance to the different types of commercial chili pepper, mainly against *P. capsici* Leo. (Thabuis *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2008), a situation that has been complicated by horizontal and vertical resistance observed in the chili pepper, due to the epistatic genes involved (Bartual *et al.* 1994; Bnejdi *et al.*, 2008) or the different defense pathways involved at biochemical level (Egea *et al.* 1996; García-Pérez *et al.*, 1998).

As noted, chili pepper collections from Morelos have a history of resistance to *P. capsici*, but so far it has not been reported resistance to *Fusarium* spp. or *R. solani*. Moreover, the fact that seven out of nine of the gen bank accessions, which had previously been characterized as resistant to *P. capsici* (Redondo, 1979), have been susceptible to individual inoculation with this pathogen and the mixing of three genera

(Bartual *et al.*, 1994; Minamiyama *et al.*, 2007; Walker y Bosland, 1999). En el caso de *Fusarium* spp. y *R. solani* la situación es diferente, ya que en México no se han reportado fuentes de resistencia en Chile (Rivelli, 1989; Muhyi y Bosland, 1992).

La presencia de enanismo en la planta y amarillamiento de hojas, son característicos de *Fusarium* spp. (Yousaf y Khalid, 2007), sugiere que estos síntomas se presentaron en aquellas plantas que resistieron el ataque de *P. capsici* en etapas tempranas. El germoplasma de Chile con resistencia a *Fusarium* spp. o *R. solani*, representa una fuente de resistencia genética prometedora para el control de la marchitez; sin embargo, el éxito en el control de esta enfermedad podría depender de la incorporación de resistencia a *P. capsici*, ya que aunque su FA fue menor en comparación con los otros patógenos, estuvo presente en cuatro de siete estados analizados. Además, resultados preliminares con la inoculación diferencial de las posibles mezclas entre los tres patógenos, permitieron inferir que *P. capsici* facilita la penetración de los otros.

Por otro lado, la evolución de la enfermedad en los genotipos susceptibles y resistentes del germoplasma inoculado con los patógenos sugiere la existencia de diferentes mecanismos de resistencia a *P. capsici*, ya que algunas plantas murieron o presentaron síntomas severos a los 14 DDT, mientras que otras resistieron al menos 40 DDT. Por otra parte, el hallazgo de genotipos tolerantes a *Fusarium* spp., *R. solani* y las mezclas tripartitas de patógenos, indica la existencia de mecanismos de defensa propios contra cada uno de los hongos presentes, así como en el síndrome ocasionado por la interacción de los tres géneros. Por lo tanto, es probable la presencia de mecanismos de resistencia en común e individuales a los tres patógenos. La detección de los patógenos *Fusarium* spp., *R. solani* y *P. capsici* Leo. en plantas de Chile con marchitez en el norte centro de México, sugiere que ese complejo conforma el agente etiológico de dicha enfermedad.

CONCLUSIONES

Se detectaron tres patógenos asociados a la marchitez en la región productora de Chile del centro y norte de México; de ellos *Fusarium* spp. fue el más frecuentemente aislado, seguido por *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici*, cuya detección sugiere que este complejo es el causante

makes it interesting to study BG102 and BG107, because they were resistant to the isolates mixture from different environments and maintained their resistance to *P. capsici* isolates, obtained almost three decades after diagnosis. This suggests an effective resistance, perhaps involving not only genes but also several different mechanisms (Bartual *et al.* 1994; Minamiyama *et al.* 2007; Walker and Bosland, 1999). The case of *Fusarium* spp. and *R. solani* is different because in Mexico there have not been reported chili pepper resistance sources (Rivelli, 1989; Muhyi and Bosland, 1992).

The presence of plant stunting and leaves yellowing are characteristic of *Fusarium* spp. (Yousaf and Khalid, 2007), these symptoms occurred in those plants that withstood the *P. capsici* attack in early stages. Chili pepper germplasm with resistance to *Fusarium* spp. or *R. solani*, is a promising source of genetic resistance to wilt disease control, however, success in controlling this disease may depend on the incorporation of resistance to *P. capsici*, since although its FA was lower compared to other pathogens, it was present in four of seven analyzed states. Preliminary results with differential inoculation of possible mixtures between the three pathogens, allowed us to infer that *P. capsici* facilitates the others penetration.

On the other hand, disease evolution in susceptible and resistant genotypes of germplasm inoculated with pathogens, suggests the existence of different resistance mechanisms to *P. capsici*, because some plants died or had severe symptoms at 14 DAT, while others resisted at least 40 DAT. Moreover, the finding of genotypes tolerant to *Fusarium* spp., *R. solani* and tripartite pathogen mixtures, indicates the existence of defense mechanisms against for each fungi, as well as to the syndrome caused by the three genera interaction. Therefore, it is likely the presence of common and individual resistance mechanisms to three pathogens. The detection of *Fusarium* spp., *R. solani* and *P. capsici* Leo., in chili pepper plants with wilt disease in the north central Mexico, suggests that this complex forms the etiologic agent of this disease.

CONCLUSIONS

Three pathogens were found associated with chili pepper wilt disease in central and northern Mexico, out of which *Fusarium* spp. was the most frequently isolated, followed by *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici*, whose detection suggests that this complex is the cause of wilt

de la marchitez en la región centro norte de México. Se identificaron 26 colectas resistentes a *Fusarium* spp. y seis a *R. solani*. Las accesiones BG102 y BG107 fueron resistentes a *P. capsici* y a la inoculación individual y en mezcla de los tres patógenos, por lo que representan fuentes de genes de resistencia potencialmente útiles en programas de mejoramiento genético, orientados al control de la marchitez del chile en la región productora del centro y norte de México.

disease in northern and central Mexico. We identified 26 collections resistant to *Fusarium* spp. and six to *R. solani*. BG107 and BG102 accessions were resistant to *P. capsici* inoculation and to the individual and the mixture of all three pathogens, which makes them sources of potentially useful genes for resistance in breeding programs to control chili pepper wilt disease in central and northern Mexico production region.

LITERATURA CITADA

End of the English version



- Ahmed, A. S.; Pérez-Sánchez, C.; Egea, C. and Candela, M. E. 1996. Evaluación de la inducción de resistencia de pimientos a *Phytophthora capsici* mediante el tratamiento con *Trichoderma harzianum*. *Physiol. Plantarum*. 98:737-742.
- Andrés, J. L.; Rivera, A. and Fernández, J. 2006. Virulence of Spanish *Phytophthora nicotianae* isolates towards *Capsicum annuum* germplasm and pathogenicity towards *Lycopersicon esculentum*. *Span. J. Agric. Res.* 4:248-254.
- Andrés-Ares, J. L.; Rivera-Martínez, A.; Pomar-Barbeito, F. and Fernández-Paz, J. 2005. Telluric pathogens isolated from blighted pepper (*Capsicum annuum* L.) plants in Northwestern Spain. *Span. J. Agric. Res.* 3:326-330.
- Bartual, R.; Lacasa, A.; Marsa, J. I. and Tello, J. C. 1994. Epistasis in the resistance of pepper to phytophthora stem blight (*Phytophthora capsici* L.) and its significance in the prediction of double cross performances. *Euphytica*. 72:149-152.
- Bnejdi, F.; Saadoun, M.; Allagui, M. B. and El Gazzah, M. 2008. Epistasis and heritability of resistance to *Phytophthora nicotianae* in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*. 167:39-44.
- Bosland, P. W. and Lindsey, D. L. 1991. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Dis.* 75:1048-1050.
- Chávez, J. J.; Zabaleta, E. y Téliz, D. 1995. Control integrado de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) ocasionado por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo, Puebla, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 30:47-55.
- Egea, C.; Alcazar, M. D. and Candela, M. E. 1996. Capsidioi; Its role in the resistance of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. *Physiol. Plantarum*. 98:737-742.
- Escalona, Y.; Rodríguez, D.; Contreras, N. y Jiménez, N. 2006. Patógenos del suelo en el cultivo de pimentón en la zona baja del municipio Jiménez estado Lara, Venezuela. *Bioagro*. 18:3-13.
- Ezziyyani, M.; Pérez-Sánchez, C.; Requena, M. E.; Sid, A. A. y Candela, M. E. 2004. Evaluación del biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. *Anales de Biología*. 26:61-68.
- García, R. S.; Juárez, C.; Carrillo, J. A.; Allende, R.; Marquéz, I. y Muy-Rangel, M. D. 2000. Marchitez bacteriana en chile bell causada por *Erwinia carotovora* sub spp. *Carotovora*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 18:120-124.
- García-Pérez, M. D.; Egea, C. and Candela, M. E. 1998. Defense response of pepper (*Capsicum annuum*) suspension cells to *Phytophthora capsici*. *Physiol. Plant*. 103:527-533.
- Gil-Ortega, R.; Espanol, C. P. and Zueco, J. C. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line "SCM-334". *Plant Breed.* 107:50-55.
- González-Pérez, E.; Yañez-Morales, M. J.; Santiago-Santiago, V. y Montero-Pineda, A. 2004. Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José manzano, el verde, Puebla. *Agrociencia*. 38:635-661.
- Guigón-López, C. y González-González, P. A. 2001. Estudio regional de la enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 19:49-56.
- Hausbeck, K. M. and Lamour, H. K. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. *Plant Dis.* 88:1292-1303.

- Hoitink, H. A. J. and Fahy, P. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:93-114.
- Kim, H. J.; Nahm, S. H.; Lee, H. R.; Yoon, G. B.; Kim, K. T.; Kang, B. C.; Choi, D.; Kweon, O. Y.; Cho, M. C.; Kwon, J. K.; Han, J. H.; Kim, J. H.; Park, M.; Ahn, J. H.; Choi, S. H.; Her, N. H.; Sung, J. H. and Kim, B. D. 2008. BAC-derived markers converted from RFLP linked to *Phytophthora capsici* resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 118:15-27.
- Leonian, L. H. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology.* 12:401-408.
- Minamiyama, Y.; Tsuro, M.; Kubo, T. and Hirai, M. 2007. QTL analysis for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper using a high density SSR-based map. *Breeding Sci.* 57:129-134.
- Muhyi, R. and Bosland, P. W. 1992. Evaluation of *Capsicum* germplasm for sources of resistance to *Rhizoctonia solani*. *Hortsci.* 30:341-342.
- Muñoz, C. I. and Bailey, A. M. 1998. A cutinase-encoding gene from *Phytophthora capsici* isolated by differential display (DDRT-PCR). *Curr. Genet.* 33:225-230.
- Nelson, P. E.; Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University, University Park. Pennsylvania, USA. 193 p.
- Palomo-Rodríguez, M.; Lujan-Favela, M.; Ávila-Quezada, G. y Berzoza-Martínez, M. 2003. Enfermedades radicales del cultivo de chile (*Capsicum annuum*) y medidas de control. Fundación Produce Chihuahua-SAGARPA-INIFAP. Publicación especial. Núm. 11. 121p.
- Papavizas, G. C. and Davey, C. B. 1962. Activity of *Rhizoctonia* in soil as affected by carbon dioxide. *Phytopathology.* 52:759-766.
- Parra, G. and Ristaino, J. 1998. Insensitivity to Ridomil Gold (mefenoxam) among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora* blight on bell peppers in North Carolina and New Jersey. *Plant Dis.* 82:711.
- Pérez, M. L.; Salinas, J. G. y Medina, J. O. 1990. Control genético y químico de la marchitez del chile *Capsicum annuum* causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo. *Rev. Mex. Fitopatol.* 8:71-76.
- Redondo, J. E. 1979. Búsqueda de genotipos de chile resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leonian. *Proc. Tropical Región A. S. H. S.* 23:220-224.
- Rivelli, V. C. 1989. A wilt of pepper incited by *Fusarium oxysporum* f. spp. *capsici* f. spp. nov. M. S. Thesis, Louisiana State University. Baton Rouge.
- Silvar, C.; Merino, F. and Díaz, J. 2006. Diversity of *Phytophthora capsici* en Northwest Spain: analysis of virulence, metalaxyl response, and molecular characterization. *Plant Dis.* 90:1135-1142.
- Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON). 1980-2008, SAGARPA, D. F., México. URL: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=181&Itemid=426.
- Sneh, B.; Burpee, L. and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. The American Phytopathological Society. 133 p.
- Stamps, D. J.; Waterhouse, G. M.; Newhook, F. J. and Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. Mycelia. Papers 162. 28 p.
- Tamietti, G.; Nervo, G. and Valentino, D. 1998. Genetic improvement of pepper for the resistance to *Phytophthora capsici* Leon: Status and perspectives. *J. Plant Pathol.* 80:264-271.
- Thabuis, A.; Lefebvre, V.; Daubéze, A. M.; Signoret, P.; Phaly, T.; Nemouchi, G.; Blattes, A. and Palloix, A. 2001. Introgression of a partial resistance to *Phytophthora capsici* Leon. into a pepper elite line by marker assisted backcrosses. *ISHS. Acta Hort.* 546:645-650.
- Thabuis, A.; Palloix, A.; Servin, B.; Daubéze, A. M.; Signoret, P.; Hospital, F. and Lefebvre, V. 2004. Marker-assisted introgression of 4 *Phytophthora capsici* resistance QTL alleles into a bell pepper line: validation of additive and epistatic effects. *Mol. Breeding* 14:9-20.
- Velásquez-Valle, R.; Medina-Aguilar, M. M. and Luna-Ruiz, J. J. 2001. Symptomatology and genera of pathogens associated with pepper (*Capsicum annuum* L.) root rots in North-Central Mexico. *Rev. Mex. Fitopatol.* 19(2):175-181.
- Walker, S. and Bosland, P. W. 1999. Inheritance of *Phytophthora* root rot and foliar blight resistance in pepper. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124:14-18.
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycol. Papers.* 92:1-22.
- Yousaf, I. and Khalid, A. N. 2007. *In vitro* biological control of *Fusarium oxysporum* causing wilt in *Capsicum annuum*. *Mycopath.* 5:85-88.