

Etiología y evaluación de alternativas de control de la marchitez del chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) en La Vega de Metztlán, Hidalgo, México

Etiology and evaluation of control alternatives for wilt in chile de arbol (*Capsicum annuum* L.) in La Vega, Metztlán, Hidalgo, México

Nanci Lozano Alejo¹, Remigio A. Guzmán-Plazola^{1,2*}, Emma Zavaleta Mejía¹, Víctor Heber Aguilar Rincón², Victoria Ayala Escobar¹. ¹Programa de Postgrado en Fitosanidad-Fitopatología y ²Programa de Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco. CP 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. ^{2*}Correspondencia: (rguzmanp@colpos.mx).

Recibido: Noviembre 20, 2014

Aceptado: Diciembre 13, 2014

Lozano Alejo N, Guzmán-Plazola RA, Zavaleta Mejía E, Aguilar Rincón VH y Ayala Escobar V. 2015. Etiología y evaluación de alternativas de control de la Marchitez del chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) en La Vega de Metztlán, Hidalgo, México. Revista Mexicana de Fitopatología 33: 31-53.

Resumen. La marchitez y muerte de plantas de chile de árbol en la Vega de Metztlán, Hidalgo (VMH), está causando grandes pérdidas de rendimiento en la región. En el presente trabajo se determinó la etiología de esta enfermedad y se evaluaron alternativas de control de disponibilidad inmediata (resistencia de diez cultivares de chile de árbol y eficacia de productos químicos y biológicos disponibles en el mercado nacional), como un primer paso hacia el manejo integrado del problema. Aunque *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* fueron también aislados de plantas enfermas, sólo *Phytophthora capsici* reprodujo los síntomas de la enfermedad. Los cultivares CP 1261, CP 1264 y CP 1305 mostraron los mayores niveles de resistencia a la enfermedad. Aplicaciones recurrentes de me-

Abstract. Wilt and death of chile de árbol plants in “La Vega de Metztlán”, Hidalgo (VMH) are causing important yield losses in the region. In this work, the etiology of this disease was determined and immediate available control alternatives were evaluated (resistance of ten chile de árbol cultivars and efficiency of chemical and biological products available in the national market) as the first step to the integrated management of the problem. *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* were isolated from diseased plants; however, only *Phytophthora capsici* duplicated the symptoms of the disease. The CP 1261, CP 1264 and CP 1305 cultivars showed the highest resistance levels to the disease. The repeated application of metalaxyl, fosetyl-aluminum or propamocarb, metalaxyl alternated with fosetyl-aluminum or with propamocarb, exerted total wilt control. Even though metam sodium controlled the disease in the majority of the cases, it proved to be phytotoxic. Among the natural alternatives, Baktillis (*Bacillus subtilis*), administered on its own or as the combination of Fus Out (*Trichoderma harzianum*) with Probac (*Bacillus subtilis*), both reduced the

talaxil, fosetil aluminio o propamocarb, metalaxil alternado con fosetil aluminio o con propamocarb tuvieron un control total de la marchitez. El metam sodio aunque controló la enfermedad en la mayoría de los casos, resultó fitotóxico. De los biológicos, Baktillis (*Bacillus subtilis*) aplicado sólo o la combinación de Fus Out (*Trichoderma harzianum*) con Probac (*Bacillus subtilis*) redujeron la severidad de la enfermedad, pero no impidieron la infección por el patógeno.

Palabras clave: Resistencia, control químico, control biológico de *Phytophthora capsici*.

El chile de árbol (*Capsicum annuum* L) es una especie de reciente introducción en la Vega de Metztlán, Hidalgo (VMH), donde es afectado por problemas de marchitez y muerte de plantas, cuya incidencia-severidad es cada vez más alta, al grado de causar pérdidas de rendimiento de hasta 100 %. A la fecha no se han publicado reportes sobre la etiología de esta enfermedad en la región ni sobre estrategias para su manejo. Los agricultores de la región utilizan indiscriminadamente productos químicos sugeridos por los comercializadores locales de plaguicidas; en la mayoría de los casos sin éxito y con el consecuente aumento en los costos de producción y pérdidas económicas que conducen al abandono del cultivo. La marchitez y muerte de plantas de chile generalmente está asociada con la infección radical por hongos de los géneros *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Fusarium* (Velásquez *et al.*, 2001). Aunque se han probado alternativas de control cultural, genético, químico y biológico, el éxito en el manejo de la enfermedad es en general variable, dependiendo de las condiciones del cultivo, genotipos de cultivo, de los patógenos involucrados y características de los suelos, entre otros factores (Ristaino y Johnston, 1999; Granke *et al.*, 2012), lo cual hace necesario definir

severity of the disease, but did not prevent the infection by the pathogen.

Key words: Resistance, chemical control, biological control of *Phytophthora capsici*.

The chile de árbol (*Capsicum annuum* L) is a recently introduced species in Vega, Metztlán, Hidalgo (VMH), where it is affected by wilt and plant death problems, the incidence-severity of which is increasingly higher, to the point of having caused a yield loss of up to 100 %. To this date, there are no published reports about the etiology of this disease in the region, or the strategies for its management. Farmer of the region indiscriminately use chemical products that have been suggested by the local pesticide sellers; in most cases these are unhelpful and result in the abandonment of the crops. The wilt and death of chili plants are generally associated with the root fungal infection of *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* and *Fusarium* genera (Velásquez *et al.*, 2001). Even though cultural, genetic, chemical and biological control alternatives have been tried, the success in the management of the disease is usually variable, depending on the conditions of the crop, cultivar genotype and the pathogens involved and the characteristics of the soil, among other factors (Ristaino and Johnston, 1999; Granke *et al.*, 2012), which makes it necessary to define specific control measures for each region. Once the etiology of a plant health problem has been determined, it is necessary to access the most easily available control resources while an integral management program is designed, in order to offer immediate alternatives to the producers. Generally, the first choice resource is the evaluation of the resistance or tolerance of crop genotypes and of the available and authorized chemical and biological commercial products in the market. In this work, in addition to

medidas de control específicas para cada región. Una vez determinada la etiología de un problema fitosanitario, en tanto se diseña un programa integral de manejo se hace necesario recurrir a los recursos de control más fácilmente disponibles, para poder ofrecer alternativas inmediatas a los productores. La evaluación de la resistencia o tolerancia de genotipos del cultivo y de los productos químicos y biológicos comerciales autorizados disponibles en el mercado es generalmente el primer recurso de elección. En el presente trabajo además de determinar la etiología del agente causal de la marchitez y muerte del chile en la VMH, se realizó una evaluación, en suelos de la VMH, de la resistencia a la marchitez de cultivares de chile de árbol colectados en diferentes partes de la República Mexicana y de la efectividad de los productos químicos y biológicos disponibles en el mercado nacional, así como diferentes esquemas de alternancia enfocados a reducir riesgos de resistencia.

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación fue realizada bajo condiciones de invernadero, con el fin de reducir los problemas asociados a la variabilidad del suelo y a la distribución espacial del patógeno, factores frecuentemente observables en fitopatógenos del suelo (Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997), particularmente cuando se maneja un número alto de tratamientos.

Aislamiento, identificación y pruebas de patogenicidad de los organismos asociados a la marchitez del chile. Se colectó suelo rizosférico y plantas de chile de árbol (*Capsicum annuum* L) con síntomas de marchitez en tres localidades de la VMH. Los tallos y las raíces se desinfectaron superficialmente de acuerdo a lo descrito por Silva-Rojas *et*

determining the etiology of the causative agent of wilt and death of the chile in VMH, an evaluation was performed, in VMH soil, of the wilt resistance of chile de árbol cultivars collected from different parts of the Mexican Republic and of the efficiency of the chemical and biological products available in the national market, as well as of different alternation patterns focused on the reduction of resistance risks.

MATERIALS AND METHODS

This investigation was carried out under greenhouse conditions, with the objective of reducing the problems associated with the variability of the soil and the spatial distribution of the pathogen, frequently associated to soil pathogens (Larkin *et al.*, 1995; Gumpertz *et al.*, 1997), particularly when a high number of treatments are being handled.

Isolation, identification and pathogenicity tests of the organisms associated with chile wilt. Rhizospheric soil and chile de árbol plants (*Capsicum annuum* L) with wilt symptoms were collected from three locations in VMH. The stems and roots were superficially disinfected according to the description of Silva-Rojas *et al.* (2009) and González-Pérez *et al.* (2004). They were sectioned in 1 cm segments to be cultivated in potato dextrose agar (PDA) and were incubated at room temperature (25°C). The resulting fungal isolates, or oomycetes, were purified in PDA or V8 medium, according to the specific case. The genus identification was done based on Barnett and Hunter (1998) and Erwin and Ribeiro (1996) keys. On a species level, *Fusarium* was identified through Booth's (1977) taxonomic keys and *Rhizoctonia* based on Sneh *et al.* (1991). For *Phytophthora*, the Gallegly and Hong (2008)

al. (2009) y González-Pérez *et al.* (2004), se seccionaron en segmentos de 1 cm para sembrarlos en medio papa dextrosa agar (PDA) y se incubaron a temperatura ambiente (25 °C). Los aislamientos de hongos u oomicetos resultantes fueron purificados en PDA o medio V8, según el caso. La identificación a nivel de género se realizó con base en las claves de Barnett y Hunter (1998) y Erwin y Ribeiro (1996). A nivel especie, *Fusarium* se identificó mediante las claves taxonómicas de Booth (1977) y *Rhizoctonia* con base en Sneh *et al.* (1991). Para *Phytophthora* se utilizaron las claves de Gallegly y Hong (2008). Las estructuras reproductivas se midieron utilizando una cámara digital (Motic 2300, USA) conectada a una computadora marca Dell.

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en cámara de temperatura y luz controlada utilizando semillas de chile de árbol procedentes del estado de Jalisco. Las semillas se germinaron en cajas de Petri con papel filtro y agua destilada estéril. Una vez germinadas se transfirieron a charolas de poliuretano de 200 cavidades, con sustrato estéril a base de turba y agrolita (1:1). Se trasplantaron plántulas con 3 a 4 pares de hojas verdaderas a vasos de poliuretano de 1 L con suelo de la VMH previamente esterilizado. La prueba de patogenicidad se realizó dos veces. En cada prueba se inocularon cuatro plantas por cada género de hongo u oomiceto, con un testigo no inoculado en cada caso.

Para los aislamientos de *Fusarium* se aplicó al cuello del tallo de cada planta 1 ml de una suspensión de conidios (Silva-Rojas *et al.*, 2009) con 1×10^6 esporas/planta. En el caso de *Rhizoctonia* sp. se inoculó una suspensión de micelio (Singh *et al.*, 2002; Pineda *et al.*, 2005) de 1×10^5 unidades formadoras de colonias/planta. En el caso de *Phytophthora* sp se inocularon 1×10^5 zoosporas/planta (Morán-Bañuelos *et al.*, 2010). En cada unidad experimental se evaluó la presencia o ausencia de síntomas. Las evaluaciones se realizaron cada 2 d

keys were used. The reproductive keys were measured using a digital camera (Motic 2300, USA) connected to a Dell computer.

The pathogenicity tests were done in a growth chamber with controlled temperature and light using chile de árbol seeds from the state of Jalisco. The seed were germinated in Petri dishes with filter paper and distilled water. Once the seeds germinated, they were transferred to Polyurethane trays with 200 cavities with sterile substrate made of peat and agrolite (1:1). Seedlings with 3 to 4 pairs of real leaves were transplanted to 1 L polyurethane vessels with previously sterilized soil from VMH. The pathogenicity test was performed twice. In each test, four plants were inoculated for each fungal or oomycetes genus, with a non-inoculated control in each case.

For the *Fusarium* isolates, 1 ml of the conidial suspension was administered to the stem of each plant (Silva-Rojas *et al.*, 2009) with 1×10^6 spores/plant. In the case of *Rhizoctonia* sp., a suspension of mycelium was inoculated (Singh *et al.*, 2002; Pineda *et al.*, 2005) having 1×10^5 colony forming units/plant. In the case of *Phytophthora* sp., 1×10^5 zoospores/plant (Morán-Bañuelos *et al.*, 2010) were inoculated. In each experimental unit the presence or absence of symptoms was evaluated. The evaluations were done every 2 days during 30 days and the causative agent was isolated once again in order to comply with Kock's postulates (Agrios, 2005).

The identification of the isolated organisms was confirmed through the sequencing of fragments of the ITS region, amplified by means of the PCR technique. The extraction of DNA was done according to Sambrook and Russell (2001). For the PCR test, 2.5 µL of reaction buffer were used, 1.25 µL $MgCl_2$, 0.5 µL dNTP's, 1 µL of primer ITS4, 1 µL of primer ITS5, 0.5 µL of Taq DNApol, 2 µL of DNA and 16.25 µL of water for injection

durante 30 d y se aisló nuevamente el agente causal para apegarse a los postulados de Koch (Agrios, 2005).

Se confirmó la identidad de los organismos aislados mediante secuenciación de fragmentos de la región ITS, amplificados mediante la técnica de PCR. La extracción de DNA se realizó con base en Sambrook y Russell (2001). Para la prueba de PCR se utilizaron 2.5 µL de amortiguador de reacción, 1.25 µL MgCL₂, 0.5 µL de dNTP's, 1 µL de primer ITS4, 1 µL de primer ITS5, 0.5 µL de Taq DNApol, 2 µL de DNA y 16.25 µL de agua inyectable (White *et al.*, 1990). Los primers se sintetizaron en el Instituto de Biotecnología de la UNAM (IBT-UNAM). La amplificación se realizó en un termociclador Techne®, modelo TC-512, de acuerdo al procedimiento descrito por Silva-Rojas *et al.* (2009). Para verificar el producto de la amplificación se realizó electroforesis a 90 V por 30 min en gel de agarosa al 1% y tinción con 1 µL de bromuro de etidio. La secuenciación se realizó por la empresa Macrogen, Corea. La secuencia obtenida fue alineada con las depositadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Evaluación de resistencia de cultivares de chile de árbol a *Phytophthora*. Debido a que solamente *P. capsici* causó síntomas de marchitez y muerte de plantas en las pruebas de patogenicidad, la resistencia a este patógeno se evaluó en diez accesiones de chile de árbol colectadas en los estados de Jalisco, Nayarit y Puebla, cultivadas en suelo natural y en sustrato a base de turba-agrolita (1:1). La semilla fue desinfectada superficialmente mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% (V/V) y dos lavados subsecuentes con agua destilada. Se trasplantaron plántulas de cada accesión con 3 ó 4 pares de hojas verdaderas en macetas de 250 mL con turba-agrolita (1:1) o suelo

(White *et al.*, 1990). The primers were synthesized in the Instituto de Biotecnología of the UNAM (IBT-UNAM). The amplification was done in a Techne® thermal cycler, model TC-512, according to the procedure described by Silva-Rojas *et al.* (2009). In order to verify the product of the amplification, electrophoresis was carried out at 90 V for 30 minutes in the agarose gel at 1 % with 1 µL of ethidium bromide. The sequencing was carried out by the Macrogen Company (Korea). The sequence obtained was aligned with those entered into the database of the National Center for Biotechnology Information (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Resistance evaluation of chile de árbol cultivars to *Phytophthora*. Due to the fact that only *P. capsici* caused wilt and plant death symptoms in the pathogenicity tests, the resistance to this pathogen was evaluated in ten chile de árbol accessions collected from the states of Jalisco, Nayarit and Puebla, cultivated in natural soil and in substrate made of peat-agrolite (1:1). The seed was superficially disinfected through immersion in a solution of sodium hypochlorite at 1.5 % (V/V) and two subsequent rinses with distilled water. Seedlings from each accession with 3 or 4 pairs of real leaves were transplanted to 250 mL pots with peat-agrolite (1:1) or non-sterilized soil from VMH, La Paila locality, and were kept in a greenhouse at the Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. The production of the inoculum and inoculation was done through the same procedure described for the pathogenicity tests. The inoculation was done 72 hours after the transplant. Before the inoculation, saturated irrigation was applied in order to create optimal conditions for the infection by *P. capsici*. A re-inoculation was done 15 days after the transplant in order to increase the possibility of infection (Andrés *et al.*, 2005; Morán-Bañuelos *et al.*, 2010).

no esterilizado de la VMH, localidad La Paila, y se mantuvieron en un invernadero del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. La producción de inóculo e inoculación se realizaron mediante el mismo procedimiento descrito para las pruebas de patogenicidad. La inoculación se realizó 72 h después del trasplante. Antes de la inoculación se aplicó un riego a saturación para crear condiciones óptimas para la infección por *P. capsici*. Se realizó una reinoculación a los 15 d después del trasplante, con la finalidad de aumentar la probabilidad de infección (Andrés *et al.*, 2005; Morán-Bañuelos *et al.*, 2010).

Se usó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por dos plantas por repetición. El experimento se realizó dos veces. Se evaluó la severidad de la enfermedad cada tres días con base en la escala de Sanogo (2006) y a partir de estos datos se calculó el área bajo la curva del progreso de la severidad (Campbell y Madden, 1990). Se registró el peso seco de la parte aérea de las plantas después de someterlas a desecación a 70 °C durante 72 h. Se realizó el análisis de varianza mediante el procedimiento ANOVA del programa SAS (Statistical Analysis System) v. 9.3. Cada experimento fue analizado por separado. Las comparaciones entre promedios se realizaron con base en la prueba de Tukey (Steel *et al.*, 1997).

Efectividad de productos químicos disponibles en el mercado mexicano para el control de la marchitez por *P. capsici*. Se utilizaron semillas de chile de árbol procedentes del estado de Jalisco. Se trasplantó una plántula con 5 a 8 pares de hojas verdaderas a macetas de 250 mL con suelo no tratado procedente de las localidades San Pedro Tlatemalco, Tres Cruces o la Paila, VMH, donde se cultiva regularmente chile de árbol. Las macetas se colocaron en un invernadero del Colegio

A completely random design was used with four repetitions of each treatment. The experimental unit was comprised of two plants for repetition. The experiment was performed twice. The severity of the disease was evaluated every three days according to the Sanogo scale (2006), and from this information the area under the severity progress curve was calculated (Campbell and Madden, 1990). The dry weight of the aerial parts of the plants was registered after subjecting them to desiccation at 70 °C during 72 hours. The analysis of variance was performed through the ANOVA procedure of the SAS (Statistical Analysis System) v 9.3 program. Each experiment was analyzed separately. The comparisons among averages were done according to the Tukey test (Steel *et al.*, 1997).

Effectiveness of chemical products available in the Mexican market for the control of wilt caused by *P. capsici*. Chile de árbol seeds from the state of Jalisco were used. A seedling with 5 to 8 pairs of real leaves was transplanted to 250 mL pots with non-treated soil from the localities of San Pedro Tlatemalco, Tres Cruces and la Paila, VMH, where chile de árbol is usually cultivated. The pots were placed in a greenhouse at the Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Before the transplant, 1×10^5 encysted zoospores were mixed in the soil of each pot.

The following chemical products were evaluated: metalaxyl at 45.28 % (Ridomild Gold 480 SL, soluble concentrate, Syngenta) $1.5 \text{ L} \cdot \text{ha}^{-1}$; fosetyl aluminum 80 % (Aliette wdg, dispersible granules, Bayer Crop science) $2.5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$; propamocarb 64 % (Previcur N, aqueous solution, Bayer Crop Science) $1.5 \text{ L} \cdot \text{ha}^{-1}$ and metam sodium 42.5 % (Lucafum, aqueous solution, Lucava chemical) $0.1 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1}$ for 43 hours and 45 days aeration. Parallel to these treatments, three control were evaluated: 1) plants without fungicides and without inoculation,

de Postgraduados, Campus Montecillo. Antes del trasplante se mezclaron 1×10^5 zoosporas enquistadas en el suelo de cada maceta.

Se evaluaron los siguientes productos químicos: metalaxil al 45.28 % (Ridomild Gold 480 SL, concentrado soluble, Syngenta) $1.5 \text{ L} \cdot \text{ha}^{-1}$; fosetil aluminio 80 % (Aliette wdg, gránulos dispersables, Bayer Crop science) $2.5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$; propamocarb 64% (Previcur N, solución acuosa, Bayer Crop Science) $1.5 \text{ L} \cdot \text{ha}^{-1}$ y metam sodio 42.5 % (Lucafum, solución acuosa, química Lucava) $0.1 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1}$, por 43 h y 45 d aireación. A la par de estos tratamientos se evaluaron tres testigos: 1) plantas sin fungicidas y sin inoculación, cultivadas en suelo esterilizado, de cada localidad de la VMH; 2) plantas no inoculadas cultivadas en suelo no esterilizado y 3) plantas inoculada (1×10^5 zoosporas/planta) en suelo esterilizado, de cada localidad. Las combinaciones evaluadas de productos químicos quedaron definidas con base en un arreglo factorial $2 \times 2 \times 2 \times 2$ (con y sin) de los fungicidas metam sodio, metalaxil, fosetil aluminio y propamocarb. De acuerdo con las combinaciones resultantes, se hicieron aplicaciones simples, dobles, triples y cuádruples de fungicida en forma alternada. De esta manera, se evaluó un total de 18 tratamientos, incluyendo los testigos. La primera aplicación de metalaxil, fosetil aluminio o propamocarb se realizó al sustrato en etapa de vivero (1 a 30 d después de la siembra). Subsecuentemente el metalaxil y fosetil aluminio se aplicaron cada 8 d y el propamocarb cada 10 d. Cuando se usó solo un tipo de producto este se aplicó dos veces más. Cuando se alternaron los productos sólo se aplicaron una vez más de acuerdo al orden que les correspondió. Para determinar la cantidad de producto aplicado en cada maceta se calculó la cantidad de agua necesaria para regarlas y se estimó el volumen para una hectárea considerando una densidad de población de 20,000 plantas (Soria 1993). Las plantas se regaron en forma

cultivated in sterilized soil from each VMH location; 2) non-inoculated cultivated plants in non-sterilized soil; and 3) inoculated plants (1×10^5 zoospores/plant) in sterilized soil from each location. The evaluated combinations of chemical products were defined based on a factorial arrangement $2 \times 2 \times 2 \times 2$ (with and without) of the metam sodium, metalaxyl, fosetyl aluminum and propamocarb fungicides. According to the resulting combinations, simple, double, triple and quadruple applications of fungicide were done in an alternated manner. In this manner, a total of 18 treatments, including the control, was evaluated. The first application of metalaxyl, fosetyl aluminum or propamocarb was administered to the substrate in the greenhouse stage (1 to 30 days after cultivation). Subsequently, metalaxyl and fosetyl aluminum were applied every 8 days and propamocarb every 10 days. The products were only administered once more when they were alternated, according to the corresponding order of each. In order to determine the quantity of applied product in each pot, the quantity of necessary water to irrigate them was calculated and the volume for one hectare was estimated considering a population density of 20,000 plants (Soria 1993). The plants were watered in an alternated manner with water and nutritive solution (630 g of Nitrofoska 12-12-12 in 20 L of water: dilution 1:10 (Nitrofoska; water)) (Villar-Luna *et al.*, 2009).

The experiment had an entirely random experimental design, with four repetitions and was performed twice. The same variables of the resistance experiment to *P. capsici* were evaluated and the same statistical analysis approach was applied.

Effectiveness of biological products available in the Mexican market for the control of *P. capsici*. The genotype used, the handling of the seeds and

alternada con agua y solución nutritiva (630 g de Nitrofoska 12-12-12 en 20 L de agua: dilución 1:10 (Nitrofoska: agua)) (Villar-Luna *et al.*, 2009).

El experimento tuvo un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones y se realizó dos veces. Se evaluaron las mismas variables que en el experimento de resistencia a *P. capsici* y se aplicó el mismo enfoque de análisis estadístico.

Efectividad de productos biológicos disponibles en el mercado mexicano para el control de *P. capsici*. El genotipo utilizado, el manejo de la semilla y plántulas, el procedimiento de inoculación al suelo, testigos, nutrición, método de cálculo de dosis, diseño experimental, variables evaluadas y metodologías de análisis estadístico en esta parte del trabajo fueron los mismos descritos para los experimentos de control químico. Se evaluaron los cuatro únicos productos biológicos disponibles en el mercado nacional: Natucontrol® (*Trichoderma harzianum*) a 400 g·ha⁻¹; Fus out® (*T. harzianum*) a 1 L·ha⁻¹; Baktillis® (*Bacillus subtilis*) a 1 L·ha⁻¹; Probac BS 10® (*B. subtilis*) a 1 L·ha⁻¹. En calidad de tratamientos se incluyó la evaluación individual de los cuatro productos, pero además se comparó la combinación de Natucontrol o Fus out mezclado con Baktillis o con Probac con la finalidad de utilizar una mezcla de organismos con diferente actividad antagonista, estrategias de colonización y mecanismos de supresión que pudiesen causar un efecto sinérgico (Raupach y Kloepper, 1998; Mathre *et al.*, 1999; Akgül y Mirik, 2008). La primera aplicación se realizó 48 h previas al trasplante; la segunda se hizo al momento del trasplante y la tercera 15 d después. Cuarenta y ocho horas después del trasplante se aplicaron 1 x 10⁵ zoosporas de *P. capsici* a cada maceta. Todos los tratamientos fueron aplicados bajo un diseño factorial (8 x 3) en combinación con suelo procedente de las localidades

seedlings, the procedure of soil inoculation, control nutrition, dose calculation methods, experimental design, evaluated variables and statistical analysis methodologies in this part of the work were the same as those described for the chemical control experiments. The only four biological products available in the national market were evaluated: Natucontrol® (*Trichoderma harzianum*) at 400 g·ha⁻¹; Fus out® (*T. harzianum*) at 1 L·ha⁻¹; Baktillis® (*Bacillus subtilis*) at 1 L·ha⁻¹; Probac BS 10® (*B. subtilis*) at 1 L·ha⁻¹. Regarding treatments, the individual evaluation of the four products was included. In addition, the combination of Natucontrol or Fus out mixed with Baktillis or with Probac was compared with the objective of using a mixture of organisms with different activity, colonization strategies, and suppression mechanisms that could cause a synergistic effect (Raupach and Kloepper, 1998; Mathre *et al.*, 1999; Akgül and Mirik, 2008). The first application was done 48 hours prior to the transplant; the second one was done at the moment of the transplant, and the third one 15 days after. 48 hours after the transplant, 1 x 10⁵ zoospores of *P. capsici* were applied to each pot. All treatments were applied under a factorial design (8 x 3) combined with soil from San Pedro Tlatemalco, Tres Cruces and La Paila, of VMH. The experiment was done twice.

RESULTS

Identification and pathogenicity tests. From the roots and stems of the chile de árbol, nine strains from the *Fusarium* genus, three from the *Rhizoctonia* genus and one from the *Phytophthora* genus were isolated. Their correspondence to the *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr., *Rhizoctonia solani* Kühn and *Phytophthora capsici* Leonian species was determined through morphological and

San Pedro Tlatemalco, Tres Cruces y La Paila, de la VMH. El experimento se realizó dos veces.

RESULTADOS

Identificación y pruebas de patogenicidad. De las raíces y tallos de chile de árbol se aislaron nueve cepas del género *Fusarium*, tres de *Rhizoctonia* y una de *Phytophthora*. Mediante el análisis morfológico y molecular se determinó que correspondieron a las especies *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian. Esta última tuvo una homología de 100% con la cepa KJ855326 del GenBank, National Center for Biotechnology Information (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) que corresponde a la misma especie. De estos patógenos únicamente *P. capsici* causó amarillamiento, marchitez, necrosamiento del tallo y muerte de las plantas, a partir de los 7 d después de la inoculación, en los dos bioensayos realizados.

Evaluación de resistencia de cultivares de chile de árbol a *Phytophthora capsici*. De acuerdo al análisis de varianza de los datos de los dos experimentos, el área bajo la curva del progreso de la severidad (ABCPS) en colectas de chile inoculadas con el oomiceto varió con el tipo de cultivar ($P < 0.0001$) y con el sustrato ($P < 0.0001$), pero también ocurrió una interacción altamente significativa entre cultivar y sustrato ($P < 0.0001$). El ABCPS fue más alto cuando las plantas fueron cultivadas en turba-agrolita en comparación con las crecidas en suelo no tratado de la VMH. Las colectas CP 1264 y 1261 tuvieron la menor ABCPS en turba-agrolita, según el experimento, y en suelo tuvieron valores aún más bajos (Figura 1). Los cultivares CP 1305, CP Compuesto Jalisco 1, CP Compuesto Jalisco 2, CP 1306, CP 1261 y CP 1205 tuvieron

molecular analyses. The latter had a homology of 100 % with the KJ855326 strain of the GenBank, National Center for Biotechnology Information (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), which corresponds to the same species. From these pathogens, only *P. capsici* caused yellowing, wilt, and necrosis of the stems and the death of the plant, within 7 days after inoculation, in both bioassays conducted.

Resistance evaluation of chile de árbol cultivars to *Phytophthora capsici*. According to the analysis of variance of the data from both experiments, the area under the severity progress curve (AUSPC) in collections of chile inoculated with the oomycete varied according to the type of cultivar ($P < 0.0001$) and substrate ($P < 0.0001$); there was also a highly significant interaction between the cultivar and the substrate ($P < 0.0001$). The AUSPC was higher when the plants were cultivated in peat-agrolite compared to those cultivated in non-treated soil from VMH. The CP 1264 and 1261 accessions had the smallest AUSPC in peat-agrolite, according to the experiment, and in normal soil they had even smaller values (Figure 1). The CP 1305, CP Compuesto Jalisco 1, CP Compuesto Jalisco 2, CP 1306, CP 1261 and CP 1205 cultivars had average values of around 80 to 100 units in peat-agrolite, but once they were cultivated in soil the AUSPC decreased to values of around 40 units (Figure 1A). In the case of CP Compuesto Nayarit, CP Compuesto Puebla 1 and CP Compuesto Puebla 2 cultivars the AUSPC was consistently higher than the rest of the collections, regardless of the substrate in which the plants were cultivated. The AUSPC values in the non-inoculated plants were zero in all cases, with the exception of CP Compuesto Puebla 2, cultivated in soil, which was the only one that showed symptoms of disease under these conditions but with values that were very close to zero.

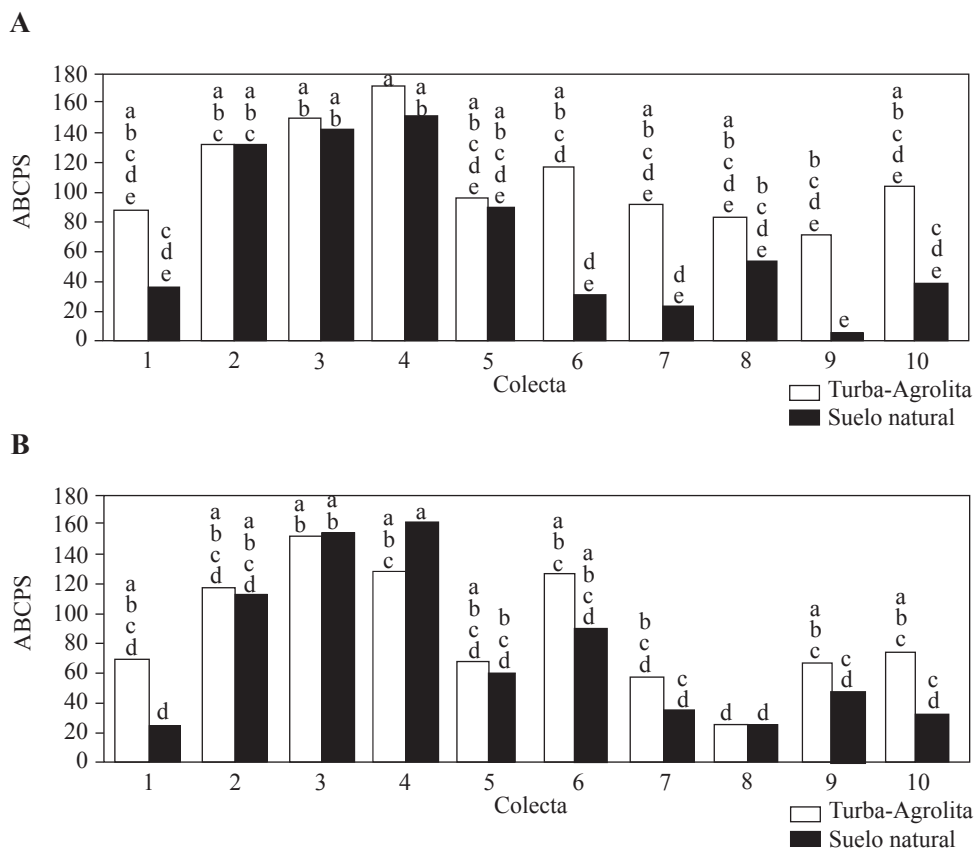


Figura 1. Área bajo la curva del progreso de la severidad de la marchitez de diferentes colectas de chile de árbol (*Capsicum annuum*) inoculadas con una cepa de *Phytophthora capsici* aislada de chile de árbol en suelo de la vega de Metztlán, Hidalgo (VMH). Plantas cultivadas en turba-agrolita estéril, 1:1 y plantas cultivadas en suelo no tratado colectado en la VMH. Experimento 1(A) y 2 (B). Los números en el eje X indican el cultivar: 1) CP 1305, 2) CP Compuesto Nayarit, 3) CP Compuesto Puebla 1, 4) CP Compuesto Puebla 2, 5) CP Compuesto Jalisco 1, 6) CP Compuesto Jalisco 2, 7) CP 1306, 8) CP 1261, 9) CP 1264, 10) CP 1265. Cada valor es el promedio de cuatro repeticiones. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$).

Figure 1. Area under the curve of the severity progress of wilt of different accessions of chile de árbol (*Capsicum annuum*) inoculated with a strain of *Phytophthora capsici* isolated from chile de árbol in soil from Vega de Metztlán, Hidalgo (VMH). Plants cultivated in sterile peat-agrolite, 1:1 and plants cultivated in non-treated soil collected in VMH. Experiment 1(A) and 2 (B). The numbers in axis X indicate the cultivar: 1) CP 1305, 2) CP Compuesto Nayarit, 3) CP Compuesto Puebla 1, 4) CP Compuesto Puebla 2, 5) CP Compuesto Jalisco 1, 6) CP Compuesto Jalisco 2, 7) CP 1306, 8) CP 1261, 9) CP 1264, 10) CP 1265. Each value is the average of four repetitions. Means with the same letter are statistically equal (Tukey $\alpha = 0.05$).

valores promedio alrededor de las 80 a 100 unidades en turba-agrolita, pero al ser cultivadas en suelo el ABCPS se redujo a valores alrededor de 40 unidades (Figura 1A). En el caso de los cultivares CP Compuesto Nayarit, CP Compuesto Puebla 1 y CP Compuesto Puebla 2 el ABCPS fue consistentemente

In experiment 1, the analysis of variance indicates that the dry weight of the plants varied only in relation to the type of substrate ($P < 0.0001$) and the genotype ($P = 0.034$), but there was no interaction effect between both factors ($P = 0.48$). The non-inoculated plants in VMH soil, produced

más alto que en el resto de colectas, independientemente del sustrato en que fueron cultivadas las plantas. Los valores de ABCPS en las plantas no inoculadas fueron de cero en todos los casos, con excepción del CP Compuesto Puebla 2 cultivado en suelo, quien fue el único que mostró síntomas de enfermedad bajo estas condiciones pero tuvo valores muy cercanos a cero.

En el experimento 1, el análisis de varianza indica que el peso seco de las plantas varió sólo en función del tipo de sustrato ($P < 0.0001$) y del genotipo ($P = 0.034$), pero no hubo efecto de interacción entre ambos factores ($P = 0.48$). Las plantas no inoculadas en suelo de la VMH produjeron en promedio 0.44 g/planta, mientras que las cultivadas sin inoculación en turba-agrolita produjeron 0.2 g/planta. En el caso de las plantas inoculadas los valores fueron 0.12 y 0.09 g/planta, respectivamente y resultaron estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha = 0.05$) con respecto a las no inoculadas. En el caso de los cultivares los valores variaron de 0.33 g/planta, en el cultivar CP 1306, a 0.15 g/planta, en el cultivar Compuesto Puebla 1. Solo las diferencias entre estos dos cultivars resultaron significativas (Tukey $\alpha = 0.05$). El resto de genotipos tuvo valores intermedios y estadísticamente iguales a ambos promedios.

En el experimento 2, se observó un patrón similar en la acumulación de materia seca en la parte aérea en la mayoría de los casos, con excepción de las colectas CP 1305, CP 1261 y Compuesto Jalisco 1 que mostraron los valores más altos de su grupo de inoculación (Figura 2).

Efectividad de productos químicos disponibles en el mercado mexicano para el control de la marchitez por *P. capsici*. Los resultados del análisis de varianza del ABCPS indican que en las plantas cultivadas en los tres suelos de la VMH (San Pedro Tlatemalco, La Paila y Tres Cruces) ocurrió

an average of 0.44 g/plant, while those cultivated without inoculation in peat-agrolite produced 0.2 g/plant. In the case of the inoculated plants the values were 0.12 and 0.09 g/plant, respectively and were statistically different (Tukey $\alpha = 0.05$) compared to the non-inoculated plants. In the case of the cultivars the values varied from 0.33 g/plant, in the CP 1306 cultivar, to 0.15 g/plant in the Compuesto Puebla 1 cultivar. The differences between these two cultivars were the only significant ones (Tukey $\alpha = 0.05$). The remaining genotypes had intermediate and statistically equal values to both averages.

In experiment 2, a similar pattern in the accumulation of dry matter in the aerial part was observed in the majority of the cases, with the exception of collections: CP 1305, CP 1261 and Compuesto Jalisco 1 that showed the highest values of their inoculation groups (Figure 2).

Effectiveness of chemical products available in the Mexican market for the control of wilt caused by *P. capsici*. The results of the analysis of variance of the AUSPC indicate that the plants cultivated in the three soils from VMH (San Pedro Tlatemalco, La Paila and Tres Cruces) there was a significant interaction between the four chemical products evaluated ($P < 0.0001$). The inoculated plants that were not treated with chemical products had considerably higher AUSPC values than the rest of the treatments, while the plants cultivated in non-inoculated soil did not show disease symptoms, regardless of the sterilization or lack thereof of the soil. Metalaxyl, fosetyl-aluminum or propamocarb, applied alone, and the alternation of metalaxyl with fosetyl-aluminum or with propamocarb, presented a total disease control in both experiments carried out (Figure 3). The remaining treatments showed variations in the level of disease control, with total control cases as well as low levels of AUSPC, that varied between 0 and 125 units (Figure 3). The

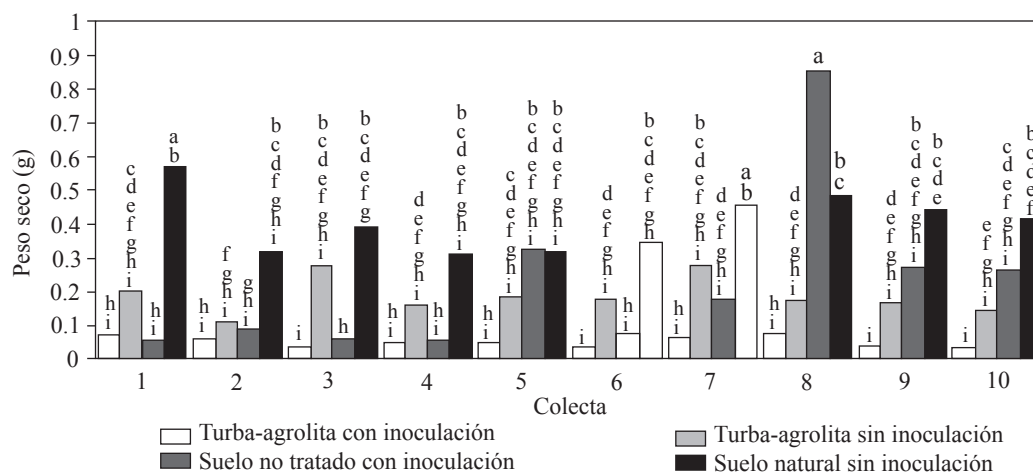


Figura 2. Experimento 2. Peso seco de la parte aérea de diferentes colectas de chile de árbol (*Capsicum annuum*) cultivadas en turba-agrolita, 1:1 y en suelo de la Vega Metztlán, Hidalgo (VMH), con y sin inoculación con *Phytophthora capsici*, aislada de plantas de chile de árbol de la VMH. Los números en el eje X indican las colectas: 1) CP 1305, 2) CP Compuesto Nayarit, 3) CP Compuesto Puebla 1, 4) CP Compuesto Puebla 2, 5) CP Compuesto Jalisco 1, 6) CP Compuesto Jalisco 2, 7) CP 1306, 8) CP 1261, 9) CP 1264, 10) CP 1265. Promedios de cuatro repeticiones. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$).

Figure 2. Experiment 2. Dry weight of the aerial part of different accessions of chile de árbol (*Capsicum annuum*) cultivated in peat-agrolite, 1:1 and in soil from Vega Metztlán, Hidalgo (VMH), with and without inoculation with *Phytophthora capsici*, isolated from chile de árbol plants from VMH. The numbers in axis X indicate the collections: 1) CP 1305, 2) CP Compuesto Nayarit, 3) CP Compuesto Puebla 1, 4) CP Compuesto Puebla 2, 5) CP Compuesto Jalisco 1, 6) CP Compuesto Jalisco 2, 7) CP 1306, 8) CP 1261, 9) CP 1264, 10) CP 1265. Average of four repetitions. Means with the same letter are statistically equal (Tukey $\alpha = 0.05$).

una interacción significativa entre los cuatro productos químicos evaluados ($P < 0.001$). Las plantas inoculadas sin aplicaciones de productos químicos tuvieron valores de ABCPS considerablemente más altos que el resto de tratamientos, mientras que las plantas cultivadas en suelo no inoculado no mostraron síntomas de la enfermedad, independientemente de si el suelo fue esterilizado o no. El metalaxil, fosetil aluminio o propamocarb, aplicados solos, y la alternancia de metalaxil con fosetil aluminio o con propamocarb, tuvieron un control total de la enfermedad en los dos experimentos realizados en suelo de cada localidad (Figura 3). El resto de tratamientos mostraron variaciones en el nivel de control de la enfermedad, con casos tanto de control total como niveles bajos en el ABCPS, que variaron entre cero y 125 unidades (Figura 3).

alternated applications with three or four products did not present a total control of the disease in all cases, but the maximum areas calculated did not exceed 90 units.

When comparing the effect of the soil on the AUSPC, it can be observed in Figure 3 that in the soil from Tres Cruces there were more symptoms of the disease than in the soils from San Pedro Tlatemalco and La Paila, as well as a decreased consistency in the reproducibility of the results among experiments; however, even in this scenario, the recurring treatments of metalaxyl or propamocarb, or the alternated application of metalaxyl with fosetyl aluminum or with propamocarb and propamocarb with fosetyl aluminum, presented a total control of the disease in both experiments.

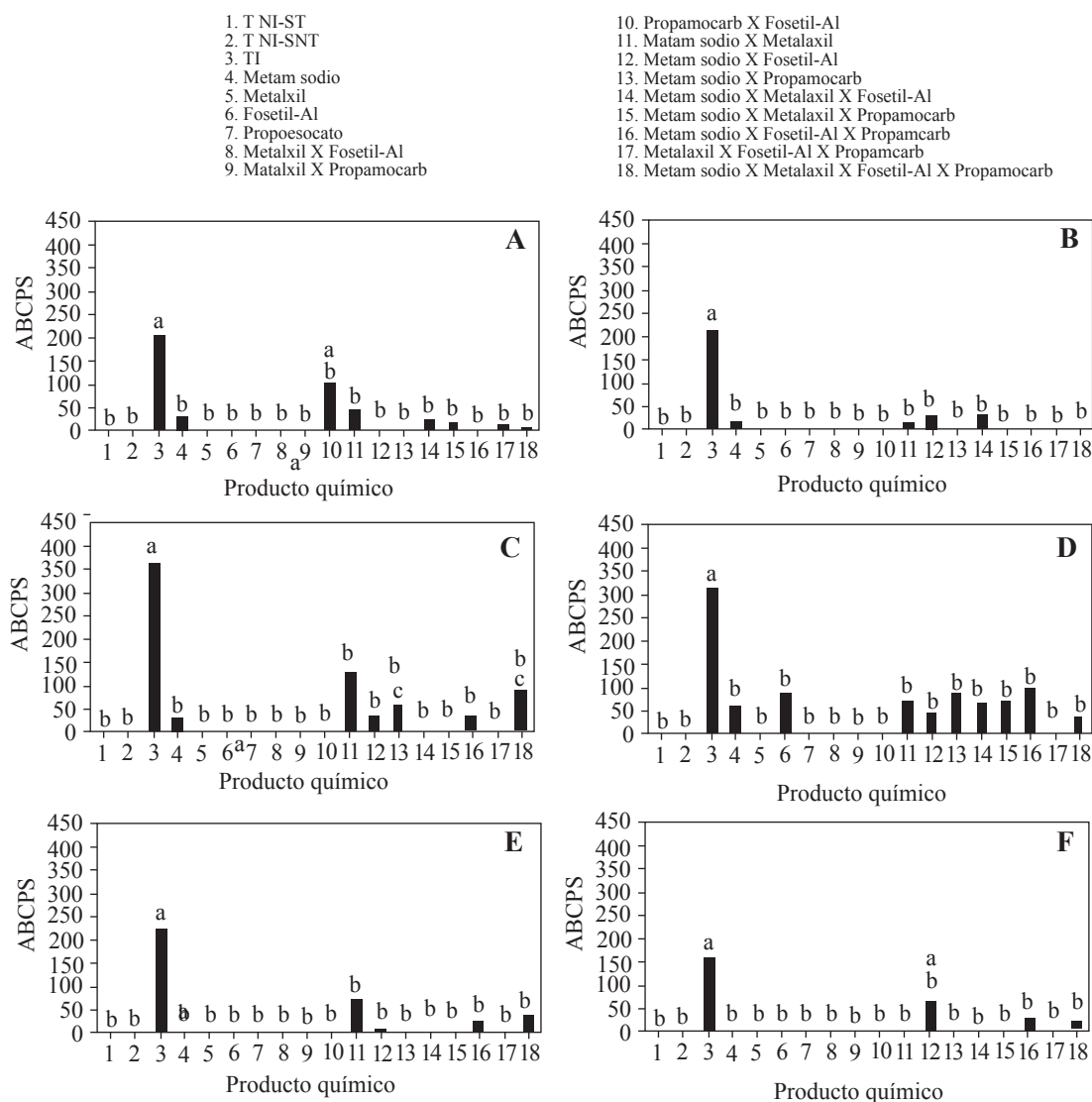


Figura 3. Área bajo la curva del progreso de la severidad de la marchitez del chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) de plantas cultivadas en suelos con y sin inoculación con *Phytophthora capsici* y tratados con metam sodio, metalaxil, propamocarb y fosetil aluminio solos o alternados. Experimento 1 (A) y 2 (B) en suelos de San Pedro Tlatemalco de la Vega de Meztlán, Hidalgo (VMH). Experimento 1(C) y 2(D) en suelo de Tres Cruces, VMH. Experimento 1 (E) y 2 (F) en suelo de la Paila. La cepa de *P. capsici* fue aislada de chile de árbol de la VMH. La inoculación se realizó con 10^5 zoosporas por planta. Promedios de 4 repeticiones. T NI-ST: Testigo no inoculado-suelo esterilizado; T NI-SNT: Testigo no inoculado-suelo no esterilizado; TI: Testigo inoculado, suelo esterilizado. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$).

Figure 3. Area under the curve of severity progress of the wilt of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) of plants cultivated in soils with and without inoculation with *Phytophthora capsici* and treated with metam sodium, metalaxyl, propamocarb and fosetyl aluminum alone or alternated. Experiment 1 (A) and 2(B) in soils from San Pedro Tlatemalco de la Vega de Meztlán, Hidalgo (VMH). Experiment 1(C) and 2 (D) in soil from Tres Cruces, VMH. Experiment 1 (E) and 2 (F) in soil from la Paila. The strain of *P. capsici* was isolated from the chili de árbol plant from VMH. The inoculation was done with 10^5 zoospores per plant. Averages of 4 repetitions. T NI-S: Non-inoculated control sterilized soil; T NI-SNT: Non-inoculated control solution- non-sterilized soil; ICS: Inoculated control, sterilized soil. Means with the same letter are statistically equal (Tukey $\alpha = 0.05$).

Las aplicaciones alternadas con tres o cuatro productos no tuvieron un control completo de la enfermedad en todos los casos, pero las áreas máximas calculadas no excedieron las 90 unidades.

Al comparar el efecto de suelo sobre el ABCPS puede observarse en la Figura 3 que en el suelo de Tres Cruces hubo más casos de síntomas de enfermedad que en los suelos de San Pedro Tlatemalco y La Paila, así como menor consistencia en la reproducibilidad de los resultados entre experimentos; sin embargo, aún en este escenario los tratamientos recurrentes de metalaxil o propamocarb, o la aplicación alternada de metalaxil con fosetil aluminio o con propamocarb y propamocarb con fosetil aluminio, tuvieron un control total de la enfermedad en ambos experimentos.

De acuerdo al análisis de varianza, en el experimento 1 con suelo de San Pedro Tlatemalco, sólo las aplicaciones de metam sodio alternado con metalaxil tuvieron efecto significativo ($P=0.037$) sobre el peso seco de la parte aérea (PSPA). En este experimento, cuando se aplicó metalaxil solo, el PSPA resultó ligeramente mayor (1.24 g/planta) que en las plantas no tratadas (1.05 g/planta); cuando se aplicó metam sodio solo o alternado con metalaxil el PSPA fue considerablemente menor (0.36 y 0.23 g/planta) que en los dos tratamientos anteriores. En el experimento 2, sólo las interacciones metam sodio X fosetil aluminio ($P=0.01$) y metalaxil X fosetil aluminio X propamocarb ($P=0.05$) resultaron significativas. Con la aplicación del fosetil aluminio solo, se obtuvo un PSPA mayor que el testigo inoculado y sin tratamiento químico (1.56 vs 0.98 g/planta); cuando se aplicó metam sodio solo o combinado con fosetil aluminio el PSPA se redujo a 0.26 y 0.32 g/planta respectivamente. Por otra parte, cuando se aplicó metalaxil alternado con fosetil aluminio y propamocarb se obtuvo casi el triple de PSPA (1.28 g/planta) que en el testigo inoculado (0.45 g/planta). Las aplicaciones de cualquiera

According to the analysis of variance, in experiment 1 with soil from San Pedro Tlatemalco, only the applications of metam sodium alternated with metalaxyl had a significant effect ($P=0.037$) over the dry weight of the aerial part (DWAP). In this experiment, when the metalaxyl was applied alone, the DWAP was slightly higher (1.24 g/plant) than in the non-treated plants (1.05 g/plant); when metam sodium was applied alone or alternated with metalaxyl the DWAP was considerably lower (0.36 and 0.23 g/plant) than in the two previous treatments. In experiment 2, only the metam sodium interactions X fosetyl aluminum ($P=0.01$) and metalaxyl X fosetyl aluminum X propamocarb ($P=0.05$) were significant. With the application of fosetyl-aluminum, a higher DWAP than that of the inoculated control and without chemical treatment (1.56 vs 0.98 g/plant) was obtained; when metam sodium alone or combined with fosetyl aluminum was applied, the DWAP was reduced to 0.26 and 0.32 g/plant, respectively. Conversely, when metalaxyl alternated with fosetyl-aluminum and propamocarb was applied, almost three times the value of DWAP (1.28 g/plant) compared to that of the inoculated control (0.45 g/plant) was obtained. The administration of any of the three products in an individual manner or in simple alternation, even though it incremented the DWAP in comparison to the control, produced inferior values to the treatment with the three alternated fungicides, but which were considerably higher than the inoculated control (0.64 to 1 g/plant). In Tres Cruces soil, the analysis of variance of the DWAP in experiment 1 reported significant interaction among the four chemical products ($P=0.012$), while in experiment 2 only the metam sodium X metalaxyl interaction was significant ($P=0.004$). In experiment 1, the DWAP of the cultivated plants in non-sterilized and non-inoculated plants (1.12 g/plant) was significantly lower than that of the non-inoculated plants that

de los tres productos en forma individual o en alternación simple, aunque incrementó el PSPA con respecto al testigo produjo valores inferiores al tratamiento con los tres fungicidas alternados pero considerablemente más altos que el testigo inoculado (0.64 a 1 g/planta).

En el suelo de Tres Cruces el análisis de varianza del PSPA en el experimento 1 reportó interacción significativa entre los cuatro productos químicos ($P=0.012$), mientras que en el experimento 2 sólo la interacción metam sodio X metalaxil fue significativa ($P = 0.004$). En el experimento 1, el PSPA de las plantas cultivadas en suelo no esterilizado y no inoculado (1.12 g/planta) fue significativamente menor que el de las no inoculadas y cultivadas en suelo esterilizado (1.93 g/planta) y su promedio y rangos de variación fueron similares a los observados con los tratamientos recurrentes de metalaxil, fosetil aluminio o propamocarb solos, o metalaxil alternado con fosetil aluminio o con propamocarb, o propamocarb alternado con fosetil aluminio (1.25, 1.63, 1.01, 0.9, 0.92 y 1.04 g/planta, respectivamente) ya que sus rangos de variación se traslaparon (datos no mostrados). Las plantas cultivadas en suelo no esterilizado pero sí inoculado con el pseudohongo tuvieron un PSPA considerablemente más bajo (0.26 g/planta) que en los testigos no inoculados y que los no esterilizados, inoculados y tratados con los químicos antes mencionados. Cuando se fumigó con metam sodio únicamente o cuando se alternó este producto con los demás químicos el PSPA fue aún más bajo (0.039 a 0.25 g/planta) que el observado en el testigo inoculado y sin tratamiento químico. En el tratamiento alternado con metalaxil, fosetil aluminio y propamocarb, se produjo más del doble de PSPA (0.73 g/planta) que en el testigo inoculado y que en los tratamientos donde estuvo involucrado el metam sodio. Similarmente, en el experimento 2, cuando se aplicó metam sodio solo ocurrió tam-

were cultivated in sterilized soil (1.93 g/plant) and their average and range of variation were similar to those observed with the recurring treatments of metalaxyl, fosetyl aluminum or propamocarb alone, or metalaxyl alternated with fosetyl aluminum or with propamocarb, or propamocarb alternated with fosetyl aluminum (1.25, 1.63, 1.01, 0.9, 0.92 and 1.04 g/plant, respectively) because their variation ranges overlapped (data not shown). The cultivated plants in non-sterilized but inoculated soil with the oomycete had a considerably lower DWAP (0.26 g/plant) than that in the non-inoculated and non-sterilized, inoculated control that were treated with the aforementioned chemicals. When fumigating with metam sodium alone or when alternating this product with the remaining chemicals, the DWAP was even lower (0.039 to 0.25 g/plant) than the one observed in the control without any chemical treatment. In the alternated treatment with metalaxyl, fosetyl- aluminum and propamocarb, twice the DWAP was produced (0.73 g/plant) than in the inoculated control and in the treatments where metam sodium was involved. Similarly, in experiment 2, when metam sodium was applied there was only one significant decrease in the DWAP (0.24 g/plant) compared to the inoculated control (0.72 g/plant); when applying metalaxyl alone, the average of this variable numerically exceeded that of the inoculated control (1.05 g/plant) and when both products were applied to the same plants the DWAP was 0.17 g/plant but was statistically equal to that observed for metam sodium alone.

In La Paila soil, VMH, no significant treatment effects were detected on the DWAP in the plants of experiment 1, but in experiment 2 a main significant effect of the recurring application of metalaxyl alone ($P= 0.0025$) was detected, or of the interaction metalaxyl X fosetyl aluminum ($P= 0.0011$). In this case, the plants treated with metalaxyl alone had a lower DWAP (0.5 g/plant)

bién una reducción significativa en el PSPA (0.24 g/planta) con respecto al testigo inoculado (0.72 g/planta); al aplicar el metalaxil solo, el promedio de esta variable superó numéricamente al testigo inoculado (1.05 g/planta) y cuando ambos productos se aplicaron a las mismas plantas el PSPA fue de 0.17 g/planta pero resultó estadísticamente igual al observado para el metam sodio solo.

En suelo de La Paila, VMH, no se detectaron efectos significativos de tratamientos sobre el PSPA en las plantas del experimento 1, pero en el experimento 2 se detectó efecto principal significativo de la aplicación recurrente de metalaxil solo ($P=0.0025$), o de la interacción metalaxil X fosetil aluminio ($P=0.0011$). En esta caso las plantas tratadas con metalaxil solo tuvieron menor PSPA (0.5 g/planta) que el testigo inoculado (1.45 g/planta) o que los tratamientos con fosetil aluminio solo (1 g/planta) o combinado con metalaxil (1.05 g/planta), pero los rangos de variación de los cuatro promedios tuvieron traslapes considerables (datos no mostrados).

Efectividad de productos biológicos disponibles en el mercado mexicano para el control de *P. capsici*. Los resultados del análisis de varianza de los dos experimentos indican que sólo los productos biológicos evaluados tuvieron diferencias significativas en el ABCPS ($P<0.0001$). La procedencia del suelo no tuvo significancia por sí sola o en interacción con los biológicos. En ambos experimentos las plantas inoculadas y sin aplicaciones de productos biológicos tuvieron valores de ABCPS más altos que el resto de los tratamientos y las plantas cultivadas en suelo no inoculado tuvieron un valor de cero (Figura 4 A y B). Con excepción del tratamiento Natu Control con Probac, en el experimento 2, la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) indica diferencias significativas entre los tratamientos biológicos y el testigo inoculado y sin medidas de control. Todas las plantas tratadas con algún producto biológico

than the inoculated control (1.45 g/plant) or than that of the fosetyl aluminum alone treatments (1g/plant) or combined with metalaxyl (1.05/plant), but the variation ranges of the four averages had considerable overlaps (data not shown).

Effectiveness of biological products available in the Mexican market for the control of *P. capsici*.

The results of the analysis of variance of the two experiments indicate that only the evaluated biological products had significant differences in the AUSPC ($P<0.0001$). The origin of the soil had no significance by itself or when interacting with the biological products. In both experiments the inoculated plants without any biological product application had higher AUSPC values than the rest of the treatments and the cultivated plants in non-inoculated soil had a value of zero (Figure 4 A and B). With the exception of Natu Control with Probac treatment, in experiment 2, the Tukey test ($\alpha=0.05$) indicates significant differences between the biological treatments and the inoculated control without any control measures. All plants treated with some biological product showed an average low AUSPC value, without statistical differences among them as well as in regard to the non-inoculated control. The lowest AUSPC value was observed in the combination of Fus out with Probac (22.5 units) in experiment 1 and Baktillis (12.9 units) in experiment 2. The rest of the treatments showed variations in the disease level but they did not exceed 80 units in either of the experiments, while the inoculated control reached around 200.

The results of the DWAP analysis of variance in experiments 1 and 2 indicated only significant differences in the effect of biological products ($P=0.0005$ and $P<0.0001$, respectively). In experiment 1, the plants cultivated in non-inoculated soil had the highest DWAP, while the plants inoculated with *P. capsici*, without control measure, had the lowest value (Figure 5 A). Among the biological products,

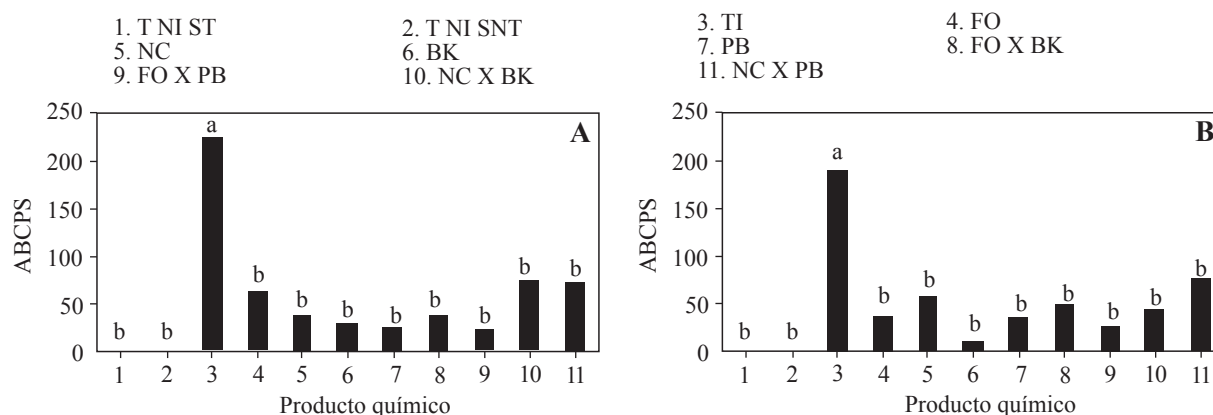


Figura 4. Área bajo la curva del progreso de la severidad de la marchitez de plantas de chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) cultivadas en suelos con y sin inoculación con *Phytophthora capsici* y tratados con FO=Fus out® (*Trichoderma harzianum*), NC=Natucontrol® (*Trichoderma harzianum*), BK=Baktillis® (*Bacillus subtilis*) o PB=Probac® (*Bacillus subtilis*) solos o combinados. Experimento 1 (A) y 2 (B). T NI-ST: Testigo no inoculado-suelo esterilizado; T NI-SNT: Testigo no inoculado-suelo no esterilizado; TI: Testigo inoculado, suelo esterilizado. La cepa de *P. capsici* fue aislada de chile de árbol de la VMH. La inoculación se realizó con 10^5 zoosporas por planta. Promedios de 12 repeticiones. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

Figure 4. Area under the curve of severity progress of the wilt of chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) of plants cultivated in soils with and without inoculation with *Phytophthora capsici* and treated with FO= Fus out® (*Trichoderma harzianum*), NC= Natucontrol® (*Trichoderma harzianum*), BK=Baktillis® (*Bacillus subtilis*) or PB=Probac® (*Bacillus subtilis*) alone or combined. Experiment 1 (A) and 2 (B). NICS-SS: Non-inoculated control sterilized soil; T NI-SNT: Non-inoculated control solution- non-sterilized soil; TI: Inoculated control solution, sterilized soil. The strain of *P. capsici* was isolated from chile de árbol plants from VMH. The inoculation was done with 10^5 zoospores per plant. Means with the same letter are statistically equal (Tukey $\alpha=0.05$).

mostraron en promedio un valor bajo en el ABCPS, sin diferencias estadísticas tanto entre ellas como con respecto a los testigos no inoculados. El valor más bajo de ABCPS se observó con la combinación de Fus out con Probac (22.5 unidades) en el experimento 1 y Baktillis (12.9 unidades) en el experimento 2. El resto de los tratamientos mostraron variaciones en el nivel de la enfermedad pero no excedieron las 80 unidades en ambos experimentos, mientras que el testigo inoculado alcanzó alrededor de 200.

Los resultados del análisis de varianza del PSPA en los experimentos 1 y 2 indicaron únicamente diferencias significativas en el efecto de los productos biológicos ($P=0.0005$ y $P<0.0001$, respectivamente). En el experimento 1, las plantas cultivadas en suelo sin inoculación tuvieron el mayor

the treatments with Fus out plus Baktillis and Natu Control plus Baktillis had statistically equal weights as the ones observed in the non-inoculated control in sterilized soil, but their differences were not significant with regard to the rest of the treatments. The non-inoculated control in non-sterilized soil had the same behavior. The rest of the treatments with any biological product had dry weights that were statistically equal between them and with regard to the inoculated control solution.

In experiment 2, the non-inoculated plants, cultivated in sterilized or non-sterilized soil, had the highest DWAP, while the ones inoculated with *P. capsici*, without any control measures, had the lowest value (Figure 5 B). All plants treated with any biological product, with the exception of the combination of Natucontrol plus Probac, even

PSPA, mientras que las plantas inoculadas con *P. capsici*, sin medidas de control, tuvieron el menor valor (Figura 5 A). Entre los productos biológicos, los tratamientos con Fus out más Baktillis y Natu Control más Baktillis tuvieron pesos estadísticamente iguales que los observados en el testigo no inoculado en suelo esterilizado, pero sus diferencias no resultaron significativas con respecto al resto de tratamientos. El testigo no inoculado en suelo no esterilizado tuvo el mismo comportamiento. El resto de tratamientos con algún producto biológico tuvo pesos secos estadísticamente iguales entre sí y con respecto al testigo inoculado.

En el experimento 2 las plantas no inoculadas, cultivadas en suelo esterilizado o no esterilizado, tuvieron el mayor PSPA, mientras que las inoculadas con *P. capsici*, sin medidas de control, tuvieron

though they had a lower DWAP, were statistically equal to the non-inoculated control (Tukey $\alpha = 0.05$). Conversely, the Fus out, Baktillis and the combination of both treatments had significantly higher averages than those of the inoculated control without control measures. Even though the treatments without biological products showed the aforementioned variations, the differences between their averages were not significant.

DISCUSSION

This document is the first report about the etiology of the chile de árbol wilt in VMH and the effect of different control measures in the soils of the region. The results obtained in this

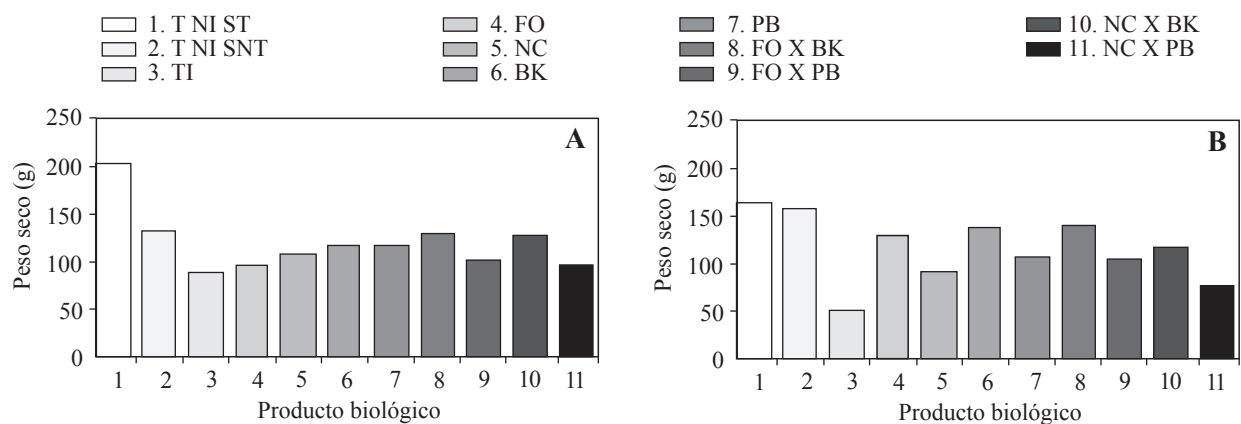


Figura 5. Efecto de productos biológicos sobre el peso seco de la parte aérea de plantas de chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) cultivadas en suelos con y sin inoculación con *Phytophthora capsici* y tratadas con FO=Fus out® (*Trichoderma harzianum*), NC=Natucontrol® (*Trichoderma harzianum*), BK=Baktillis® (*Bacillus subtilis*) o PB=Probac® (*Bacillus subtilis*) solos o combinados en el experimento 1 (A) y 2 (B). T NI-ST: Testigo no inoculado-suelo esterilizado; T NI-SNT: Testigo no inoculado-suelo no esterilizado; TI: Testigo inoculado. La cepa de *P. capsici* fue aislada de chile de árbol de la VMH. La inoculación se realizó con 10^5 zoosporas por planta. Promedios de 12 repeticiones. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $p=0.05$).

Figure 5. Effect of the biological products on the dry weight of the aerial part of the chile de árbol plant (*Capsicum annuum* L.) cultivated in soils with and without inoculation with *Phytophthora capsici* and treated with FO= Fus out® (*Trichoderma harzianum*), NC= Natucontrol® (*Trichoderma harzianum*), BK=Baktillis® (*Bacillus subtilis*) or PB=Probac® (*Bacillus subtilis*) alone or combined in experiment 1 (A) and 2 (B). T NI-ST: Non-inoculated control- sterilized soil; T NI-SNT: Non-inoculated control- non-sterilized soil; TI: Inoculated control. The strain of *P. capsici* was isolated from chile de árbol plants from VMH. The inoculation was done with 10^5 zoospores per plant. Means with the same letter are statistically equal (Tukey $\alpha = 0.05$).

el menor valor (Figura 5 B). Todas las plantas tratadas con algún producto biológico, con excepción de la combinación Natucontrol más Probac, aunque tuvieron un PSPA menor, fueron estadísticamente iguales que los testigos no inoculados (Tukey $\alpha=0.05$). Por otra parte los tratamientos Fus out, Baktillis y la combinación de ambos, tuvieron promedios significativamente más altos que el testigo inoculado y sin medidas de control. Aunque los tratamientos con productos biológicos mostraron las variaciones antes mencionadas, las diferencias entre sus promedios no resultaron significativas.

DISCUSION

El presente es el primer reporte sobre la etiología de la marchitez del chile de árbol en la VMH y el efecto de diferentes medidas de control en suelos de la región. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que *P. capsici* es el agente causal de la marchitez del chile en la VMH. Las pruebas de patogenicidad y la identificación morfológica y molecular confirmaron la identidad de este oomiceto. La marchitez causada por *P. capsici* puede ser manejada mediante la integración de varios métodos de control (Granke *et al.*, 2012). Como parte de ésta, las colectas CP 1264, CP 1261 y CP 1305, que mostraron la mayor resistencia a la enfermedad, pueden ser considerados buenos candidatos para ser incluidos en programas de mejoramiento genético o en la integración de un sistema de producción con medidas de control complementarias, como las evaluadas en la presente investigación. Los resultados de este trabajo muestran que el efecto de cada producto químico, aplicado solo o alternado varió entre suelos de la VMH, pero la enfermedad fue restringida a niveles mínimos e inclusive se logró control total de la marchitez con las aplicaciones individuales y recurrentes de metalaxil,

work show that *P. capsici* is the causative agent of chile wilt in VMH. The pathogenicity tests and the morphological and molecular identification confirmed the identity of this oomycete. The wilt caused by *P. capsici* may be handled through the integration of several control methods (Granke *et al.*, 2012). As a part of this, the CP 1264, CP 1261 and CP 1305 collections that showed the most resistance to the disease, can be considered good candidates to be included in genetic improvement programs or in the integration of a production system with complementary control measures, such as the ones evaluated in this research.

The results of this work show the effect of each chemical product, applied alone or alternated to VMH soils, but the disease was restricted to minimum levels and even total wilt control was also achieved with the individual and recurring applications of metalaxyl, fosetyl aluminum or propamocarb and the alternation of metalaxyl with fosetyl aluminum and metalaxyl with propamocarb. It has been reported that metalaxyl decreases the disease 83.3% (Fernández-Herrera *et al.*, 2007), but in this research a reduction of 100% was obtained. Fosetyl aluminum controlled the disease 66.7% in one of our experiments, but in the rest of them it achieved a total control; meanwhile, propamocarb reduced the disease 100% in all cases. An 83.3% control of the disease with fosetyl aluminum has been reported in tomato plants (Fernández-Herrera *et al.*, 2007) and of 60 to 100% with propamocarb in other cultivars (Hu *et al.*, 2007). Factors such as the quantity of soil used in our experiments, variations in the genotypes of the pathogen and plant involved, and levels of inoculation, could explain the differences with respect to the aforementioned works. Conversely, the accumulation of dry matter in the aerial part, a preliminary indicator of the production potential of fruits by the plants (González-Real, 2008;

fosetil aluminio o propamocarb y la alternancia de metalaxil con fosetil aluminio y metalaxil con propamocarb. Se ha reportado que el metalaxil disminuye la enfermedad en 83.3 % (Fernández-Herrera *et al.*, 2007), pero en la presente investigación se obtuvo una reducción del 100 %. El fosetil aluminio controló la enfermedad en 66.7 % en uno de nuestros experimentos, pero en el resto tuvo un control total, mientras que el propamocarb redujo la enfermedad en 100% en todos los casos. En jitomate se ha reportado un control de la enfermedad de 83.3 % con fosetil aluminio (Fernández-Herrera *et al.*, 2007) y de 60 a 100 % con propamocarb en otros cultivos (Hu *et al.*, 2007). Factores como la cantidad de suelo utilizada en nuestros experimentos, variaciones en los genotipos de patógeno y planta involucrados, y niveles de inóculo, podrían explicar las diferencias con respecto a los trabajos antes mencionados. Por otra parte, la acumulación de materia seca en la parte aérea, un indicador preliminar del potencial de producción de frutos por las plantas (González-Real, 2008; García-Rodríguez, 2010), tendió a ser mayor en las plantas inoculadas y tratadas con estos productos que en los testigos. Tales resultados podrían ser considerados una primera evidencia de que aún existen bajos o nulos niveles de resistencia a los productos químicos disponibles en el mercado mexicano para el control de *P. capsici* en chile de árbol en la VMH, ya que la aplicación recurrente funcionó mejor que la aplicación alternada, dentro del mismo ciclo; también son un indicador de la posibilidad de incrementar o preservar el potencial de producción del cultivo en la región si son utilizados adecuadamente.

A diferencia de los productos antes mencionados, bajo nuestras condiciones experimentales el metam sodio, aunque evitó la ocurrencia de enfermedad en la mayoría de los casos, causó un efecto negativo en la acumulación de materia seca en la parte aérea. Este efecto pudo ser causado por el

García-Rodríguez, 2010), tended to be higher in the inoculated plants that were treated with these products than in the control witness. Such results could be considered first evidence that there are still low or null levels of resistance to the chemical products available in the Mexican market for the control of *P. capsici* in chile de árbol in VHM, because the recurring application worked better than the alternated application, within the same cycle. They are also an indicator to the possibility to increase or preserve the production potential of the cultivation in the region if used correctly.

Unlike the aforementioned products, under our experimental conditions, metam sodium, even though it prevented the disease in the majority of the cases, caused a negative effect in the accumulation of dry matter in the aerial part. This effect could have been caused by the impact of the agrochemical in the soil biota (Cao, 2004) and by phytotoxicity, because some plants transplanted in treated soil showed slight chlorosis, terminal necrosis in the leaves and in some cases necrosis in the stem that wasn't associated with the infection caused by *P. capsici*. Improvements in the management of the product, such as preliminary watering or a longer period of aeration could improve its effectiveness.

The four commercial biological products evaluated did not present total control of the wilt, however, there were important effects in the decrease of the disease with the treatments of Fus out, Natucontrol, Baktillis and Probac alone or combined. The treatments with Baktillis or Fus out with Probac stand out as the ones with low AUSPC values and increased the accumulation of dry matter compared to the inoculated control. The difficulty of introduced microorganisms to be established in the rhizosphere of the crops, is generally associated with high competitiveness and prior adaptation of the native microflora (Van Veen *et al.*, 1997; Agrios, 2005), which could have been

impacto del agroquímico en la biota del suelo (Cao, 2004) y por fitotoxicidad, ya que algunas plantas trasplantadas en suelo tratado mostraron clorosis ligera, necrosis terminal en las hojas y en algunos casos necrosis a nivel del tallo no asociada a la infección por *P. capsici*. Mejoras en el manejo del producto, tales como un riego preliminar o mayor tiempo de aireación podrían mejorar su eficacia.

Los cuatro productos biológicos comerciales evaluados no tuvieron control total de la marchitez pero sí hubo efectos importantes en la reducción de la enfermedad con los tratamientos de Fus out, Natucontrol, Baktillis y Probac solos o en combinación. Resaltan los tratamientos con Baktillis o Fus out con Probac que tuvieron bajos valores de AB-CPS e incrementaron la acumulación de materia seca con respecto al testigo inoculado. La dificultad de microorganismos introducidos para establecerse en la rizósfera de los cultivos, está generalmente asociada a la alta competitividad y adaptación previa de la microflora nativa (Van Veen *et al.*, 1997; Agrios, 2005), lo cual pudo ser un factor determinante de la efectividad limitada de los productos comerciales evaluados, en adición a la posible insuficiente efectividad de las cepas de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp en el control del patógeno (Schippers *et al.*, 1987; Bais *et al.*, 2004; Fernández-Herrera *et al.*, 2007) que contienen estos productos. Sin embargo, cepas de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* pueden favorecer el crecimiento de las plantas cuya rizósfera colonizan (Benhamou *et al.*, 1998; Kloepper *et al.*, 2004; Ezziyyani *et al.*, 2005), por lo que en adición a su capacidad para reducir los niveles de enfermedad, pueden potencialmente contribuir a mejorar el rendimiento del cultivo.

En el presente trabajo fueron muy evidentes los contrastes en la severidad y producción de biomasa en plantas cultivadas en turba-agrolita, con respecto a las cultivadas en suelo, lo cual

a determining factor of the limited effectiveness of the strains of *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp in the control of the pathogen (Schippers *et al.*, 1987; Bais *et al.*, 2004; Fernández-Herrera *et al.*, 2007) that contain these products. However, the strains of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* could improve the growth of the plants whose rhizosphere they colonize (Benhamou *et al.*, 1998; Kloepper *et al.*, 2004; Ezziyyani *et al.*, 2005). Therefore, in addition to their ability to reduce the levels of the disease, they could potentially contribute to the yield improvement of the crop.

The contrasts of the severity and production of biomass in plants cultivated in peat-agrolite were very evident in this work, especially in regards to the ones cultivated in the soil, which was clearly associated with the differences in the nutritional balance achieved in each substrate; however, it is possible that the native biota of the soils used in our study had a relevant part, given the absence of disease in non-inoculated soils and the evident decrease of AUSPC when the plants were cultivated in soil. Early reports have highlighted the importance of this nutritional balance (Duffy *et al.*, 1997) and the importance of the organisms in the soil in the suppression of both oomycetes and other pathogens (Wardle, 2002; Yumusa and Newton, 2003). They are, therefore, factors worth considering in the process of integration of an integrated management system of the disease for the conditions of Vega de Metztlán, Hidalgo.

The results of this research indicated that cultivars CP 1261, CP 1264 and CP 1305 were the most resistant to the pathogen and that the treatments with metalaxyl, fosetyl aluminum or propamocarb, metalaxyl alternated with fosetyl aluminum or with propamocarb completely controlled the wilt, whereas the treatments with Baktillis (*Bacillus subtilis*) alone or combined with Fus Out (*Trichoderma harzianum*) or Probac (*B.*

estuvo evidentemente asociado con diferencias en el balance nutricional obtenible en cada sustrato, pero posiblemente la biota nativa de los suelos utilizados en nuestro estudio jugó un papel relevante, dada la ausencia de la enfermedad en suelos no inoculados y la reducción notable del ABCPS cuando las plantas fueron cultivadas en suelo. Reportes previos han resaltado la importancia de este balance nutricional (Duffy *et al.*, 1997) y la importancia de los organismos del suelo en la supresión tanto de oomicetos como de otros patógenos (Wardle, 2002; Yunusa y Newton, 2003), por lo que son factores a considerar en el proceso de definición de un sistema de manejo integrado de la enfermedad para las condiciones de la Vega de Metztlán, Hidalgo.

Los resultados de la presente investigación indicaron que los cultivares CP 1261, CP 1264 y CP 1305 fueron los más resistentes al patógeno y que los tratamientos con metalaxil, fosetil aluminio o propamocarb, metalaxil alternado con fosetil aluminio o con propamocarb controlaron totalmente la marchitez, mientras que los tratamientos con Baktillis (*Bacillus subtilis*) solo o en combinación con Fus Out (*Trichoderma harzianum*) o Probac (*B. subtilis*) únicamente redujeron la severidad de la enfermedad.

LITERATURA CITADA

Agrios GN. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press. New York, USA. 922p.

Akgül DS and Mirik, M. 2008. Biocontrol of *Phytophthora capsici* pepper plants by *Bacillus megaterium* strains. Plant Pathology 90:29-34.

Andrés A, JL., Rivera MA and Fernández PJ. 2005. Resistance of pepper germplasm to *Phytophthora capsici* isolates collected in northwest Spain. Spanish Journal of Agricultural Research. 3:429-436.

Bais HP, Fall R and Vivanco JM. 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. Plant Physiology 134: 307-319.

Barnett HL and Hunter BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4a. ed. American Phytopathology Society, MN. 217 p.

subtilis) only reduced the severity of the disease.

~~~~~ Finaliza la versión en Inglés ~~~~~

Benhamou N, Kloepper JW and Tuzum, S. 1998. Induction of resistance against *Fusarium* wilt of tomato by combination of chitosan with an endophytic bacterial strain: ultrastructure and cytochemistry of the host response. Planta 204:153-168.

Booth C. 1977. *Fusarium*. Laboratory guide to the identification of the major species. Commonwealth Mycological Institute. Surrey, England. 58 p.

Campbell CL and Madden LV. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley and Sons, New York. 532 p.

Cao ZP, Yu YL, Chen GK and Dawson R. 2004. Impact of soil fumigation practices on soil nematodes and microbial biomass. Pedosphere 14:387-393.

Duffy BK, Ownley BH and Weller DM. 1997. Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*. Phytopathology 87:1118-1124.

Erwin DC and Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathology Society, MN. 562 p.

Ezziyyani M, Requena MA y Candela MA. 2005. Producción de proteínas-PR en la inducción de resistencia a *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento. Anales de Biología. 27:143-154.

Fernández-Herrera E, Acosta-Ramos M, Ponce-González F y Manuel-Pinto V. 2007. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 25:35-42.

Gallegly ME and Hong M. 2008. *Phytophthora* identifying species by morphology and DNA fingerprints. American Phytopathology Society, MN. 158 p.

García-Rodríguez MR, Chiquito-Almanza E, Loeza-Lara D, Godoy-Hernández H., Villordo PE, Pons-Hernández JL, González-Chavira MM y Anaya-López L. 2010. Producción de chile ancho injertado sobre criollo de Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*. Agrociencia. 44: 701-709.

González-Pérez E, Yañez-Morales MJ, Santiago-Santiago V y Montero-Pineda A. 2004. Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José Manzo, el Verde, Puebla. Agrociencia 38:653-661.

González-Real MM, Baille A and Liu HQ. 2008. Influence of fruit load on dry matter and N-distribution in sweet pepper plants. Scientia Horticulturae 117: 307-315.

Granke LL, Quesada-Ocampo L, Lamour K and Hausbeck MK. 2012. Advances in research on *Phytophthora capsici*

- on vegetable crops in the United States. *Plant Disease* 96:1588-1600.
- Gumpertz ML, Graham JM and Ristaino JB. 1997. Autologistic model of spatial pattern of *Phytophthora* epidemics in bell pepper: Effects of soil variables on disease presence. *Journal of agricultural, biological and environmental statistics*. 2:131-156.
- Hu J, Hong C, Stromberg EL and Moorman GW. 2007. Effects of propamocarb hydrochloride on mycelial growth, sporulation, and infection by *Phytophthora nicotianae* isolates from Virginia nurseries. *Plant Disease* 91:414-420.
- Kloepper JW, Ryu CM and Zhang S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94:1259-1266.
- Larkin RP, Gumpertz ML and Ristaino, J. B. 1995. Geostatistical analysis of *Phytophthora* epidemics in commercial bell pepper fields. *Phytopathology* 84:191-203.
- Mathre DF, Cook RJ and Callan NW. 1999. From discovery to use. Traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. *Plant Disease* 83:972-983.
- Morán-Bañuelos SH, Aguilar-Rincón VH, Corona-Torres T y Zavaleta-Mejía, E. 2010. Resistencia a *Phytophthora capsici* LEO. de chiles nativos del sur de Puebla, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33: 21-26.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2014. Genbank. En: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. (Consulta marzo 2015).
- Pineda J, Hernández A, González A, Barrientos V, Nass H, Gil E. 2005. Técnica de inoculación rápida y eficiente para la evaluación de materiales de maíz ante *Rhizoctonia solani* Kühn. *Bioagro* 17:93-98.
- Raupach GS and Kloepper JW. 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88:1158-1164.
- Ristaino BG and Johnston SA. 1999. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease*. 83:1080-1089.
- Sambrook J and Russell DW. 2001. Molecular cloning. A Laboratory Manual. 3era. ed. 1:1.32-1.34. Cold Spring Harbour Lab. Press, New York.
- Sanogo S. 2003. Chile pepper and the threat of wilt diseases. Online. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2003-0430-01-RV.
- Sanogo S. 2006. Predispositional effect of soil water saturation on infection of chile pepper by *Phytophthora capsici*. *HortScience* 41:172-175.
- Schippers B, Baker AW and Bakker PAHM. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review Phytopathology* 25: 339-358.
- Silva-Rojas HV, Fernández-Pavía SP, Góngora-Canul C, Macías-López BC y Ávila-Quezada, G.D. 2009. Distribución espacio temporal de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) en Chihuahua e identificación del agente causal *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:134-147.
- Singh A, Rohilla R, Singh US, Savary S, Willocquet L and Duveiller E. 2002. An improved inoculation technique for sheath bight of rice caused by *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 24:65-68.
- Sneh B, Burpee L and Ogoshi A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. American Phytopathology Society, MN. 133 p.
- Soria FMJ. 1993. Producción de hortalizas en la Península de Yucatán. ITA. Centro de investigaciones y Graduados Agropecuarios. Conkal, Yucatán. 303 p.
- Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA. 1997. Principles and procedures of statistics a biometric approach. 3rd ed. McGraw-Hill Series in probability and statistics. 666 p.
- Van Veen JA, Van Overbeek LS and Van Elsas JD. 1997. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiology Molecular Biology Reviews* 61:121-135.
- Velásquez VR, Medina AMM y Luna RJJ. 2001. Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annuum* L.) en el Norte-Centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 175-181.
- Villar-Luna E, Reyes-Trejo B, Rojas-Martínez RI, Gómez-Rodríguez O, Hernández-Anguiano AM y Zavaleta-Mejía E. 2009. Hypersensitive response in foliage of chili pepper CM-334 resistant to *Phytophthora capsici* infected by *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 39:143-155.
- Wardle DA. 2002. Communities and ecosystems: Linking the aboveground and belowground components. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA. 408 p.
- White TJ, Bruns T, Lee S and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp: 315-322 In: Innis MA, Gelfand DF, Shinsky JJ, White TJ. (ed). PCR Protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego.
- Yunusa IAM and Newton PJ. 2003. Plants for amelioration of subsoil constraints and hydrological control: The primer-plant concept. *Plant Soil* 257:261-281.