



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

## **CAMPUS TABASCO**

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

### **IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA MARCHITEZ DEL CHILE HABANERO, EN LA REGIÓN GRIJALVA, TABASCO**

**KARINA MOCTEZUMA BAUTISTA**

#### **TESIS**

PRESENTACIÓN COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2019



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas  
Campeche-Córdoba-Montecillo-Puebla-San Luis Potosí-Tabasco-Veracruz

## CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Karina Moctezuma Bautista**, alumna de esta institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo dirección del profesor **Dr. Carlos Fredy Ortiz García**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Identificación del agente causal de la marchitez del chile habanero, en la región Grijalva, Tabasco** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y los secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la institución, el Consejero o director de tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta institución.

H. Cárdenas, Tabasco, a 28 de junio de 2019.

Karina Moctezuma Bautista

Firma

Dr. Carlos Fredy Ortiz García

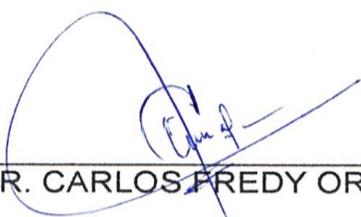
Vo. Bo. Profesor Consejero

La presente tesis, titulada: **Identificación del agente causal de la marchitez del chile habanero, en la región Grijalva, Tabasco**, realizada por la alumna: **Karina Moctezuma Bautista**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:   
DR. CARLOS FREDY ORTIZ GARCÍA

CODIRECTORA:   
DRA. SYLVIA PATRICIA FERNÁNDEZ  
PAVÍA

ASESOR:   
DR. DAVID JESÚS PALMA LÓPEZ

ASESORA:   
DRA. NADIA LANDERO VALENZUELA

H. Cárdenas, Tabasco, México, 28 de junio de 2019

# IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA MARCHITEZ DEL CHILE HABANERO, EN LA REGIÓN GRIJALVA, TABASCO

Karina Moctezuma Bautista, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2019

## Resumen

La marchitez del chile es una enfermedad de gran importancia en México, que afecta a diferentes tipos de chiles en varios estados. El objetivo de este estudio fue identificar el agente causal de la marchitez del chile habanero y conocer el manejo del cultivo en la región de Grijalva, Tabasco. El manejo del chile habanero se determinó mediante una encuesta. El agente causal se determinó mediante la prueba de patogenicidad en plántulas de chile habanero inoculadas en la base del tallo, con discos de medio con micelio activo de los patógenos aislados. Se propusieron trece tratamientos, los cuales fueron inoculados solos y combinados. Se cuantificó la incidencia (%) y la longitud de necrosis en el tallo (cm). Se determinó el agente causal y con base a los resultados se identificó mediante las características morfológicas y con la amplificación del ADNmt mediante PCR. Las prácticas de manejo del chile habanero en la región de Grijalva son variables. Se obtuvieron cinco aislamientos del género *Fusarium* y uno de *Phytophthora*, de los cuales solo *Phytophthora* reprodujo los síntomas de marchitez del chile. La incidencia del 100% se logró a los 10 días después de la inoculación (ddi) con *Phytophthora*, mientras que, las especies de *Fusarium* no demostraron ser patogénicas del chile. Las incidencias de los tratamientos que fueron inoculados con ambos patógenos fueron menores al 80%. La longitud de la necrosis para algunos tratamientos fue mayor cuando se combinaron ambos patógenos. La identificación morfológica de *Phytophthora* se realizó comparando las características sexuales, asexuales y sus dimensiones con las claves de Erwin y Ribeiro para la especie *Phytophthora*. Esto se confirmó mediante amplificación por PCR utilizando los oligonucleótidos del gen COI del ADNmt. Las características morfológicas y el uso de COI confirmaron que *P. capsici* es el agente causal de la marchitez del chile habanero y que este patógeno solo se encuentra en Acachapan y Colmena, Centro, Tabasco.

**Palabras clave:** Manejo, patógeno, enfermedad, incidencia, PCR, COI.

IDENTIFICATION OF THE CAUSAL AGENT OF WILT IN PEPPER HABANERO, IN  
THE REGION GRIJALVA, TABASCO

Karina Moctezuma Bautista, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2019

**Abstract**

The wilt of pepper is a disease of great importance in Mexico, which affects different types of peppers in several states. The objective of this study was to identify the causal agent of habanero pepper wilt and to know the management of the crop in the Grijalva, Tabasco region. The management of habanero pepper was determined by conducting a survey. The causal agent was determined by the pathogenicity test in habanero pepper seedlings inoculated at the base of the stem, with disks of medium with active mycelium of the isolated pathogens. Thirteen treatments were proposed, which were inoculated alone and combined. The incidence (%) and length of necrosis in the stem (cm) were quantified. The causal agent was determined based on the results, it was identified by the morphological characteristics and the amplification of mtDNA by means PCR. The management practices of habanero pepper in the Grijalva region are variable. Five isolates of genero *Fusarium* and one of *Phytophthora* were obtained, of which only phytophthora reproduced the wilt symptoms of pepper. The incidence of 100% was achieved 10 days after inoculation (ddi) with *Phytophthora* while, the *Fusarium* species did not show to be pathogenic on pepper. The incidences on the treatments in which both were inoculated were less than 80%. The length of necrosis for some treatments was greater when both pathogens were combined. The morphological identification of *Phytophthora* was carried out comparing the sexual, asexual characteristics and their dimensions with the keys of Erwin and Ribero for the *Phytophthora* species. This was confirmed by amplification by PCR using the oligonucleotides of the COI gene of the mtDNA. The morphological characteristics and the use of COI confirmed that *P. capsici* is the causal agent of habanero pepper wilt and that this pathogen is only found in Aachapan and Colmena, Centro, Tabasco.

**Key words:** Management, pathogen, disease, incidence, PCR, COI.

## **DEDICATORIAS**

**A mis padres** Fausta y Sergio por la confianza, el amor, el cariño, el apoyo y los consejos. Por enseñarme que no hay imposibles, que cada sacrificio vale la pena, porque al final de todo tendremos nuestra recompensa y que en esta vida todo es posible cuando se quiere.

**A mis hermanos** Sandra, Sergio y Juan Enrique, por su apoyo, confianza, consejos y por cada momento de felicidad que hemos podido vivir juntos.

**A mis Sobrinos** Adair y Fernando por su cariño y amor, porque son quienes me inspiran a ser mejor persona y dar lo mejor de mí.

**A mi familia** Sandra, Ma. Eugenia, Luis, Yazmín, Marisol, Judith, Emily, Alejandra por sus palabras de aliento, apoyo y consejos.

**A mi compañero de vida** Luis Alberto por el apoyo en todo momento, paciencia, confianza, amor, cariño, consejos, comprensión y por las palabras de aliento para poder culminar esta etapa. Por todos los momentos de felicidad que juntos hemos compartido durante estos años aún a través de las dificultades. **Te amo.**

## **AGRADECIMIENTOS**

A **DIOS** por haberme dado la oportunidad de existir para poder culminar la meta y por superar cada una de las pruebas que me fueron puestas.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el financiamiento económico, para cursar la Maestría en Ciencias, que tanto me ha servido en mi formación profesional y personal.

Al **Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco** por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría en Ciencias.

Al **Dr. Carlos Fredy Ortiz García** por brindarme sus conocimientos, tiempo y apoyo para el desarrollo de la investigación de tesis de la Maestría en Ciencias.

A la **Dra. Sylvia Patricia Fernández Pavía** por brindarme sus conocimientos, tiempo, apoyo, por la oportunidad de trabajar en el Laboratorio de patología Vegetal y por guiarme hacia un fortalecimiento de mi formación profesional.

Al **Dr. David Jesús Palma López** por su apoyo, conocimientos y asesoría para la realización de la tesis de Maestría en Ciencias.

A la **Dra. Nadia Landero Valenzuela** por sus palabras de aliento, apoyo, en la revisión de la tesis de Maestría en Ciencias.

A la **M.C. Marlene Díaz Celaya**, al **Dr. Ricardo Santillán Mendoza**, al **Dr. Gerardo Rodríguez Alvarado** y a los compañeros del **Laboratorio de Patología Vegetal del IIAF (Nuria, Alfredo, Cristina, Dany, Viridiana, Allison)** por la estancia, los conocimientos y el apoyo en la identificación molecular.

Al **Dr. Rutilo López López†** por la información sobre los extensionistas de chile habanero y al **M.C. Felipe Mirafuentes Hernández** por las semillas de chile habanero.

A los **productores de chile habanero, Efrén Mendoza Martínez, Ing. José del Carmen Cámara Reyna** y a los ingenieros **Antonio Cruz Estrada, Manuel Sánchez**

**Jiménez y Antonio Jesús Bautista Pérez**, por sus conocimientos y apoyo en cada una de las visitas.

Al **personal académico** del CP-Campus Tabasco por los conocimientos y el apoyo para mi formación profesional.

Al **personal de servicios escolares** del CP-Campus Tabasco (**Elsy, Deyanira, Vero, Celia**) por la atención y el apoyo en los trámites durante mi estancia en la maestría.

A mis **compañeros y amigos** durante mi estancia en el CP-Campus Tabasco: **Irma Elisa, Gustavo**, Yesenia, Génesis, José Guadalupe, José Alberto, Luis Javier, Christian Orlando, Claudia, **Dario, Bismarck, Isabel, Dr. Eder** por su **amistad**, apoyo y momentos de convivencia durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.

## CONTENIDO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....  | <b>1</b>  |
| 1.1 Objetivos .....   | 3         |
| 1.1.1 Objetivo general.....   | 3         |
| 1.1.2 Objetivos específicos .....   | 3         |
| <b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....                                       | <b>4</b>  |
| 2.1. Generalidades del chile.....   | 4         |
| 2.1.1. Chile habanero y la producción en México .....                         | 4         |
| 2.2. Manejo agrícola del chile .....  | 5         |
| 2.2.1. Requerimientos edafo-climáticos.....                                   | 5         |
| 2.2.2. Preparación del terreno y densidad de siembra .....                    | 6         |
| 2.2.3. Trasplante y fecha de establecimiento .....                            | 7         |
| 2.2.4. Fertilización y drenaje del suelo.....                                 | 7         |
| 2.2.5. Malezas y control.....   | 7         |
| 2.2.6. Plagas y control .....   | 8         |
| 2.2.7. Enfermedades y control.....  | 9         |
| 2.3. Marchitez del chile en México .....                                      | 11        |
| 2.4. Importancia de <i>Phytophthora</i> y <i>Phytophthora capsici</i> .....   | 13        |
| 2.4.1 Clasificación taxonómica de <i>Phytophthora</i> .....                   | 14        |
| 2.4.2. Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> .....                             | 15        |
| 2.5. Características asexuales y sexuales de <i>Phytophthora</i> .....        | 17        |
| 2.5.1. Micelio y tipos de colonias .....                                      | 17        |
| 2.5.2. Esporangios.....   | 17        |
| 2.5.3. Zoosporas.....   | 18        |
| 2.4.4. Clamidosporas.....   | 19        |
| 2.5.5. Oospora.....   | 19        |
| 2.6. Identificación molecular de <i>Phytophthora</i> .....                    | 19        |
| 2.6.1. Importancia del análisis molecular de <i>Phytophthora</i> .....        | 19        |
| 2.6.2. Uso de COI en la identificación molecular de <i>Phytophthora</i> ..... | 20        |
| <b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....  | <b>22</b> |
| 3.1. Área de estudio.....   | 22        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.1.1. Toma de temperatura, humedad y muestras de suelo .....                            | 24        |
| 3.1.2. Análisis de muestras de suelo .....   | 24        |
| 3.2. Manejo del cultivo de chile habanero .....  | 25        |
| 3.2.1. Encuesta: diseño y aplicación del cuestionario.....                               | 25        |
| 3.2.2. Manejo agrícola típico del cultivo de chile habanero en la región Grijalva....    | 25        |
| 3.3. Aislamiento y prueba de patogenicidad .....   | 25        |
| 3.3.1. Visita de la plantación y toma de muestras de plantas de chile marchitas ...      | 25        |
| 3.3.2 Aislamiento del patógeno .....   | 25        |
| 3.3.3. Crecimiento de las plántulas de chile habanero para prueba de patogenicidad ..... | 26        |
| 3.3.4. Tratamientos y diseño experimental para prueba de patogenicidad.....              | 26        |
| 3.3.5. Diseño de cámara húmeda y trasplante .....  | 28        |
| 3.3.6. Preparación de inóculo y método de inoculación en plantas .....                   | 28        |
| 3.3.7. Re aislamiento de las plantas inoculadas .....                                    | 29        |
| 3.3.8. Variables cuantificadas .....   | 29        |
| 3.4. Caracterización morfológica de la cepa patógena de chile .....                      | 30        |
| 3.4.1. Tipo de micelio y dimensiones.....  | 30        |
| 3.4.2. Esporangios dimensiones.....  | 30        |
| 3.4.3. Tipo de compatibilidad sexual.....  | 30        |
| 3.5. Caracterización molecular de la cepa patógena de <i>Phytophthora</i> .....          | 31        |
| 3.5.1. Extracción de ADN .....   | 31        |
| 3.5.2 Amplificación de ADN .....   | 32        |
| 3.5.3. Electroforesis en gel .....   | 32        |
| 3.5.4. Purificación de los fragmentos de ADN amplificados .....                          | 32        |
| 3.5.5. Secuenciación y alineación de secuencias.....                                     | 33        |
| 3.5.6. Construcción de árbol filogenético.....   | 33        |
| <b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>  | <b>34</b> |
| 4.1. Área de estudio.....  | 34        |
| 4.1.1. Temperatura y humedad relativa .....  | 34        |
| 4.1.2. Características físico-químicas de los suelos .....                               | 35        |
| 4.2. Manejo agrícola del chile habanero en la subregión Chontalpa-Centro.....            | 38        |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.2.1. Superficie cultivada y relieve .....                                   | 38        |
| 4.2.2. Preparación del terreno .....  | 38        |
| 4.2.3. Tipo, fechas de siembra y variedad .....                               | 39        |
| 4.2.4. Densidad y arreglo topográfico .....                                   | 39        |
| 4.2.5. Riego y tipo de drenaje .....  | 40        |
| 4.2.6. Cultivos anteriores y problemas.....                                   | 41        |
| 4.2.7. Cultivos asociados y circundantes .....                                | 43        |
| 4.2.8. Poda .....   | 43        |
| 4.2.9. Fertilización y control de malezas.....                                | 44        |
| 4.2.10. Plagas y enfermedades .....   | 45        |
| 4.2.11. Experiencia y asistencia técnica .....                                | 49        |
| 4.2.12. Manejo agrícola típico del chile habanero en la región Grijalva ..... | 49        |
| 4.3. Aislamiento y pruebas de patogenicidad.....                              | 51        |
| 4.3.1. Visitas a las plantaciones y descripción de síntomas .....             | 51        |
| 4.3.2. Patógenos aislados .....   | 53        |
| 4.3.3. Prueba de patogenicidad .....  | 54        |
| 4.3.4. Incidencia.....  | 56        |
| 4.3.5. Longitud de necrosis en tallo .....                                    | 57        |
| 4.4. Caracterización morfológica de <i>Phytophthora</i> .....                 | 59        |
| 4.4.1. Tipo micelio y dimensiones.....  | 59        |
| 4.4.2. Tipos de esporangios y dimensiones.....                                | 59        |
| 4.4.3. Tipo de compatibilidad y dimensiones de la estructura sexual .....     | 60        |
| 4.5. Caracterización molecular de <i>Phytophthora</i> .....                   | 61        |
| 4.5.1. Electroforesis en geles de agarosa.....                                | 61        |
| 4.5.2. Análisis filogenético .....  | 62        |
| <b>V. CONCLUSIONES .....</b>  | <b>64</b> |
| <b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>   | <b>65</b> |
| <b>VII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>  | <b>66</b> |
| <b>VIII. ANEXOS.....</b>  | <b>78</b> |

## ÍNDICE DE CUADROS

|   |    |
|---|----|
| <b>Cuadro 1.</b> Ubicación geográfica y política de los sitios de muestreos.....  | 24 |
| <b>Cuadro 2.</b> Lista de aislamientos de chile habanero y origen geográfico.....   | 27 |
| <b>Cuadro 3.</b> Descripción de los tratamientos.....   | 27 |
| <b>Cuadro 4.</b> Número de sitios y clasificación de las propiedades químicas del suelo por sitios de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000.....   | 36 |
| <b>Cuadro 5.</b> Descripción de los aislamientos obtenidos de plantas de chile habanero con síntomas de marchitez en la región Grijalva, Tabasco.....                                   | 53 |
| <b>Cuadro 6.</b> Características morfológicas cuantitativas de CH132 aislada de chile habanero (promedio de 50 estructuras asexuales). .....  | 59 |
| <b>Cuadro 7.</b> Dimensiones de estructuras sexuales del área de contacto entre CH132 ( <i>Phytophthora</i> ) aisladas de chile y confrontadas con <i>P. capsici</i> PVM 161.2 A1. .... | 61 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Síntomas en plantas de chile causados por <i>P. capsici</i> (Vásquez et al., 2009).<br>(A) Planta de chile con síntomas de marchitez; (B) Necrosis en la base del tallo. ....   | 12 |
| <b>Figura 2.</b> Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> heterotálicas (Erwin y Ribeiro, 1996). ....  | 17 |
| <b>Figura 3.</b> Distribución geográfica de los sitios de muestreo .....   | 23 |
| <b>Figura 4.</b> Cámara húmeda para la prueba de patogenicidad .....   | 28 |
| <b>Figura 5.</b> Temperatura (°C) y humedad relativa (%) al momento de la visita en la región Grijalva, Tabasco. ....  | 34 |
| <b>Figura 6.</b> Tipos de textura en el cultivo de chile habanero en la Región Grijalva, Tabasco.<br>FrL = Franco limosa; FrAL = Franco arcillo limosa; Arc = Arcillosa; Fra = Franca; FrA = Franco arenosa; ArL = Arcillo limosa. ....                                    | 35 |
| <b>Figura 7.</b> Tipos de drenajes presentes en el cultivo de chile habanero en la región Grijalva, Tabasco. ....  | 41 |
| <b>Figura 8.</b> Principales problemas en cultivos anteriores al establecimiento del chile habanero en la región Grijalva, Tabasco. ....   | 42 |
| <b>Figura 9.</b> Métodos de fertilización empleados en el cultivo de chile habanero en la región Grijalva, Tabasco. ....   | 44 |
| <b>Figura 10.</b> Métodos empleados en el control de malezas en la Región Grijalva, Tabasco. ....  | 45 |
| <b>Figura 11.</b> Métodos y clasificación de productos por frecuencia de uso en el control de plagas en chile habanero en la región Grijalva, Tabasco. ....  | 46 |
| <b>Figura 12.</b> Funguicidas empleados en control de enfermedades en la región Grijalva, Tabasco. ....  | 48 |
| <b>Figura 13.</b> Síntomas por municipio. (A) Cárdenas S2 planta con hojas marchitas y flácidas; (B) Cunduacán S3 planta con hojas marchitas y flácidas; (C) Huimanguillo S16 planta marchita y hojas secas; (D) Centro S13 planta muerta por marchitez, planta seca. .... | 52 |
| <b>Figura 14.</b> Daño a los 16 ddi por <i>P. capsici</i> aislada de chile habanero en Morelia, Michoacán (CPV-302) y <i>Phytophthora</i> sp. (CH132) aislada de chile habanero en Centro, Tabasco. ....   | 55 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 15.</b> Daño a los 16 ddi, por los tratamientos de <i>Fusarium</i> spp. combinados con <i>Phytophthora</i> sp. aislada de chile habanero en Centro, Tabasco.....  | 55 |
| <b>Figura 16.</b> Aspecto de las plantas inoculadas con <i>Fusarium</i> spp. a los 16 ddi.....  | 55 |
| <b>Figura 17.</b> Incidencia de la marchitez por tratamientos en plántulas de chile habanero 10 ddi.....  | 56 |
| <b>Figura 18.</b> Longitud de necrosis en tallo (cm) por tratamientos 10 ddi. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey $p < 0.05$ ). .....  | 57 |
| <b>Figura 19.</b> Micelio cenocítico, liso y grueso de 4 $\mu\text{m}$ .de la cepa CH132. Barra 10 $\mu\text{m}$ . .....  | 59 |
| <b>Figura 20.</b> Características asexuales de CH132. (A) esporangio limoniforme papilado con pedicelo largo; (B) esporangio limoniforme-obpiriforme papilado con pedicelo largo; (C) esporangio bipapilado; (D) esporangio con forma distorsionada papilado; (E) esporangio obturbinate alargado papilado. Barra 20 $\mu\text{m}$ .....  | 60 |
| <b>Figura 21.</b> Órganos sexuales del cruzamiento de PVM 161.2 (A1) y CH132 (A2). Barra = 10 $\mu\text{m}$ .....   | 61 |
| <b>Figura 22.</b> Electroforesis en gel de los productos de PCR amplificados de CH132 (727 pb), usando el gen COI. Línea 1; marcador de peso molecular 1Kb (DNA ladder Promega), Línea 2; CH132. ....   | 62 |
| <b>Figura 23.</b> Análisis filogenético bajo el criterio de máxima verosimilitud de <i>Phytophthora capsici</i> y otras especies de <i>Phytophthora</i> del clado 2 con <i>Pythium oopapillum</i> como grupo externo. Los valores bootstrap (1000 repeticiones) de máxima verosimilitud en porcentajes se indican en los puntos de la rama. La barra de la escala indica 0.010 sustituciones por sitio por rama. .... | 63 |

## I. INTRODUCCIÓN

El chile es un cultivo hortícola anual perteneciente a la familia Solanaceae; donde su importancia histórica y económica se basa principalmente en la utilización de sus frutos, para la alimentación rural y urbana de muchos países del mundo. Para México su producción y cultivo son relevantes, dado que en 2017 ocupó el segundo lugar mundial con una producción anual de 3,296,875 t, después de China (17,795,349 t) ambos como productores de una amplia variedad de especies de chile (FAOSTAT, 2017) y entre ellas, el chile habanero (*Capsicum chinense*) (Santoyo y Martínez, 2012) producto de gran interés en los mercados de Estados Unidos y Canadá, por su picor y aroma (Ruiz-Lau *et al.*, 2011). Esta especie de chile también presenta gran diversidad de usos, por ejemplo, como medicamento, para tratar llagas infectadas, heridas externas, erupciones en la piel, enfermedades contra bacterias o para la elaboración de gas lacrimógeno y productos cosméticos, así como tratar enfermedades culturales como “mal de ojo” y el “mal de aire”. Además, de ser fuente excelente de vitaminas (A, B6, C y E), colorantes naturales, minerales (K, P, Mg y Ca) y compuestos fenólicos (capsaicinoides) (Waizel y Camacho, 2011; Ruiz-Bello *et al.*, 2016; Baenas *et al.*, 2018). Por ejemplo, en frutos maduros de chile habanero De la Cruz (2018) encontró que las concentraciones de carotenoides totales, polifenoles totales, flavonoides totales, capsaicina y dihidrocapsaicina son mayores.

El chile habanero (*Capsicum chinense*) aunque se podría plantar en prácticamente todo el territorio mexicano, es producido principalmente en Tabasco, Yucatán, Quintana Roo y Campeche (Santoyo y Martínez, 2012; Ramírez-Sucre y Baigts-Allende, 2016), con 317.50, 222.89, 51.65 y 40.00 hectáreas sembradas respectivamente, con lo que contribuyen con más de la mitad de la producción nacional de este chile (SIAP, 2015).

La producción y calidad de este y otros cultivos dependen de varios factores, internos de la planta determinados por el genotipo y externos, los cuales son influenciados por las condiciones ambientales, las características físicas y químicas del suelo, la calidad del agua, la nutrición, las técnicas de producción, los factores bióticos y el conocimiento de los productores sobre el buen uso de insumos, prácticas agrícolas y el manejo del cultivo (Salazar-Jara y Juárez-López, 2013; Tibaduiza-Roa *et al.*, 2018).

La producción de chile habanero, por ejemplo, ha sido limitada por una serie de factores entre los que se encuentran la eficiencia del riego, control de la nutrición, la incidencia de plagas y enfermedades, siendo estas dos últimas causas las más determinantes (Huez *et al.*, 2013), ya que, si no son controladas, la cantidad y calidad del cultivo disminuye de tal forma que restringe los ingresos de los agricultores (Velásquez-Valle *et al.*, 2013).

Una de las enfermedades más importantes reportada en el territorio mexicano es la marchitez del chile, dado que genera pérdidas del 60 hasta el 100% en plantaciones de diferentes tipos de chile, cuyo agente causal es *Phytophthora capsici* (Pérez-Moreno *et al.*, 2003; Silva-Rojas *et al.*, 2009; Vásquez *et al.*, 2009; Lozano *et al.*, 2015; Pérez-Acevedo *et al.*, 2017). En Chihuahua y Oaxaca, por ejemplo, Silva-Rojas *et al.* (2009) y Pérez-Acevedo *et al.* (2017) reportaron ha *P. capsici* como el agente causal de la marchitez. Mientras que, en varios sitios productores de chile como Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas se han reportado otros microorganismos asociados al síndrome de la marchitez como *Pythium* spp., *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*, entre otros (Anaya-López *et al.*, 2011; Albañil *et al.*, 2015).

En el estado de Tabasco, se ha mencionado la ocurrencia de la marchitez en el cultivo de chile habanero señalando a *P. capsici* como agente causal (López-López *et al.*, 2018). No obstante, no existe ningún trabajo que corrobore que ese patógeno es el responsable de la enfermedad. Con base a lo anterior, y dada la importancia del cultivo es imprescindible conocer el manejo del chile habanero y determinar el agente causal de la marchitez presente en la región Grijalva, Tabasco, basándose tanto en técnicas morfológicas como en moleculares. Esto permitiría realizar un manejo tanto del cultivo, como de la enfermedad y evitar la dispersión del patógeno.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo general**

Identificar morfológica y molecularmente el agente causal de la marchitez del chile habanero (*Capsicum chinense*), en la región Grijalva, Tabasco.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Conocer el manejo del cultivo de chile habanero en la región Grijalva, Tabasco.
- Aislar e identificar el agente responsable de la marchitez del chile habanero mediante pruebas de patogenicidad.
- Caracterizar el microorganismo causal de la marchitez del chile habanero mediante la caracterización morfológica y molecular.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades del chile

Dentro de la familia de las Solanáceas se encuentra el género *Capsicum*; cuyas especies son típicamente llamadas chiles o ajís, entre otros dependiendo la región (Than *et al.*, 2008). El género *Capsicum* tiene sus orígenes en el centro de Sudamérica, en los altos de Bolivia, o en la zona montañosa del sur de Brasil, y se distribuye desde México hasta Brasil, Paraguay y Argentina Central (McLeod *et al.*, 1982; Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Carrizo *et al.*, 2016). Se han reportado alrededor de 30 a 35 especies del género *Capsicum* en el mundo, de las cuales se cree que: *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense* y *C. pubescens* se domesticaron en México (McLeod *et al.*, 1982; Loaiza-Figueroa *et al.*, 1987; Hernández-Verdugo *et al.*, 1999). Esta variabilidad de domesticación fue debido a la dispersión que existió de especies por el continente americano, y que hoy en día nos hace tener una gran variedad genética y morfológica (McLeod *et al.*, 1982; Hernández-Verdugo *et al.*, 1999). En el territorio mexicano predominan cuatro especies, *C. annuum* el cual se cultiva en todo el país, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens*, cultivadas principalmente en la península de Yucatán, en el centro y sureste, y en las zonas altas de la región central de México respectivamente (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999).

La importancia de este cultivo se debe a su valor económico y alimenticio, dado que es utilizado como especia y vegetal, así como la generación de empleo. El uso de este fruto es en la industria agroalimentaria para la elaboración de platillos y salsas. Es utilizado para fabricación de cosméticos, barnices, pinturas, gas lacrimógeno, colorantes naturales (Ruiz-Lau *et al.*, 2011; López-Gómez *et al.*, 2017; Baenas *et al.*, 2018). Todo ello, debido al contenido de vitaminas, minerales, compuestos bioactivos, entre otros (Baenas *et al.*, 2018; De la Cruz, 2018).

#### 2.1.1. Chile habanero y la producción en México

El chile habanero (*Capsicum chinense*) es considerado una de las especies más picantes, contiene de 200,000 a 500,000 Unidades Scoville (Curry *et al.*, 1999; Gutiérrez-Gómez *et al.*, 2018) las cuales cambian de acuerdo a la variedad o el morfotipo. No obstante, el contenido de capsaicinoides (sustancia que da el picor) depende de las

condiciones climáticas, estado de madurez, genotipo y prácticas de manejo de cada sitio (Morán-Bañuelos *et al.*, 2008).

Dada la importancia del chile habanero, es uno de los vegetales más demandados, tanto en el mercado internacional como el nacional, por la gran variedad de productos que se pueden elaborar a base del chile (López-Gómez *et al.*, 2017). A nivel mundial el chile habanero se cultiva en Perú, Belice, Brasil, Colombia, Ecuador, Puerto Rico, Estados Unidos y México (Soria *et al.*, 2002; Antonious *et al.*, 2009). México y Belice son los países que exportan el chile en forma de pasta a Estados Unidos y Canadá para la preparación de salsas verdes y rojas de chile habanero (Soria *et al.*, 2002; Ruiz-Lau *et al.*, 2011).

En México la mayor producción de chile habanero se da en el ciclo otoño-invierno (57%) y el restante en primavera-verano (43%) producto de los estados como: Baja California Sur, Chihuahua, Jalisco, Michoacán, Sonora, San Luis Potosí, pero la mayor parte se concentra en la región sureste: Campeche, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán, estos dos últimos son los estados con mayor producción (SIAP, 2014; SIAP, 2015).

En el estado de Tabasco desde 2008 el chile habanero ocupa el segundo lugar en importancia de los cultivos hortícolas, se siembra en condiciones de temporal, de riego y en humedad residual, razón por la cual se puede producir y consumir durante todo el año (Aceves *et al.*, 2008). Para ser cultivado se deben considerar las condiciones actuales del terreno, profundidad del manto freático, pendiente del terreno, características físico-químicas del suelo, periodo de lluvias y el precio en el mercado, ya que si no son tomadas en cuenta en ocasiones la producción de chile habanero suele ser poco rentable y muy costosa (Pardo, 2006).

## **2.2. Manejo agrícola del chile**

### **2.2.1. Requerimientos edafo-climáticos**

El chile crece en altitudes desde el nivel del mar hasta 2700 msnm, en un rango de precipitación óptima de 600 a 1250 mm, sin embargo, las condiciones climáticas pueden variar, de acuerdo a cada variedad y a la adaptabilidad del cultivo (FAO, 1994 citado por Aceves *et al.*, 2008). Aunado a que la temperatura, humedad y precipitación son

importantes en el crecimiento y desarrollo del cultivo, también juegan un rol importante en que pueden favorecer el desarrollo de plagas y enfermedades (Coscollá, 1980). En la semilla, para su germinación requiere de temperaturas promedio en el suelo mayores a los 25°C, dado que si está por debajo, la tasa de germinación se ve afectada (Smith *et al.*, 2011).

Por otra parte, este cultivo se desarrolla mejor en zonas de clima templado, subtropical a cálido, donde la temperatura mínima sea de 10°C, máxima 35°C, siendo 30°C la temperatura óptima para su desarrollo cultivo (FAO, 1994 citado por Aceves *et al.*, 2008). Por otro lado, Soria *et al.* (2002), mencionan que la temperatura mínima es de 16°C, puesto que, si son inferiores a esa temperatura, puede provocar en la planta una reducción del rendimiento. En este sentido, Tun (2001), menciona que los periodos prolongados de temperaturas bajas, también afectan a la floración y provocan mal formación de frutos.

Este cultivo requiere de suelos que presentan buen drenaje, con materia orgánica (MO) y buena retención de humedad, en el que también presente un pH que vaya de ligeramente ácido a neutro (6.5 a 7.0) para lograr una mayor disponibilidad de los nutrientes (Pardo, 2006). Sin embargo, en estudios como el de Bosland y Votava (2012) mencionan que la mayoría de los chiles se desarrollan en suelos con valores de pH de 7.0 a 8.5, y según el SIAP (2010), este cultivo se desarrolla bien en suelos francos. Respecto a la lámina de riego recomendada para la producción de chile habanero y lograr buenos rendimientos va de 750 a 1000 mm (Villa *et al.*, 2014).

### **2.2.2. Preparación del terreno y densidad de siembra**

La preparación del terreno consta principalmente de la nivelación del terreno (paso de arado o rastra) y la elaboración de surcos o camas para evitar zonas de encharcamiento y desarrollo de enfermedades del suelo (Soria *et al.*, 2002; Martínez y Moreno, 2009).

La densidad de siembra dependerá del potencial productivo del suelo, la estructura de la planta, del genotipo y de la tecnología. En el estado de Tabasco, Pardo (2006), recomienda densidades de 8,400 a 20,000 plantas por ha<sup>-1</sup> de acuerdo a las zonas fisiográficas del estado: 8,400 plantas ha<sup>-1</sup> en la zona Vega de Río y Llanura de

Inundación, 10,000 plantas ha<sup>-1</sup> para la zona Sierra y Llanura Aluvial, 12,500 plantas ha<sup>-1</sup> para la zona Calcárea, y 20,000 plantas ha<sup>-1</sup> para la zona de Lomeríos y la Costa. Mientras que Soria *et al.* (2002) recomienda de 20,000 a 22,000 plantas ha<sup>-1</sup> en lo general.

### **2.2.3. Trasplante y fecha de establecimiento**

El trasplante es el método que resulta mejor para el cultivo de chile, porque se realiza con plantas de buen vigor y sanas (Pardo, 2006). El trasplante se recomienda cuando las plántulas cuenten con cuatro o seis folíolos (Villa *et al.*, 2014; López *et al.*, 2015) o una altura de 15 a 18 cm, la cual es alcanzada de 45 a 50 días después de la siembra (Pardo, 2006). La fecha de establecimiento para el del chile habanero en el estado de Tabasco es a partir del mes de noviembre (mes en que las lluvias dejan de ser intensas) y la cosecha se puede prolongar hasta el mes de junio, siempre y cuando se realicen riegos de auxilio (Pardo, 2006).

### **2.2.4. Fertilización y drenaje del suelo**

Los principales nutrientes que se requieren para chile habanero son de: nitrógeno (200 kg ha<sup>-1</sup>), fósforo (120 kg ha<sup>-1</sup>) y potasio (180 kg ha<sup>-1</sup>) (INIFAP, 2017).

Para garantizar la producción de frutos de buena calidad y evitar problemas de enfermedades a causa de encharcamientos, es necesaria la construcción de drenes superficiales, principalmente en suelos arcillosos, en las temporadas de altas precipitaciones que ocurren en septiembre y octubre para el estado de Tabasco. Para la construcción de dichos drenes se recomienda que estos tengan una pendiente de 0.1%, una profundidad de 0.8 m y 0.6 m de ancho (López *et al.*, 2015).

### **2.2.5. Malezas y control**

Las malezas son un problema dentro de cualquier cultivo, esto se debe a que además de competir por luz, agua, nutrientes y espacio, son hospederos alternos de plagas y enfermedades, por lo que es de suma importancia su control (Garza, 2002; Martínez y Moreno, 2009). El control se puede realizar con tractor, de forma manual o con químicos, el más recomendado es el manual, el cual se realiza principalmente con azadón o

machete; el control químico se basa en la aplicación de herbicidas selectivos, ya sea a malezas de hoja ancha, o de hoja angosta, o bien, se puede realizar un manejo combinado, en el cual se controlen las malezas de forma manual, dejándola sobre los surcos para después aplicarles un herbicida desecante, como Paracuat (2 L ha<sup>-1</sup>) (Soria *et al.*, 2002; Martínez y Moreno, 2009).

### **2.2.6. Plagas y control**

Las condiciones climáticas, junto con las plagas y enfermedades representan el 78.2% de los problemas y pérdidas en las unidades agropecuarias (INEGI, 2014). A causa de lo anterior, la importancia del control de plagas es mayor. Debido a que, si no se realiza un buen manejo, se verá afectado el desarrollo y por ende el rendimiento del cultivo de chile lo que causa pérdidas económicas (Guigón-López y González-González, 2007).

Dentro de las plagas más importantes en el cultivo de chile, tanto en vivero como en etapa adulta es la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*). Esta causa un daño directo al succionar la savia de las plantas, en el que las debilita y ocasiona la muerte. Sin embargo, el daño mayor se debe a que es considerado vector de enfermedades virales. El control de mosquita blanca puede ser mediante el uso de trampas adhesivas, (Garza, 2002) o la aplicación de insecticidas sintéticos, como Imidaclopid, especialmente cuando es aplicado al suelo (Flores-Alaña *et al.*, 2015).

El ácaro blanco (*Poliphagotarsonemus latus*) afecta las células y la epidermis con su aparato bucal con el que succionan la savia de las hojas, los tallos, las flores y los frutos. El control de esta plaga, o la reducción de la incidencia y la severidad se puede lograr con la aplicación de Abamectina (18 mL por cada 20 L de agua) y chile + jabón (100 g de chile molido más 250 g de jabón en polvo en un litro de agua por bomba de 20 L) (Jiménez-Martínez *et al.*, 2013).

La araña roja (*Tetranychus urticae*) es una plaga polífaga, que se desarrolla principalmente en la época seca del año. Las poblaciones altas de ninfas y adultos succionan la savia en el envés de las hojas, provocando defoliación total y muerte de las plantas (Garza, 2002; Villa *et al.*, 2014). Para el control de esta plaga se recomienda la aplicación de Malatión 1.0 kg ha<sup>-1</sup> al detectarse los primeros daños, seguida de

aplicaciones semanales hasta mantener una población baja, la cual no dañe el cultivo o Abamectina 0.01 kg ha<sup>-1</sup> (Tun, 2001).

El pulgón verde (*Myzus persicae*) puede invadir todo el cultivo. Generalmente viven en el envés de las hojas terminales y brotes, cuando las infestaciones son altas, pueden invadir a las hojas maduras causando enrollamiento. Succionan la savia de las hojas causando defoliación, y al mismo tiempo puede transmitir enfermedades de virales. Secreta una sustancia azucarada tipo mielecilla, en la cual se puede desarrollar la enfermedad conocida como fumagina que afecta la fotosíntesis. El control se puede realizar mediante la aplicación de Pirimicarb 0.25 kg ha<sup>-1</sup> o Metamidofos (Tun, 2001; Villa *et al.*, 2014).

### **2.2.7. Enfermedades y control**

Las enfermedades junto con la nutrición de las plantas, el agua y plagas juegan un papel importante en la producción de chile habanero limitando el rendimiento del mismo. Todas estas causan una mala calidad del producto, limitando la disponibilidad de alimentos y materia prima (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2008). Los patógenos asociados a las enfermedades del chile son: los oomicetes, hongos, virus, bacterias, nematodos (Palma-Martínez *et al.*, 2017), entre otros y estos pueden causar daños totales o parciales generando pérdidas considerables desde un 10 hasta un 100% del cultivo (Rico-Guerrero *et al.*, 2004; Albañil *et al.*, 2015).

Dentro de las principales enfermedades en el cultivo de chile se encuentra la marchitez, cenicilla, manchas foliares, mancha bacteriana y virosis, entre otras (Black *et al.*, 1991; Guigón-López y González-González, 2001; Smith *et al.*, 2011; Bosland y Votava, 2012).

La cenicilla es causada por *Leveillula taurica*; en la etapa inicial de la enfermedad, en el haz de las hojas aparecen manchas de color verde claro a amarillo, para después volverse necróticas. Las hojas infectadas se curvan hacia arriba y en el envés se observa un polvo blanco. Cuando las lesiones son numerosas a menudo se unen, para lograr una clorosis general y caída de las hojas. El avance de la enfermedad es de las hojas viejas a las jóvenes. El hongo tiene un amplio rango de hospederos, por lo que es importante el control, ya que es frecuente que se albergue en arvenses. Las condiciones favorables

para el desarrollo de la enfermedad son temperaturas cálidas y poca luz, no requiere alta humedad y raramente se desarrolla en climas fríos (Black *et al.*, 1991).

La enfermedad conocida como mancha foliar puede ser causada por *Cercospora capsici*, *Alternaria solani* o *Corynespora cassiicola*. Los síntomas inician con la aparición de manchas de color marrón casi redondas con el centro gris claro, y el borde marrón oscuro. Las manchas pueden tener un diámetro de 0.5 a 2.5 cm y pueden llegar a unirse. Cuando el daño es severo las hojas se vuelven cloróticas para finalmente desprenderse. El hongo puede sobrevivir en las semillas y en asociación con el cultivo.

El control de la cenicilla y la mancha foliar puede realizarse mediante la aplicación de fungicidas como: Mancozeb, Captan u Oxiclورو de cobre con dosis de 1.6, 1.0 y 1.0 a 1.5 kg ha<sup>-1</sup> respectivamente (Black *et al.*, 1991; Tun, 2001; Tun *et al.*, 2011) y el uso de microorganismos antagonistas. Otra alternativa es el uso de extractos a base de *Azadirachta indica* A. Juss, *Allium cepa* y *A. sativum*, los cuales son altamente efectivos inhibiendo la germinación conidial de *L. taurica* (Sudha y Lakshmanan, 2009).

La mancha bacteriana causada por *Xanthomonas euvesicatoria* (sinónimo: *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) *X. vesicatoria* o *X. gardneri*, es una enfermedad que se puede desarrollar en hojas, tallos y frutos. Los síntomas inician en la superficie inferior de las hojas como pequeñas áreas irregulares, empapadas de agua. Después las manchas se agrandan y se vuelven de color marrón oscuro a negro con un centro café pálido, desarrollando un halo delgado y amarillo. En los tallos las lesiones son como canchros estrechos de color marrón claro. En el fruto las lesiones inician con manchas empapadas de agua que después se vuelven necróticas, con apariencia de una mancha áspera que se va agrietando a medida que el fruto se va desarrollando. La bacteria puede sobrevivir en restos de cultivos, plantas voluntarias o arvenses. Las condiciones favorables para este patógeno son alta humedad relativa, formación de rocío en las hojas y un clima cálido. El manejo de la enfermedad se puede lograr con la rotación de cultivos y uso de semilla sana (Black *et al.*, 1991).

La virosis es una enfermedad que genera pérdidas de hasta un 80%. Es causada por “organismos” fitopatógenos llamados virus, los cuales tienen la habilidad de infectar a la planta sistemáticamente; el virus entra a la célula, se replica, para después moverse

hacia el floema y colonizar toda la planta causando enanismo, enchinamiento, moteado, necrosis, clorosis y deformaciones (Robles-Hernández *et al.*, 2010). Esta enfermedad es transmitida por insectos como la mosquita blanca o algunas especies de trips, entre otros insectos que tienen aparato bucal chupador, los cuales se alimentan de la savia de las plantas. En las hojas, se observa el cambio de verde oscuro a verde claro e incluso amarillo con un moteado, y se presenta un enchinamiento y malformaciones de las hojas. Si la enfermedad se presenta antes de la floración, la planta no crece, produce pocos frutos y en casos extremos muere. Una vez que las plantas se encuentran enfermas, los síntomas son irreversibles (Tun, 2001).

Las medidas que se deben tomar para evitar este tipo de enfermedades es: utilizar variedades resistentes, mantener un control de las plagas presentes en el cultivo, eliminar y destruir las plantas que presenten síntomas, para evitar que estas sean fuente de transmisión, eliminar o mantener un control sobre las malezas, puesto que algunas son hospederas de los virus (Tsitsigiannis *et al.*, 2008).

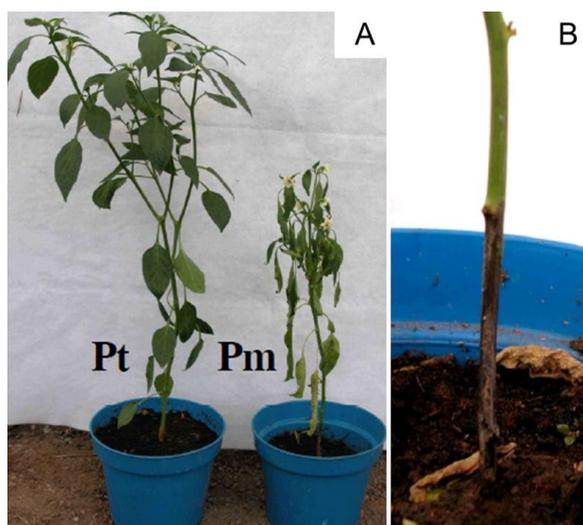
### **2.3. Marchitez del chile en México**

La marchitez del chile llamada comúnmente, también conocida como la secadera o la tristeza del chile, por su síntoma característico (marchitez), es una enfermedad de gran importancia. Fue reportada por primera vez en campos de chile en el centro del país por J. Galindo Alonso en 1956 (Romero-Cova, 1988 citado por Fernández-Pavía *et al.*, 2013). Esta enfermedad es responsable de pérdidas en el rendimiento desde un 10 hasta un 100%. En el Bajío y Puebla, por ejemplo, esta enfermedad generó pérdidas hasta de 100% del cultivo, mientras que en Guanajuato estas han sido menores al 50% (Chávez *et al.*, 1994 citado por Pérez-Moreno *et al.*, 2003; Albañil *et al.*, 2015).

La marchitez del chile puede ser causada por un complejo de hongos y oomicetes *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *P. capsici*, *Pythium* spp., entre otros (Black *et al.*, 1991; Velásquez-Valle *et al.*, 2001). Sin embargo, *P. capsici* es el patógeno ampliamente reconocido causante de la marchitez del chile afectando diferentes tipos de chile en México (González-González, 2001; Fernández-Pavía *et al.*, 2013) y a nivel mundial (Nawaz, 2018a; Nawaz, 2018b; Smith *et al.*, 2019). A pesar de que se ha mantenido que

*P. capsici* es el causante de la marchitez del chile, en plantas con síntomas de marchitez se ha logrado obtener aislamientos de otros patógenos (*Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*) y muy pocas veces a *P. capsici*. Por lo que se ha llegado a creer que existen otros patógenos asociados al síndrome de la marchitez del chile (Anaya-López *et al.*, 2011; Albañil *et al.*, 2015). Tal es el caso de Vásquez *et al.* (2009) quienes aislaron *R. solani* (32%), *Fusarium* spp. (16%), *P. capsici* (7%), entre otros. Sin embargo, al realizar la prueba de patogenicidad *P. capsici* fue el único patógeno que causó la muerte de la planta.

Los síntomas pueden ocurrir en cualquier estado de desarrollo y puede afectar todas las partes de la planta: raíz, tallo, hojas y frutos (Figura 1).



**Figura 1.** Síntomas en plantas de chile causados por *P. capsici* (Vásquez *et al.*, 2009). (A) Planta de chile con síntomas de marchitez; (B) Necrosis en la base del tallo.

El patógeno es un habitante del suelo y tiene la capacidad de atacar cualquier parte de la planta de chile, siendo las raíces y la base del tallo los más afectados por la cercanía al patógeno (Pérez-Moreno *et al.*, 2003). En plántulas puede causar damping-off y la muerte de las mismas. Los tejidos infectados se encojen y en un clima con humedad se desarrolla un micelio blanco. La podredumbre de la raíz, tallo y corona se caracteriza por una lesión del tallo marrón oscuro a negro que se extiende hacia arriba a toda la planta, causando una marchitez y muerte repentina, el área infectada tiene lesiones empapadas de agua con una decoloración obscura (Black *et al.*, 1991; Tsitsigiannis *et al.*, 2008).

La dispersión del inóculo hacia hojas y frutos se logra por el salpique de agua hacia las partes aéreas de la planta. En hojas, se forman áreas redondeadas e irregulares de color verde oscuro, se empapan de agua, para después secarse y cambiar a un color café claro. En el fruto, primero se observan manchas verdes opacas empapadas de agua que se expanden rápidamente para abarcar todo el fruto, el cual después se vuelve flácido, arrugado y sobre este puede crecer micelio blanco (Black *et al.*, 1991).

Una vez que la enfermedad se estableció en un lugar puede ser muy difícil de controlar. Las actividades que se pueden realizar para reducir la incidencia y la severidad de la enfermedad se basan en una siembra en sitios bien drenados, elaboración de camas elevadas, si es posible contar con riego controlado (Lamour *et al.*, 2012). Dentro de las actividades más importantes para el manejo de la enfermedad se encuentra: uso de material resistente (Palma-Martínez *et al.*, 2017). Lozano *et al.*, (2015) encontraron alternativas para el control o la reducción de la severidad de la enfermedad, donde la aplicación alternada y recurrente de productos químicos (Metalaxil, Fosetil aluminio, Propamocarb) controlaron el 100% de la marchitez.

#### **2.4. Importancia de *Phytophthora* y *Phytophthora capsici***

El género *Phytophthora* se deriva del griego que significa *phyto* (planta) *phthora* (destructor) “destructor de plantas” (Erwin y Ribeiro, 1996), pertenece a los oomicetes, también conocidos “mohos de agua” forman parte del grupo de los patógenos más devastadores e incluyen saprófitos y patógenos de plantas, insectos, peces, vertebrados, microbios y están relacionados con las algas pardas, doradas y diatomeas (van West *et al.*, 2003; Ho, 2018). La primera especie del género *Phytophthora* fue descubierta por Anton De Barry, el patógeno fue responsable de la hambruna irlandesa de 1845-1846, lo que causó la muerte de millones de personas y la emigración de los mismos. Inicialmente se reconoció como agente causal a *Botrytis infestans* (Mont), más tarde a *Peronospora infestans* (Mont) y para 1876 se nombró a *Phytophthora infestans* (Mont) De Barry (Ho, 2018).

De manera general, a nivel mundial se ha visto al género *Phytophthora* afectando varios cultivos anuales y especies leñosas tanto en zonas tropicales, subtropicales y templadas

(Erwin y Ribeiro, 1996; Drenth y Guest, 2013). En particular *P. capsici* se ha reportado en un amplio rango de hospederos, de las cuales destacan el daño a cultivos anuales como solanáceas, cucurbitáceas y recientemente se ha encontrado afectando a fabáceas (Erwin y Ribeiro, 1996; Hausbeck y Lamour, 2004; Lamour *et al.*, 2012) y especies leñosas como la pimienta negra (*Piper nigrum* L.), cacao (*Theobroma cacao* L.) y vainilla (*Vainilla planifolia* Andr.) (Erwin y Ribeiro, 1996; Ortiz, 1996).

En México el género *Phytophthora* se ha reportado causando diversas enfermedades. De las cuales sobresale *P. infestans* responsable del tizón tardío en papa y tomate, *P. parasitica* de la gomosis de los cítricos, *P. tropicalis* y *P. capsici* causante de la mancha negra del cacao (Ortiz, 1996; Acosta-Pérez *et al.*, 2012; Romero *et al.*, 2012; Lozano *et al.*, 2015; Ramos, 2017). Mientras que en *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita* sp., *Fragaria chiloensis*, *Solanum lycopersicum*, se ha reportado a *P. capsici* atacando diferentes partes de la planta (Fernández-Pavía *et al.*, 2013).

#### **2.4.1 Clasificación taxonómica de *Phytophthora***

La clasificación de los seres vivos ha sufrido sucesivos cambios a lo largo del tiempo, de acuerdo a los avances y descubrimientos de herramientas para dicha clasificación. En 1969 Whittaker propuso la clasificación de los seres vivos en cinco reinos: monera, protista, hongos, plantas y animales basados en la nutrición: fotosíntesis, absorción e ingestión (Whittaker, 1969). Más tarde, Woese *et al.* (1990) propusieron una nueva categoría de mayor rango que el reino y la llamó dominio, el cual se divide en tres: Archaea (arqueobacterias), Bacteria (eubacterias) y Eukarya (eucariotas) (Woese *et al.*, 1990). Esta clasificación es la más aceptada y utilizada actualmente.

Así como hubo cambios en la clasificación de los reinos, el género *Phytophthora* inicialmente se clasificaba en el reino fungi. Pero por los avances científicos se han permitido diferenciar los hongos verdaderos de los oomicetes, entre algunas características son que la pared celular de los oomicetes se compone de celulosa y  $\beta$ -1,3 y  $\beta$ -1,6 glucanos y no de quitina, la cual se encuentra en las paredes de los hongos verdaderos (Fry y Grünwald, 2010).

Hoy en día, el género *Phytophthora* se han clasificado dentro del dominio Eucariota (Woese *et al.*, 1990), dentro del reino Stamenopila junto con las diatomeas y las algas cafés (Walker y van West, 2007; Blair *et al.*, 2008; Choi *et al.*, 2015). Sin embargo, muchos autores reconocen que este género se encuentra en el reino Chromista, Filo oomycota, Clase Oomicetes, Orden Peronosporales y a la Familia Peronosporaceae (Birch y Whisson, 2001; Lamour *et al.* 2012; Martin *et al.*, 2012; Ho, 2018).

Aunque históricamente se ha clasificado a *Phytophthora* junto con *Pythium* dentro de la Familia Pythiaceae (van West *et al.*, 2003), Riethmüller *et al.* (2002) y Kirk *et al.* (2008) citado por Ho (2018) colocaron a *Phytophthora* dentro de la familia Peronosporaceae, manteniendo al género *Pythium* en la familia Pythiaceae. En este sentido, en trabajos como el de Brasier y Hansen (1992) y Birch y Whisson (2001) justifican que hay una mayor relación con la familia Peronosporaceae, debido a que *Phytophthora* se dispersa aéreamente, y la germinación directa se realiza mediante un tubo germinal.

#### **2.4.2. Ciclo de vida de *Phytophthora***

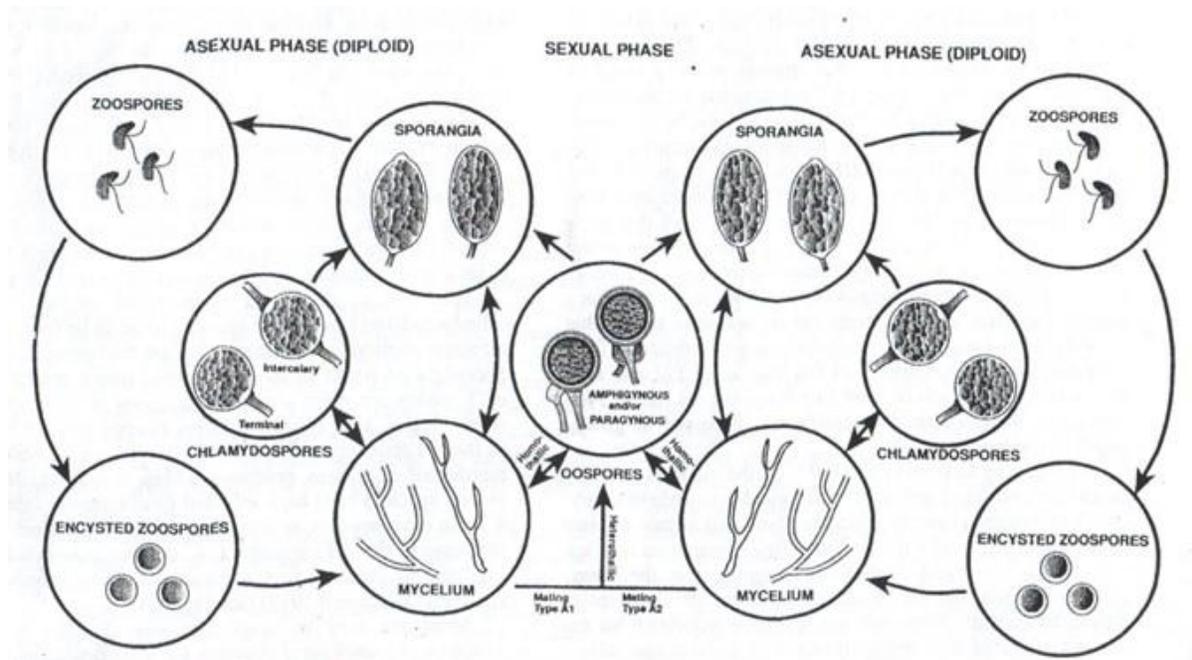
El ciclo de vida de *Phytophthora* (Figura 2) está integrado por estructuras asexuales (micelio, esporangios, zoosporas y en algunas especies clamidosporas) y sexuales (oosporas), y son estimulados por las condiciones ambientales, las cuales varían de acuerdo a la especie (Zhang *et al.*, 2018).

El ciclo de vida inicia con la fase asexual, la cual se producen cuando las especies que producen clamidosporas germinan de forma indirecta produciendo esporangios que liberan zoosporas o bien, directamente produciendo micelio y formando esporangios. Las condiciones óptimas para la producción de esporangios se logran con temperaturas entre 25 y 28°C y humedad relativa superior a 80%; como el caso de *P. capsici* (Lamour *et al.*, 2012). La germinación directa de los esporangios se puede dar sobre una superficie o sobre un líquido para producir un tubo germinal, o indirectamente mediante la división citoplásmica para formar zoosporas biflageladas uninucleadas. Las zoosporas se encuentran retenidas dentro de una vesícula de descarga y son liberadas mediante la ruptura de la misma, generalmente a temperaturas debajo de los 12°C (Walker y van West, 2007). Estas nadan en el agua en busca del tejido del hospedante (semillas, raíces,

tallos u hojas) donde se asientan y enquistan en la superficie de un hospedero susceptible, produce un tubo germinal ayudado por enzimas secretadas, para penetrar la cutícula de la planta directamente y colonizar los tejidos del huésped.

Cuando la zoospora germina también puede penetrar a su hospedero directamente a través de un apresorio, una vez germinado utiliza los nutrientes del hospedero, las hifas se ramifican a través del tejido vegetal creando una malla en el interior del hospedero, a partir de la cual se produce la esporulación y se repite el ciclo de la enfermedad (Lamour *et al.*, 2012).

El ciclo sexual para las especies heterotálicas como: *P. capsici*, *P. infestans*, *P. megasperma*, *P. palmivora* entre otras, se lleva a cabo cuando en un mismo sitio se encuentran dos hifas de los dos tipos de compatibilidad A1 y A2 y generan una oospora. Cuando las especies son homotálicas como: *P. citricola*, *P. elongata*, *P. katsurae*, entre otras, no requieren a otro tipo de compatibilidad, puesto que un solo talo puede producir la oospora (Erwin y Ribeiro 1996; Lamour *et al.*, 2012). La oospora es de pared gruesa, ya que tiene una doble pared, razón por la cual son consideradas como esporas de la supervivencia en invierno o condiciones ambientales adversas (Lamour *et al.*, 2012). Esta se forma con la producción de dos gametangios; un masculino (anteridio) y un femenino (oogonio) que se fusionan para formar la oospora. Esta espora estará en estado de latencia en el suelo, para después germinar cuando las condiciones ambientales le permitan producir un tubo germinal, el cual se ramificará en micelio y/o formar esporangios (van West *et al.*, 2003; Lamour *et al.*, 2012).



**Figura 2.** Ciclo de vida de *Phytophthora* heterotálicas (Erwin y Ribeiro, 1996).

## 2.5. Características asexuales y sexuales de *Phytophthora*

### 2.5.1. Micelio y tipos de colonias

El talo de *Phytophthora* es llamado micelio y está compuesto por filamentos hialinos, ramificados, cenocíticos (no septado), en cultivos jóvenes el citoplasma fluye libremente dentro del micelio, mientras que, en cultivos viejos excepcionalmente se pueden observar septos. El micelio a veces puede presentar hinchamientos, nudoso o tuberculado, el diámetro del micelio va de 5-8  $\mu\text{m}$ , es variable entre especies y depende de la naturaleza física y química del medio. El micelio está conformado por hifas (ramas individuales), las cuales en ciertas especies se ramifican en ángulos casi rectos y algunos se contraen en la base. Los tipos de colonia al igual que el micelio varía de acuerdo a las especies y al medio en el que se desarrollen, y estos pueden tener patrones, petaloide, rosáceo, estrellado y algodónoso (Erwin y Ribeiro, 1996).

### 2.5.2. Esporangios

Los esporangios (*esporas*; una semilla; angeion, un vaso), son las estructuras reproductivas asexuales y son el medio de reproducción más rápida, se producen en

talos llamados esporangióforos, los cuales se diferencian ligeramente o no de las hifas. Existen varias formas típicas como; globosa, obovoide, oviode, obpiriforme, limoniforme, elipsoide, piriforme y formas distorsionadas, entre otras. La morfología de los esporangióforos varia, entre los cuales se encuentra simpodio simple, simpodio compuesto y tipo umbelado (umbrella invertida) (Erwin y Ribeiro, 1996). Algunas especies presentan un engrosamiento apical llamado papila, las cuales pueden ser conspicua, semipapilada, o no papilada, característica que es utilizada para la identificación morfológica (Martin *et al.*, 2012). La caducidad de los esporangios (caducos o no caducos) y la longitud del pedicelo, son características importantes exclusivas de ciertas especies y utilizadas en la identificación (Erwin y Ribeiro, 1996).

### **2.5.3. Zoosporas**

Las zoosporas son esporas biflageladas móviles en forma reniforme a piriforme que se encuentran dentro de los esporangios, los cuales pueden liberar de 20-40 zoosporas motiles (Lamour *et al.*, 2012). Las zoosporas son expulsadas a través del poro apical, poseen dos flagelos de longitud desigual, el flagelo anterior es más corto, de tipo pincel y el flagelo posterior es más largo, liso de tipo látigo. Los flagelos permiten la movilidad en medios líquidos, son de vida corta, cuando encuentran una fuente de nutrientes o chocan contra una superficie se detienen, pierden sus flagelos y se transforman en quiste los que constituyen la estructura infectiva. La producción de zoosporas se desencadenada típicamente por inundaciones o en zonas donde hay agua estancada y puede propagarse como los esporangios por salpicaduras a las partes superiores de la planta viajando varios kilómetros ya sea por medio del agua o por el viento. Las zoosporas son la forma más importante del inóculo para infectar las raíces, son atraídas de manera quimiotáctica a los productos hospedantes, como los aminoácidos y los carbohidratos que emanan de las raíces, especialmente en la zona de elongación detrás de la punta de la raíz, al adherirse las zoosporas se enquistan en la superficie de la raíz penetrándola directamente e infectan a su hospedante (Zhang *et al.*, 2018).

#### **2.4.4. Clamidosporas**

Normalmente, las clamidosporas son globosas; sin embargo, se han descrito formas irregulares a oblongas, pueden ser intercaladas o terminales, están delimitadas por septos del micelio y pueden confundirse con hinchamientos hifales, que por definición no están delimitadas por septo del micelio. Las paredes de clamidosporas son más gruesas que las paredes de esporangio. Las clamidosporas y las inflamaciones hifales son producidas por algunas especies y, a diferencia de los esporangios y las zoosporas, ellas y las oosporas son capaces de sobrevivir a largo plazo en el suelo y los tejidos de las plantas (Erwin y Ribeiro, 1996).

#### **2.5.5. Oospora**

La oosporas es una espora sexual que se forman después de la fusión del anteridio (estructura masculina) y oogonio (estructura femenina). La posición del anteridio sobre el oogonio es una característica morfológica importante, si el oogonio crece a través del anteridio, se dice que este es anfígino, pero si el anteridio se adhiere lateralmente al punto oogonial, es parágino. Si la oospora se llena completamente el oogonio, es plerótico, mientras que los que están incompletos son appleróticos. También pueden ser clasificadas de acuerdo al tipo sexual; heterotálicas porque requieren aislamientos de los tipos de compatibilidad A1 y A2 para la formación de oosporas y homotálicas, las oosporas pueden germinar directa o indirectamente formando un esporangio (Stamps *et al.*, 1990; Erwin y Ribeiro, 1996; Ortiz, 1996; Martin *et al.*, 2012).

### **2.6. Identificación molecular de *Phytophthora***

#### **2.6.1. Importancia del análisis molecular de *Phytophthora***

El avance de los estudios filogenéticos para la identificación de las especies de *Phytophthora* ha sido posible debido al desarrollo y la evolución de técnicas basadas en el estudio del ADN. Dichas técnicas son una herramienta de gran utilidad, se basan en la secuenciación de regiones específicas del ADN y forman parte complementaria de la caracterización morfológica (Soto *et al.*, 2017). Estas técnicas son necesarias por lo difícil que es determinar las características morfológicas, en vista de que estas varían según

los medios y el entorno, más aún si no se cuenta con la suficiente experiencia resultando en identificaciones erróneas (Coulibaly *et al.*, 2018).

Para estudiar la biología de la población y diversidad de las especies de *Phytophthora* se han utilizado técnicas como RFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción), RAPD (amplificación aleatoria de ADN polimórfico), AFLP (polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados), microsatélites, polimorfismos de nucleótidos únicos y los análisis de haplotipos mitocondriales, entre otros. El RAPD, por ejemplo, genera marcadores dominantes que pueden proporcionar un gran número de bandas polimórficas. Mientras que, el análisis AFLP es otra técnica que genera marcadores dominantes para el análisis de poblaciones donde hay poco conocimiento de las secuencias de ADN genómico, es relativamente sencilla y se utiliza para la comparación de aislados (Martin *et al.*, 2012).

Los análisis filogenéticos del género *Phytophthora*, han permitido clasificar en 10 grandes grupos y con esto aclarar las controversias que existen dentro del mismo género (Blair *et al.*, 2008). Martin *et al.* (2012), menciona que el método molecular más utilizado y preciso para la identificación a nivel de especies se logra mediante el análisis de loci específicos.

La región del ITS (espaciadores internos transcritos) es la más utilizada y la que cuenta con una base de datos más compleja, en la que se incluyen todas las especies descritas. No obstante, este lugar no es óptimo para todas las especies, principalmente para aquellas que se encuentran estrechamente relacionadas. Otro loci utilizado es el citocromo c oxidasa I y II de la mitocondria (Martin y Toley, 2003). Además de los loci antes mencionados, existen otros basados en el ADN nuclear (proteína ribosomal 60S L10,  $\beta$ -tubulina, enolasa, proteína HS 90, fusión del gen TigA, factor de elongación de la traducción 1  $\alpha$ ) y ADN mitocondriales (nad1, nad9, rps10 y secY) que también se están adoptando para resolver controversias (Martin *et al.*, 2012; Yang y Hong, 2018).

### **2.6.2. Uso de COI en la identificación molecular de *Phytophthora***

Dentro de los marcadores moleculares empleados en la identificación de especies de *Phytophthora* y otros oomicetes se encuentra el citocromo c oxidasa sub unidad I (COI)

(Martin y Toley 2003; Robideau *et al.*, 2011; Choi *et al.*, 2015; Yang y Hong, 2018; Smith *et al.*, 2019). El COI, es un marcador molecular basado en el ADN mitocondrial utilizado para la identificación de especies de *Phytophthora* y *Pythium* principalmente, pero también para otros oomicetes (Robideau *et al.*, 2011; Choi *et al.*, 2015).

Robideau *et al.* (2011) secuenciaron COI y analizaron 1205 aislamientos de oomicetes los cuales representan 23 géneros y fueron comparados con la región del ITS. En algunos casos COI fue más discriminatorio que ITS y por esto sugiere que COI al igual que ITS se considere como código de barras, ya que, ambos formarían parte complementaria para la identificación siendo uno marcador mitocondrial y otro nuclear. Por otra parte, Yang y Hong (2018) observaron que COI tiene una alta resolución dentro de la mayoría de los sub clados en comparación con otros marcadores. Sin embargo, con el uso de este marcador molecular es imposible separar especies híbridas de su progenitor materno basado en secuencias COI, por la herencia uniparental de las mitocondrias, siendo este un problema con los marcadores mitocondriales. Con el uso COI, Smith *et al.* (2019) lograron identificar a *P. capsici* causante de la podredumbre en el cuello y marchitez del chile habanero. Así mismo, Soto *et al.* (2018) lograron la identificación de *P. capsici* y *P. drechsleri* en *C. annuum* y *Petunia x hybrida* en viveros de México.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

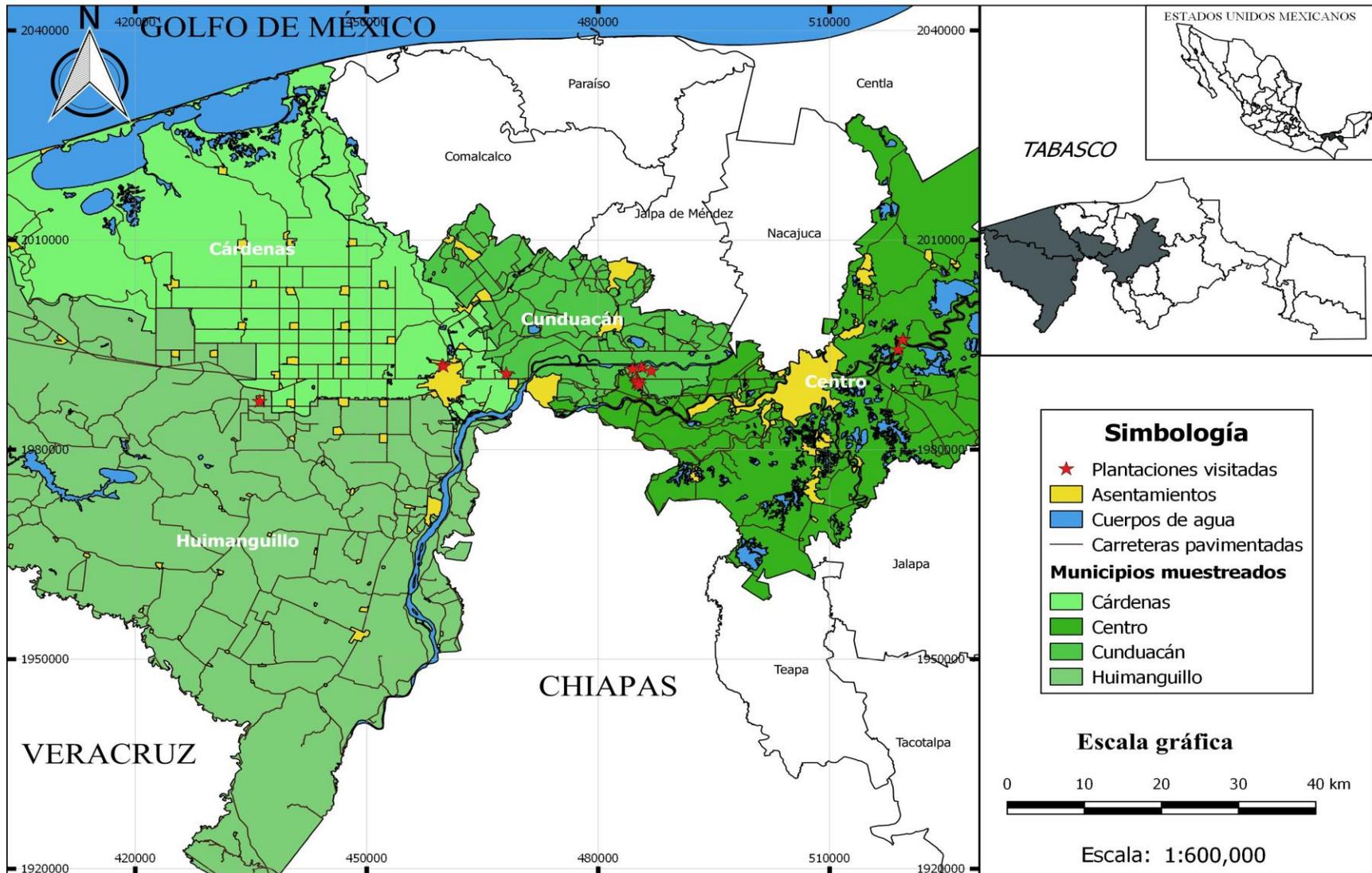
#### 3.1. Área de estudio

El estado de Tabasco se localiza al sureste de México, entre las coordenadas 17° 19' 00" y los 18° 39' 00" de latitud norte y los 90° 57' 00" y los 94° 08' 00" de longitud oeste de la llanura costera de la región del Golfo (Palma-López *et al.*, 2011). Cuenta con un promedio de temperatura ponderado de 26.8°C y una precipitación pluvial por año de 2943.8 mm. Representa el 1.3% del territorio nacional y está integrado por 17 municipios y dos grandes regiones hidrográficas: Usumacinta y Grijalva (INIFAP, 2017). La región Usumacinta se divide en dos subregiones: Pantanos (Centla, Jonuta y Macuspana) y Ríos (Emiliano Zapata, Balancán y Tenosique). Mientras que la región Grijalva, se encuentra dividida en tres subregiones: Chontalpa (Cárdenas, Cunduacán, Comalcalco, Huimanguillo y Paraíso); Centro (Centro, Nacajuca y Jalpa de Méndez) y Sierra (Jalapa, Teapa y Tacotalpa).

En Tabasco se han identificado 13 grupos de suelos, destacando los Fluvisoles, Gleysoles y Luvisoles por su mayor extensión. Las actividades primarias que sobresalen por uso del suelo son diversificadas, el 61.0% practica la ganadería, 30.5% la agricultura y 8.5% combina a ambas actividades. En el estado de Tabasco la agricultura es otra forma de uso del suelo al sembrarse cultivos anuales y perenes de importancia económica (Palma-López *et al.*, 2007).

La información de los sitios fue proporcionada por el Dr. Rutilo López López, tres extensionistas: Ing. Antonio Cruz Estrada (Cunduacán), Ing. Manuel Sánchez Jiménez (Cárdenas) y el Ing. Antonio Jesús Bautista Pérez (Centro) y dos productores de chile Efrén Mendoza Martínez y el Ing. José del Carmen Camara Reyna.

El presente estudio se llevó a cabo en tres municipios (Huimanguillo, Cárdenas y Cunduacán) de la subregión de la Chontalpa y un municipio (Centro) de la subregión Centro (Figura 3, Cuadro 1). El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, localizado geográficamente 17° 58' 34.92" latitud Norte y 93° 23.14' 10" longitud Oeste.



**Figura 3.** Distribución geográfica de los sitios de muestreo

**Cuadro 1.** Ubicación geográfica y política de los sitios de muestreos.

| Sitio | Latitud     | Longitud     | Municipio    | Lugar de la plantación          |
|-------|-------------|--------------|--------------|---------------------------------|
| S1    | 18°00'58.5" | 93°22'49.0"  | Cárdenas     | Ra. Río seco 1ra sección        |
| S2    | 18°00'55.0" | 93°22'42.5"  |              | Ra. Río seco 1ra sección        |
| S3    | 18°00'33.4" | 93°07'26.1"  | Cunduacán    | Ejido San Pedro Cumuapa         |
| S4    | 17°59'40.7" | 93°08'31.1"  |              | Poblado Cumuapa 1ra sección     |
| S5    | 17°59'38.7" | 93°08'30.1"  |              | Poblado Cumuapa 1ra sección     |
| S6    | 17°59'50.7" | 93°08'27.2"  |              | Poblado Cumuapa 1ra sección     |
| S7    | 17°59'43.7" | 93°08'22.8"  |              | Poblado Cumuapa 1ra sección     |
| S8    | 18°00'50.7" | 93°08'09.6"  |              | Ejido San Pedro Cumuapa         |
| S9    | 18°00'42.2" | 93°08'48.8"  |              | Poblado Cumuapa 1ra sección     |
| S10   | 17°59'30.7" | 93°08'21.3"  |              | Ra. Cumuapa 1ra sección         |
| S14   | 18°0'20.62" | 93°18'5.63"  |              | Ra. Miahuatlán 2a. Sección      |
| S11   | 18°02'13"   | 92°49'17"    | Centro       | Acachapan y Colmena 2da sección |
| S12   | 18°3'0.0"   | 92°48'55"    |              | Acachapan y Colmena 2da sección |
| S13   | 18°2'58.11" | 92°48'56.92" |              | Acachapan y Colmena 2da sección |
| S16   | 17°58'8.77" | 93°36'12.17" | Huimanguillo | Poblado C-34                    |

### 3.1.1. Toma de temperatura, humedad y muestras de suelo

Durante la visita a la plantación se tomaron datos de temperatura (°C) y humedad relativa (%) con la estación meteorológica portátil Kestrel 3000®.

Se recorrió el terreno en zigzag y se tomaron seis muestras de suelo con una barrena tipo holandesa a 30 cm de profundidad para formar una muestra compuesta. Estas fueron depositadas en bolsas de plástico y se rotularon para su análisis posterior.

### 3.1.2. Análisis de muestras de suelo

Se realizó el análisis físico-químico: textura, pH, MO, N, P y K con métodos recomendados por la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000.

## **3.2. Manejo del cultivo de chile habanero**

### **3.2.1. Encuesta: diseño y aplicación del cuestionario**

Para conocer las prácticas de manejo del cultivo de chile habanero en la región Grijalva se diseñó un cuestionario con preguntas cerradas y abiertas, basadas en la experiencia que tiene los productores del cultivo. Las variables fueron superficie de la plantación, relieve, la preparación del suelo, tipo de siembra, fecha del establecimiento del cultivo, densidad de plantación, arreglo topográfico, variedad cultivada, drenaje del terreno, riego, cultivos anteriores, cultivos asociados, cultivos circundantes, poda, tipo de fertilización, productos que emplean para fertilizar, control de malezas y métodos. Presencia de plagas y enfermedades y control. El cuestionario fue aplicado a 15 productores en la primera visita de cultivo (Anexo 1).

### **3.2.2. Manejo agrícola típico del cultivo de chile habanero en la región Grijalva**

Con base a los resultados de las encuestas y a lo observado en campo, se describió el manejo agrícola típico, destacando las actividades en las que convergen la mayoría de los productores y los problemas observados al momento de la visita.

## **3.3. Aislamiento y prueba de patogenicidad**

### **3.3.1. Visita de la plantación y toma de muestras de plantas de chile marchitas**

Se visitaron las 15 plantaciones y se recorrió toda la parcela, de forma sistemática por surcos, en busca de plantas con síntomas de marchitez y necrosamiento en la base del tallo. Las plantas que presentaban esos síntomas se colectaron en bolsas de plástico, se etiquetaron y se guardaron en una hielera para su traslado al laboratorio de fitopatología y su análisis posterior.

### **3.3.2 Aislamiento del patógeno**

La parte de la planta dañada, raíz o tallo, fue lavada superficialmente con agua corriente y desinfectada por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 90 seg, seguida de tres lavados con agua destilada estéril. Se realizaron cortes pequeños 0.3 mm tomando tejido del borde del avance de la enfermedad y se cultivó en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo V8-Agar (300 mL de jugo V8, 4.5 g de

CaCO<sub>3</sub> y 15 g de Agar) e incubadas en oscuridad a 25±1°C, por siete días en una incubadora Prendo®. Se hicieron observaciones de las colonias desarrolladas y con preparaciones semipermanentes en el microscopio Cole Parmer® se observaron las estructuras típicas. La identificación a nivel de género se realizó con las claves morfológicas de Barnett y Hunter (1972) y Stamp *et al.* (1990) para *Fusarium* y *Phytophthora* respectivamente.

Mediante la técnica de punta de hifas el oomicete y los hongos fueron purificados, para lo cual se transfirieron por triplicado a cajas de Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo V8-Agar para el caso de *Phytophthora* y en PDA (Papa Dextrosa Agar) para *Fusarium*, se incubaron a oscuridad a 25±1°C en una incubadora Prendo®. Las cepas aisladas fueron guardadas en tubos de ensaye con medios de cultivos, para realizar las pruebas de patogenicidad.

### **3.3.3. Crecimiento de las plántulas de chile habanero para prueba de patogenicidad**

Para el desarrollo de plántulas para las pruebas de patogenicidad se utilizaron semillas de chile habanero del “Vivero Mirafuentes”, proporcionadas por el M.C. Felipe Mirafuentes Hernández. Las semillas fueron desinfectadas por inmersión con hipoclorito de sodio al 1% durante 90 seg, seguido de tres lavados con agua destilada estéril. Se utilizó peat moss como sustrato (esterilizado con calor húmedo a 121°C y 15 lbs/pulg<sup>2</sup> durante una hora, por dos días consecutivos). Las charolas de germinación de 200 cavidades de plástico fueron desinfectadas en inmersión con hipoclorito de sodio al 5% durante 1 hora. Se colocó el peat moss y una semilla por cavidad, el riego fue diario con agua destilada estéril. Los primeros 15 días de crecimiento de las plántulas se les aplicó fertilizante foliar (20-46-60 kg ha<sup>-1</sup> de N-P-K) cada dos días y después la aplicación fue diaria.

### **3.3.4. Tratamientos y diseño experimental para prueba de patogenicidad**

En el Cuadro 2 se muestra la lista de aislamientos utilizados como tratamientos y el origen de cada aislamiento, como tratamiento testigo se empleó una cepa referencia (CPV-302) de *P. capsici* proporcionada por la Dra. Sylvia P. Fernández Pavía de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

**Cuadro 2.** Lista de aislamientos de chile habanero y origen geográfico

| Clave de aislamiento en colección | Comunidad y municipio en Tabasco     |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| CH132                             | Acachapan y Colmena, Centro, Tabasco |
| CH2                               | Cañales, Cárdenas, Tabasco           |
| CH3                               | Ra. Cumuapa, Cunduacán, Tabasco      |
| CH7                               | Ra. Cumuapa, Cunduacán, Tabasco      |
| CH14                              | Ra. Miahuatlán, Cunduacán, Tabasco   |
| CH16                              | Poblado C-34, Huimanguillo, Tabasco  |
| CPV-302*                          | Morelia, Michoacán                   |

\*Testigo de referencia (*P. capsici*).

Para las pruebas de patogenicidad se propusieron 13 tratamientos los cuales consistieron en la inoculación sola o combinados de los aislamientos colectados (Cuadro 3). La unidad experimental fue una planta de chile habanero. La prueba de patogenicidad se estableció como un diseño completamente al azar con cinco repeticiones (Cuadro 3).

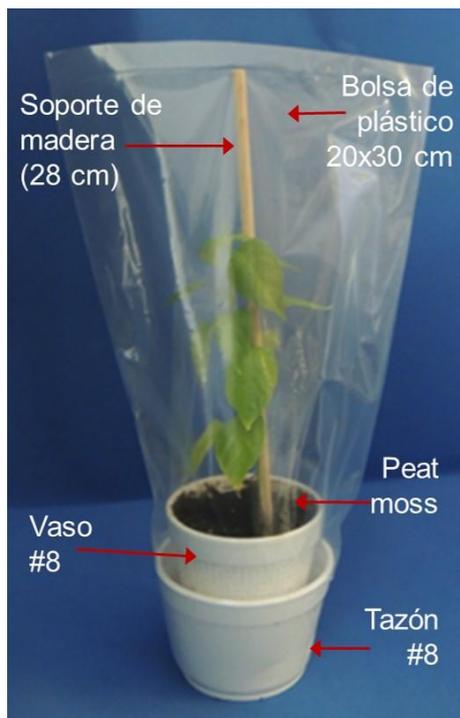
**Cuadro 3.** Descripción de los tratamientos.

| Tratamientos solos   |                         | Tratamientos combinados |   |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|---|
| Testigo <sup>+</sup> | V8-Agar                 | CH2-CH132               | <i>Fusarium</i> sp. + <i>Phytophthora</i> sp. |
| CH2                  | <i>Fusarium</i> sp.     | CH3-CH132               | <i>Fusarium</i> sp. + <i>Phytophthora</i> sp. |
| CH3                  | <i>Fusarium</i> sp.     | CH7-CH132               | <i>Fusarium</i> sp. + <i>Phytophthora</i> sp. |
| CH7                  | <i>Fusarium</i> sp.     | CH14-CH132              | <i>Fusarium</i> sp. + <i>Phytophthora</i> sp. |
| CH14                 | <i>Fusarium</i> sp.     | CH16-CH132              | <i>Fusarium</i> sp. + <i>Phytophthora</i> sp. |
| CH16                 | <i>Fusarium</i> sp.     |                         |   |
| CH132                | <i>Phytophthora</i> sp. |                         |   |
| CPV-302*             | <i>P. capsici</i>       |                         |   |
| Total                |                         |                         | 13  |

+ Testigo negativo; \* Testigo de referencia.

### 3.3.5. Diseño de cámara húmeda y trasplante

Para la incubación de las plantas de chile inoculadas se diseñó una cámara húmeda que creará un microclima favorable para el patógeno (Figura 4). El peat moss se esterilizó como se menciona en el crecimiento de las plántulas. Cuando las plántulas de chile habanero alcanzaron los 15 cm de altura se transfirieron a la cámara húmeda. Las plántulas de chile habanero se mantuvieron con el sustrato saturado con agua destilada estéril 48 horas en cámara húmeda previas a la inoculación. Los riegos posteriores se realizaban manteniendo agua libre dentro del tazón # 8.



**Figura 4.** Cámara húmeda para la prueba de patogenicidad

### 3.3.6. Preparación de inóculo y método de inoculación en plantas

Las cepas se desarrollaron en jugo V8-Agar para el caso de *Phytophthora* y PDA para *Fusarium*. Los aislamientos de *Fusarium* tenían cinco días de crecimiento a la inoculación, mientras que las colonias de *Phytophthora* tenían 18 días. La inoculación de las plantas se realizó siguiendo la metodología de Rico-Guerrero *et al.* (2004) con modificaciones. Se utilizaron discos de micelio de las colonias. Con el sacabocados se cortaron discos de 5 mm y con la aguja de disección se colocaron dos discos por

aislamiento en la base del tallo sobre el suelo de acuerdo a los tratamientos. Los discos de *Fusarium* se colocaron opuestos a los de *Phytophthora*.

Para el caso de las combinaciones *Fusarium* + *Phytophthora*, primero se inoculó a *Fusarium* y 5 h después a *Phytophthora*, seguido de los tratamientos solos. Después de la inoculación, se dejó el sustrato 72 h saturado y posteriormente se les realizaron dos perforaciones de 0.5 cm de diámetro a 1 cm de altura desde la base del vaso para que el agua drenara y se mantuvieran en el tazón. Las plántulas de chile habanero se regaban cada 48 h con agua destilada estéril y se mantuvieron a  $25\pm 5$  °C.

### **3.3.7. Re aislamiento de las plantas inoculadas**

Con la finalidad de hacer un segundo aislamiento del patógeno, se seleccionaron dos plantas al azar por tratamiento y se cortó tejido de donde se observaron los síntomas, este fue desinfectado por inmersión en hipoclorito de sodio al 1% durante 90 seg, posteriormente se lavaron tres veces consecutivas con agua destilada estéril, se secaron y se sembraron en medio de cultivo V8-Agar. Las características morfológicas del patógeno aislado de la prueba de patogenicidad se compararon con los originalmente inoculados: tipo de colonia, esporangios, micelio para comprobar los postulados de Koch descritos en Agrios (2005).

### **3.3.8. Variables cuantificadas**

**Incidencia:** Las plantas fueron observadas cada 12 horas mañana y tarde para determinar los cambios morfológicos de cada planta (tallos, hojas). Los datos se registraron cada 12 h, y a los 10 ddi se calculó la incidencia de plantas con síntomas de marchitez.

Incidencia (Y), representada como el porcentaje de plantas de cada unidad experimental con necrosis y/o marchitez entre el número de plantas totales multiplicadas por 100%.

Donde:

$Y = \frac{\text{Número total de plantas con necrosis y/o marchitez}}{\text{Número total de plantas}} \times 100$ .

Los datos de la incidencia de plantas marchitas, a los 10 ddi, se graficaron utilizando el programa Excel 2016.

**Longitud de la necrosis del tallo:** se midió a los 10 ddi con una regla, midiendo desde la base del tallo necrótico hasta los límites entre el necrosamiento y el tejido vegetal sano.

Análisis de longitud de necrosis del tallo: se realizó un análisis de varianza utilizando el método de Tukey con un nivel de significancia al 5% mediante el software InfoStat Versión estudiantil 2018.

### **3.4. Caracterización morfológica de la cepa patógena de Chile**

#### **3.4.1. Tipo de micelio y dimensiones**

La observación del tipo de micelio y medición se realizó con la preparación de montajes semipermanentes con lactofenol y se determinaron las características del micelio como: grosor en micras ( $\mu\text{m}$ ), tipo y aspecto. Las observaciones se realizaron en microscopio óptico 40x marca MOTIC® con cámara digital. Las fotos se capturaron con el software Motic Images Plus 2.0 y se midieron con el software Imagen Tool® 3.00 para Windows.

#### **3.4.2. Esporangios dimensiones**

La observación y medición de los esporangios se realizó mediante la preparación de montajes semipermanentes con lactofenol. Se tomaron medidas de 50 con un microscopio marca MOTIC®, equipado con objetivo de 40x y cámara digital. Las imágenes fueron capturadas con el software Motic Images Plus 2.0. Las imágenes fueron medidas con el software Imagen Tool® 3.00 para Windows. Se registró la medida de largo y ancho de los esporangios, el tamaño de la papila, la forma de los esporangios, el largo del pedicelo y se calculó la relación largo/ancho. Los datos fueron capturados en una base de datos de Excel donde se determinaron los valores máximos, mínimos y el promedio.

#### **3.4.3. Tipo de compatibilidad sexual**

Se utilizaron dos cepas de referencia de *P. capsici* CPV-219 (A2) aislada de *C. pubescens* de Morelia, Michoacán y PVM-161.2 (A1) aislada de *C. chinense* de Cuautla,

Morelos proporcionadas por la Dra. Sylvia Patricia Fernández Pavía de la UMSNH (obtenidas por el M. C. Alejandro Soto Plancarte). El tipo de compatibilidad sexual se determinó siguiendo la metodología de Fernández-Pavía *et al.* (2004) con modificaciones. Se emplearon las dos cepas de compatibilidad conocida A1 o A2 antes mencionadas. Los apareamientos se realizaron en agar-ejote en cajas de Petri de vidrio de 90 mm de diámetro a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 15 días en oscuridad en una incubadora Prendo®. La evaluación se realizó tomando muestras de la interface de contacto entre los dos aislados. Se determinó que el aislado era A1 si formaba oosporas con la cepa de referencia A2. Por el contrario, si se indujeron oosporas con la cepa de referencia A1, se clasificó como aislado tipo A2. Las características sexuales y asexuales y sus dimensiones se compararon con las claves de Stamps *et al.* (1990), Erwin y Ribeiro (1996) y Martin *et al.* (2012).

### **3.5. Caracterización molecular de la cepa patógena de *Phytophthora***

#### **3.5.1. Extracción de ADN**

La extracción del ADN se realizó siguiendo la metodología de Leslie y Summerell (2006) con modificaciones. Donde el micelio se molió con ayuda de un mortero, un pistilo y nitrógeno líquido. Una vez molido se colocó en un microtubo, en el que se le agregó 500  $\mu\text{l}$  de buffer de lisis (Tris HCl pH 8.0 100 mM, EDTA- $\text{Na}_2$  20 mM, NaCl 1.4 M, CTAB 2%), y 10  $\mu\text{l}$  de SDS al 1%. Se agitó 10 seg a máxima velocidad en vortex y se adicionaron 10  $\mu\text{l}$  de 2-Mercaptoetanol para después ser mezclados. El microtubo se incubó a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 60 min, cada 20 min se agitaba el microtubo. Posteriormente se dejó a temperatura ambiente hasta que se enfriara, se adicionaron 50  $\mu\text{l}$  de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), y se agitó en vortex durante 10 seg. Posteriormente en la centrifuga se mantuvo a 10,000 rpm durante 8 min. El sobrenadante se transfirió a un microtubo nuevo etiquetado, al cual se le agregó 5  $\mu\text{l}$  de Rnasa A, y se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  por 15 min. Se agregaron 400  $\mu\text{l}$  de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), se agitó en vortex durante 10 seg y se puso 8 min en la centrifuga a 10,000 rpm. El sobrenadante se transfirió a un microtubo nuevo etiquetado, al cual se le agregaron 700  $\mu\text{l}$  de isopropanol frio ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), se agitó manualmente y se incubó a  $-20^{\circ}\text{C}$  toda la noche. Al día siguiente se centrifugó a 10,000 rpm durante 8 min, se descartó el sobrenadante. Se agregaron 600  $\mu\text{l}$  de EtOH

absoluto frío, se agitó en vortex 10 seg, se centrifugó a 10,000 rpm 10 min y se descartó el sobrenadante. Finalmente se secó la pastilla del ADN a temperatura ambiente por 15 min. La pastilla se re suspendió en 50 µl de agua grado biología molecular y se almacenó a -20°C.

### **3.5.2 Amplificación de ADN**

La región del COI (citocromo oxidasa subunidad I) del ADN mitocondrial fue amplificada con los iniciadores COIF-1 (5'-TCAWCWGMGATGGCTTTTTTCAAC-3') y COIR-1 (5'-RRHWACKTGACTDATRATACCAAA-3'). La amplificación en PCR se realizó en un termociclador Eppendorf MasterCycler® Gradient bajo las siguientes condiciones: 2 min a 94°C, 34 ciclos de 1 min a 95°C, 1 min a 55°C, 1 min a 72°C y un paso final de extensión a 72°C durante 10 min (Robideau *et al.*, 2011).

### **3.5.3. Electroforesis en gel**

Los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 1.5% disuelto en TAE 1X (Trizma Base 40 mM, ácido acético 20 mM y EDTA 1 mM) y teñido con bromuro de etidio a una concentración de 0.5 µg/ml. La corrida electroforética se llevó a cabo en una cámara BioRad Modelo PowerPac 300 a 50 V durante 100 min. Los geles fueron visualizados en un trans-iluminador con luz ultravioleta, UVP y las imágenes fueron capturadas con un equipo Kodak EDAS-290. El análisis de los fragmentos se calculó comparando contra el marcador de pesos moleculares de 1Kb (DNA ladder Promega).

### **3.5.4. Purificación de los fragmentos de ADN amplificados**

Los fragmentos de ADN fueron purificados con el kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System—Promega, siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. Los productos de PCR fueron secuenciados en Macrogen, (Seúl, República de Corea).

### **3.5.5. Secuenciación y alineación de secuencias**

Las secuencias obtenidas se ensamblaron y editaron usando el programa PreGap y Gap (<http://staden.sourceforge.net>). Se creó una secuencia consenso y estas fueron alineadas empleando el software CLUSTALX2 versión 2.1.

### **3.5.6. Construcción de árbol filogenético**

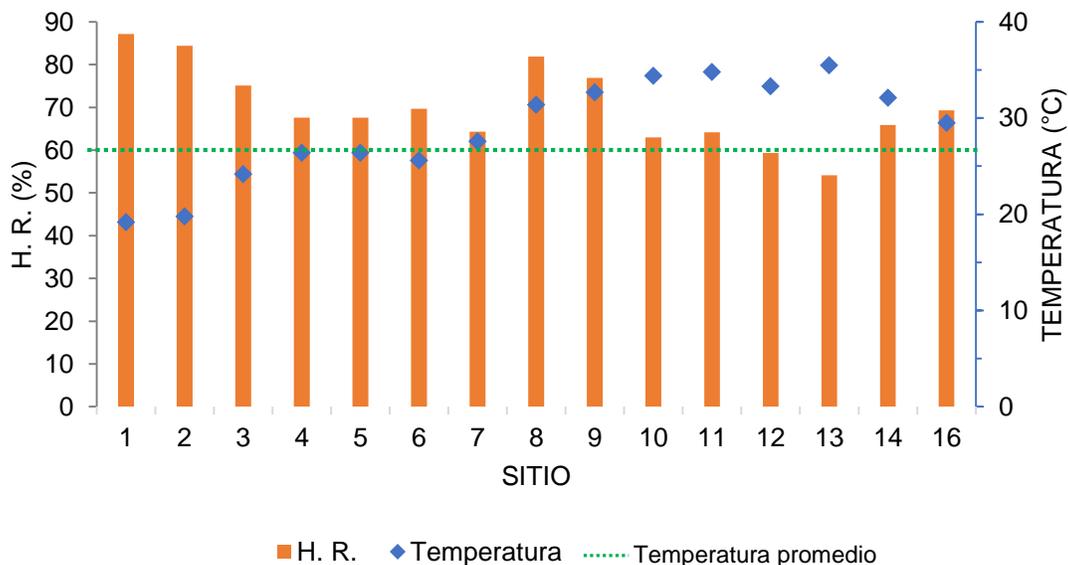
Las relaciones filogenéticas se estimaron empleando el programa MEGA-X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) mediante el método de Máxima Verosimilitud (*Maximum Likelihood*) con 1000 repeticiones bootstrap. El programa MEGA fue utilizado para inferir el modelo de evolución molecular. El modelo que se adecuó a las secuencias fue el de Tamura-Nei (Tamura y Nei, 1993).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Área de estudio

#### 4.1.1. Temperatura y humedad relativa

Los registros de la humedad relativa y la temperatura en los sitios de muestreo mostraron rangos superiores a 18°C e inferiores a 36°C, mientras que la humedad relativa fue mayor a 50% y menor de 90% (Figura 5).



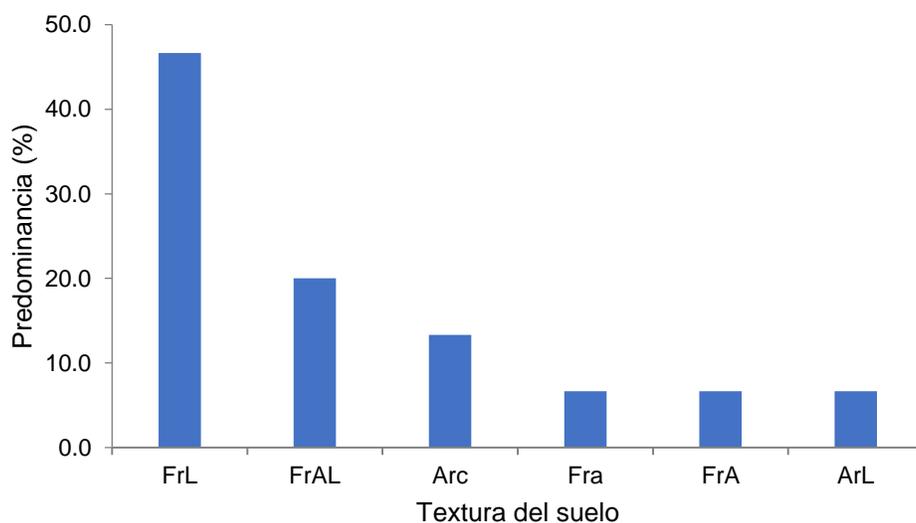
**Figura 5.** Temperatura (°C) y humedad relativa (%) al momento de la visita en la región Grijalva, Tabasco.

Los datos de temperatura de los sitios S1, S2, S3, S4, S5 y S6 fueron inferiores al promedio (26.8°C, SMN, 2019), y los sitios S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14 y S16 fueron superiores a la media. Asimismo, se observó que la humedad relativa fue variable sobre el periodo estando por debajo del 70% en la mayoría de los muestreos. Las condiciones óptimas para el desarrollo de la marchitez del chile son temperaturas de 25 a 30°C y condiciones de humedad (Hausbeck y Lamour, 2004). En este estudio las visitas a los sitios fueron de enero a mayo. Meses en los cuales la temperatura y humedad fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad en 8/16 sitios (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S16). Cabe destacar que, hubo sitios que no presentaron las condiciones de temperatura y humedad relativa para el desarrollo de la enfermedad, sin embargo, se colectaron plantas con síntomas de marchitez (S12, S13, S14). De acuerdo a las condiciones de temperatura y humedad, los meses favorecieron el desarrollo de la

enfermedad en algunos sitios. Las condiciones ambientales pueden ayudar a retardar o acelerar el proceso de infección y desarrollo de algunas enfermedades (Keane y Kerr, 1997; Hardwick, 2002).

#### 4.1.2. Características físico-químicas de los suelos

Con base al análisis del suelo, la textura que predomina en los sitios muestreados es la textura franco limosa (FrL) (46.7%), franco arcillo limosa (FrAL) (20%) y arcillosa (Arc) (13.3%), entre otras (Figura 6).



**Figura 6.** Tipos de textura en el cultivo de chile habanero en la Región Grijalva, Tabasco. FrL = Franco limosa; FrAL = Franco arcillo limosa; Arc = Arcillosa; Fra = Franca; FrA = Franco arenosa; ArL = Arcillo limosa.

La importancia de la textura, se debe a que está relacionada con el contenido de agua, la capacidad de drenaje de los suelos, lo que a su vez influye en la pérdida de nutrientes por lixiviación y mineralización de la MO (Flores *et al.*, 2013). Por ejemplo, los suelos expuestos a grietas carecen de nutrientes o son deficientes, la razón es que la lixiviación es alta en estos suelos y los nutrientes se pierden. Los suelos arcillosos presentan más microporos y retienen más agua que aire, lo que los caracteriza como suelos anegados. Por el contrario, los suelos arenosos suelen ser suelos secos, porque tienen menos poros, pero estos son más grandes permitiendo que el agua drene rápidamente (Amooh y Bonsu *et al.*, 2015). En este estudio, la mayoría de los sitios presentaron suelos francos, los que les permite que no se encharquen cuando es la temporada de lluvias y que no

se desarrollen los patógenos del suelo, y por consiguiente no haya desarrollo de enfermedades.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de las propiedades químicas de los suelos obtenidos de las plantaciones visitadas. El pH fue neutro en el 80% de los sitios muestreados, 13.4% fue moderadamente alcalino y el 6.6% fue moderadamente ácido. El pH del suelo, además de ser esencial en la absorción de nutrientes, también se ha notado que influye en el desarrollo de patógenos y los antagonistas de estos. Alhussaen (2012) encontró que algunos patógenos (*Pythium ultimum* y *F. oxysporum*) se desarrollan en condiciones de pH cercano al neutro, mientras que, Jambhulkar *et al.* (2015), mencionan que en pH ácidos se inhibe la esporulación de *Phytophthora* spp. En nuestro caso en 12 de los 15 sitios el pH fue óptimo para el cultivo de chile y a su vez favoreciente para el desarrollo de *Fusarium*, lo cual explica el mayor número de aislamientos de este género.

**Cuadro 4.** Número de sitios y clasificación de las propiedades químicas del suelo por sitios de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

| Propiedad                                 | Categoría             | Rango     | No. de sitios |
|---|-----------------------|-----------|---------------|
| pH  | Moderadamente ácido   | 5.1-6.5   | 1             |
|   | Neutro                | 6.6-7.3   | 12            |
|   | Medianamente alcalino | 7.4-8.5   | 2             |
| Materia orgánica (%) suelos no volcánicos | Medio                 | 1.6-3.5   | 11            |
|   | Alto                  | 3.6-6.0   | 3             |
|   | Muy alto              | >6.0      | 1             |
| Nt (%)                                    | Pobre                 | 0.05-0.10 | 7             |
|   | Medio                 | 0.11-0.15 | 4             |
|   | Rico                  | 0.16-0.25 | 4             |
| P Bray-Kurtz mg kg <sup>-1</sup>          | Bajo                  | <15       | 0             |
|   | Medio                 | 15-30     | 5             |
|   | Alto                  | >30       | 10            |
| K Cmol (+) kg <sup>-1</sup>               | Bajo                  | 0.2-0.3   | 0             |
|   | Medio                 | 3.6-6.0   | 14            |
|   | Alto                  | >6.0      | 1             |

En materia orgánica (MO) el 73.4% de los sitios presentaron niveles medios, el 20% niveles altos y el 6.6% niveles muy altos. La MO juega un papel importante en el suelo, debido a que, altos contenidos de MO presentan grandes poblaciones de microorganismos antagónicos que pueden reducir el tiempo de supervivencia de los patógenos que causan enfermedades en las plantas (Keane y Kerr, 1997). Por su parte, Jambhulkar *et al.* (2015) mencionan que la MO puede ser efectiva para reducir patógenos como las especies de *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *R. solani*, entre otras, porque hay mayor competencia entre ellos, hay liberación de compuestos fungitóxicos durante la descomposición de la MO o hay una inducción de resistencia sistémica en las plantas. La mayoría de los sitios presentaron niveles de MO medio, por lo que los suelos se mostraron como suelos supresores, es probable que por esta razón no se obtuvieron muchos aislamientos.

El nitrógeno total de los sitios fue pobre para el 46.6%, medio para el 26.7% y solo el 26.7% rico. El N es esencial para el crecimiento de las plantas, y también es determinante en la severidad de las enfermedades. La severidad de una enfermedad causada por parásitos obligados (*Puccinia graminis*, *Erysiphe graminis*, entre otros) es mayor cuando los niveles de N son altos. En cambio, cuando los niveles de N son altos, la severidad disminuye en presencia de parásitos facultativos (*Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*), entre otros (Dordas, 2008). En este caso la mayoría de los sitios se mostraron como pobres en nitrógeno, por lo que este nutriente pudo influir en la incidencia de la enfermedad encontrada en el presente estudio.

Los sitios resultaron tener contenidos altos de fósforo (66.7%) y el 33.3% tener contenidos medios. Niveles altos de fósforo permite evadir algunas enfermedades (Velasco, 1999). En este estudio la mayoría de los sitios presentaron niveles altos de P, lo cual puede explicar la baja incidencia de la marchitez en la región Grijalva, Tabasco. Para el caso del potasio el 93.3% de los sitios presentaron niveles medios de este nutriente y el 6.7% restante fue alto. El potasio al estar relacionado con las funciones metabólicas y el crecimiento permite modificar la resistencia o susceptibilidad a las enfermedades (Velasco, 1999). En algunos casos cuando los niveles de potasio son altos la severidad de las enfermedades fúngicas, bacterianas y el daño por plagas disminuye,

pero no para el caso de las enfermedades causadas por virus (Amtmann *et al.*, 2008; Dordas, 2008).

En general los suelos de los sitios muestreados presentaron niveles medios de materia orgánica y potasio, niveles altos de fósforo y resultaron ser pobres en cuanto a nitrógeno total. Por lo anterior, algunos sitios presentaron marchitez del chile, pero debido al contenido nutrimental del suelo, este pudo influir en el desarrollo de la marchitez del chile.

## **4.2. Manejo agrícola del chile habanero en la subregión Chontalpa-Centro**

### **4.2.1. Superficie cultivada y relieve**

La producción de chile habanero de acuerdo a los productores se realiza en pequeños terrenos que variaban 84 a 3500 m<sup>2</sup>, dado que son pequeños productores y ocasionalmente la producción es sólo para el autoconsumo. Esto es similar a lo reportado por Palma-López y Triano (2007), quienes refieren que los productores de chile de habanero utilizan su producto para auto consumo o para la venta en mercados regionales.

Las siembras de chile habanero se realizaron sobre terrenos planos (100%). Los sitios se encuentran ubicados dentro de la Planicie Costera del Golfo Sur (PCGS), más específicamente en una planicie fluviodeltaica inactiva (PFDI) y planicie fluvial activa (PFA) (Zavala-Cruz *et al.*, 2017).

### **4.2.2. Preparación del terreno**

De acuerdo a los productores, la preparación del suelo es una actividad que no se realiza. El 60% de la producción se realiza directa (labranza cero), y el 40% restante menciona que elabora camas (labranza mínima). Una ventaja de la labranza cero, es mayor humedad en el suelo, que en la labranza convencional (uso de maquinaria agrícola), sin embargo, el desarrollo del sistema radical se ve afectado por la falta de preparación del suelo (Demuner-Molina *et al.*, 2012a, Demuner-Molina *et al.*, 2014b). La labranza cero y mínima permite contenidos de MO mayores que con la labranza convencional (Leyva *et al.*, 2014), lo cual concuerda con los resultados de materia orgánica de los análisis químicos de los sitios al presentar principalmente contenidos medios (Cuadro 4).

#### **4.2.3. Tipo, fechas de siembra y variedad**

El método de siembra adoptado en el cultivo de chile habanero en la región Grijalva es de tipo trasplante, y este método de siembra es el más recomendado para el cultivo de chile, debido a que, permite planificar la siembra, se hace un uso eficiente de la semilla, y que el crecimiento del cultivo sea uniforme (Pardo, 2006; Vázquez-Casarrubias *et al.*, 2011). Este tipo de siembra, al utilizar plántulas se reduce el ataque de patógenos de suelo como *Phytophthora*, *Fusarium* y *Pythium*, entre otros.

Las fechas de siembra fueron variables, el 86% de los productores mencionaron que la siembra fue realizada del 10 de septiembre al 03 de diciembre de 2017, mientras que el 14% lo hizo del 02 de enero al 15 de abril de 2018. Para los agricultores de la región Grijalva, la fecha de siembra es importante, en la mayoría de los sitios se llevó a cabo en la época de tornamil (octubre a febrero), fechas en las que el agricultor busca aprovechar la humedad residual y temperaturas relativamente bajas para climas tropicales, normalmente estas condiciones mitigan los efectos de las enfermedades.

La variedad de chile habanero Orange es la más utilizada por los productores (73%), seguida de la Jaguar (20%) y Chichen Itzá (7%). Las plántulas de chile habanero se obtienen principalmente de Teapa (40%), Huimanguillo (26%), Centro (20%) y Cárdenas (14%). La variedad Jaguar, a pesar de no ser la más utilizada, es recomendada dentro del paquete tecnológico de este cultivo por el INIFAP (2017), porque posee las mejores características genéticas y productivas, además de ser resistente a plagas y enfermedades.

#### **4.2.4. Densidad y arreglo topográfico**

El 80% de los productores respondieron que la densidad de siembra establecida va de 10,000-20,000 plantas ha<sup>-1</sup>, mientras que el 20% restante establecieron su cultivo en densidades que fueron de 20,000 a 24,000 plantas ha<sup>-1</sup>. Los sitios visitados se encuentran dentro de las zonas fisiográficas de Vega de río y Llanura Aluvial, para las cuales las densidades recomendadas son 8,400 y 10,000, respectivamente Pardo

(2006). Las densidades son altas de acuerdo a la zona fisiográfica a la que los sitios muestreados pertenecen. Cuando la densidad de siembra es alta se crea un microclima aumentando la humedad, lo que favorece el desarrollo de patógenos.

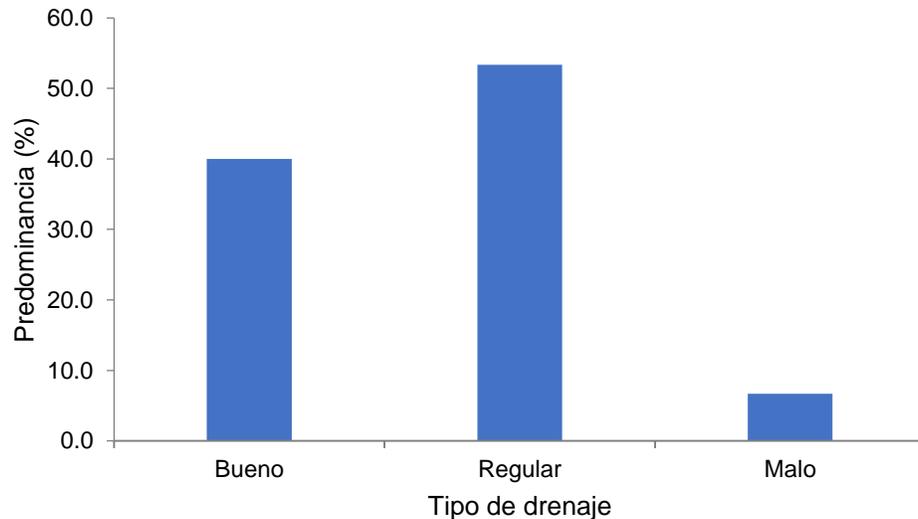
El arreglo topográfico de la plantación es de 1 a 1.5 m entre hileras y 0.3 a 1.0 m entre plantas, y dependerá de la variedad, si esa es arbustiva o muy arbustiva. De acuerdo al arreglo de la plantación los resultados se encuentran dentro de los reportado por Villa *et al.* (2014) y López *et al.* (2018) 1.5 m y 1.2 entre hileras; 0.5 y 0.35 m entre plantas.

#### **4.2.5. Riego y tipo de drenaje**

En cuanto a riego, el 20% de los sitios contaban con sistema de riego, debido a que fueron establecidos en invernadero de tipo malla, mientras que el 80% se registró a campo abierto y de temporal. Los agricultores que no contaban con sistema de riego, mencionaron que ocasionalmente había presencia de lluvias, las cuales proporcionaron riegos de auxilio al cultivo. Por otro lado, contar con sistema de riego y condiciones de invernadero tipo casa de malla permite aumentar la producción, proteger la cosecha de factores adversos como temperaturas extremas, proteger los cultivos de plagas y transmisores de enfermedades precipitación intensa, y hacer uso eficiente del agua (Villa *et al.*, 2014; INIFAP, 2017; López-López *et al.*, 2018). El contar con tecnología para la producción de chile habanero como sistema de riego e invernadero tipo malla, disminuye la presencia de plagas y enfermedades. Por ejemplo, los sitios de temporal, cuando es la época de lluvias, presentan inundaciones que favorecen el desarrollo de patógenos del suelo como especies de *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium*, entre otros, y si no se maneja el riego, estos pueden causar daños al cultivo de chile habanero.

De acuerdo a los productores y a las observaciones se identificó que el 53.3% cuenta con drenaje regular debido a que, realizaron pequeñas zanjas (<0.6 m) para el agua excedente o para disminuir la incidencia de encharcamientos. El 40% disponen de buen drenaje, porque los productores elaboran zanjas profundas (0.6 a 1.5 m), que permiten que el agua drene y el cultivo se mantenga libre de excesos de agua en la superficie, mientras que, el 6.7% cuenta con mal drenaje, considerado así, porque tienen zonas del

terreno con encharcamientos por un tiempo prolongado cuando las lluvias son continuas y abundantes (Figura 7).



**Figura 7.** Tipos de drenajes presentes en el cultivo de chile habanero en la región Grijalva, Tabasco.

El drenaje del suelo es una propiedad importante que si no se maneja puede afectar el crecimiento y desarrollo de las plantas, el transporte de solutos en el suelo, sobre todo puede proveer un ambiente favorable para el desarrollo de enfermedades infecciosas. En este caso se puede decir que los productores tienen un buen manejo del agua en las áreas de cultivo de chile estudiada. Lo que explicaría la baja incidencia de las enfermedades radiculares por infecciones de patógenos de suelo.

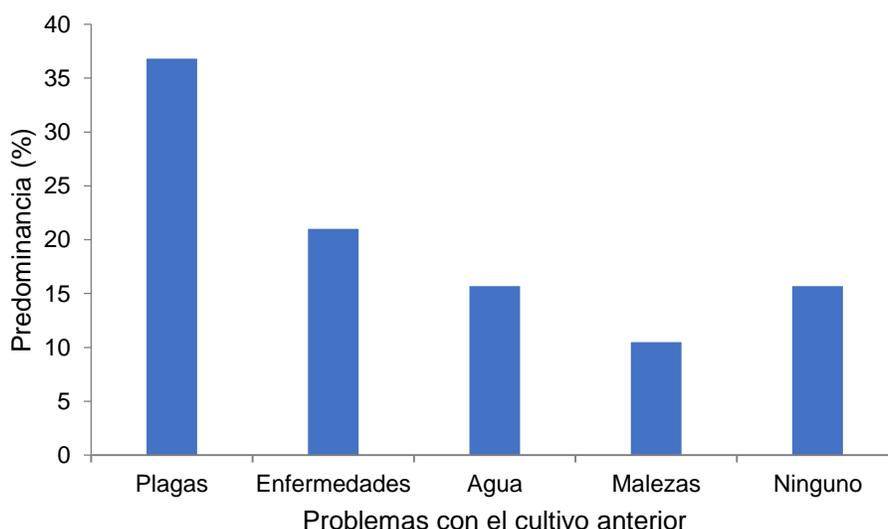
Otros efectos del mal drenaje es que cuando un suelo se inunda existe una deficiencia de oxígeno, el cual cambia el metabolismo de las plantas Jiménez *et al.* (2012).

#### **4.2.6. Cultivos anteriores y problemas**

El 20% de los productores no tenían cultivos anteriores al establecimiento del chile, debido a que, el suelo no era arable, el 46.7% había cultivado plátano, el 13.3% potrero, el 13.3% maíz y el 6.7% cacao. Lo anterior es similar a lo reportado por Palma-López y Triano (2007), quienes mencionan que de 1971 a 1994 los suelos de Tabasco principalmente han sido cultivados por maíz, cacao, coco, caña de azúcar y plátano,

entre otros. Por su parte, Zavala-Cruz *et al.* (2009) indican que el 47.5% de los suelos de Tabasco son utilizados por pastizales, el 10% por cultivos perennes y vegetación secundaria (cacao, coco y acahual) y solo el 1.6% para cultivos semiperennes (plátano y caña de azúcar). Además del uso del suelo para pastizales, se utiliza para el maíz, el café, el frijol, el cacao entre otros, ya sea para autoconsumo o para el mercado local (Zavala-Cruz *et al.*, 2017).

En la Figura 8 se muestran los principales problemas que se presentaron en cultivos anteriores al establecimiento del chile habanero, en la región Grijalva. Los productores respondieron tener más de un problema. Se observó que las plagas son el principal problema (36.8%), seguido de las enfermedades (21%). El 26.5% manifestó que fueron agua y malezas, el resto no presentaron problemas porque el uso del suelo no era agrícola. García-Hernández *et al.* (2009), concuerdan con que los problemas más frecuentes en la producción de alimentos son las plagas y enfermedades.



**Figura 8.** Principales problemas en cultivos anteriores al establecimiento del chile habanero en la región Grijalva, Tabasco.

Cih-Dzul *et al.* (2011) y Pérez-Moreno *et al.* (2014) señalan que, a parte de las plagas y las enfermedades existen otros problemas que afectan la productividad agrícola regional como, el clima y las malezas. Por ejemplo, en Tabasco se ha observado que los principales problemas en cacao, se deben al mal manejo de plagas y enfermedades,

conjuntamente con un mal drenaje en época de lluvias, lo que afecta la productividad de este cultivo (Córdova-Ávalos *et al.*, 2001; Ortiz-García *et al.*, 2015).

#### **4.2.7. Cultivos asociados y circundantes**

El 60% de los productores mencionan que no tenía cultivo asociado al chile habanero, del cual el 13.3% de ese porcentaje corresponde a los sitios con invernadero de tipo malla, en el municipio del Centro. Mientras que, el 40% presentaba cultivos asociados como, plátano en su mayoría, maíz, yuca, frijol, papaya, limón, naranja, y hortalizas como, betabel, cilantro y lechuga. La asociación de cultivos es una práctica que se realiza para el aprovechamiento del suelo, agua y además resulta ser una alternativa para mejorar la economía del campesino y satisfacer las necesidades básicas de su familia. No obstante, hay que saber que cultivos se pueden asociar, ya que no todas las asociaciones suelen resultar económica y ambientalmente competitivas (Cruz *et al.*, 2013; Ruiz-González y Victorino-Ramírez, 2015).

Respecto a los cultivos circundantes al chile habanero, se obtuvo que el 13.3% no tenía cultivos y en su lugar se encontraban casas, el 26.6% tenía cacao, 13.3% potrero, otro 13.3% tenía plátano, y el 33.5% restante contaban con jitomate, calabaza, yuca, maíz, malanga, y frutales (guanábana, naranja y mango). Se notó una amplia diversidad de cultivos circundantes al chile habanero, se puede inferir que son una fuente de diseminación de plagas y enfermedades, dado que se observó que dos sitios presentaron problemas de mosquita blanca y pulgón, porque en su vecindad hortalizas como jitomate y calabaza. Los insectos, además de ser vectores de enfermedades, también son fuente de diseminación de patógenos, junto con el viento, los animales, la herramienta y el agua, entre otros (Agrios, 2005; Lugo *et al.*, 2011).

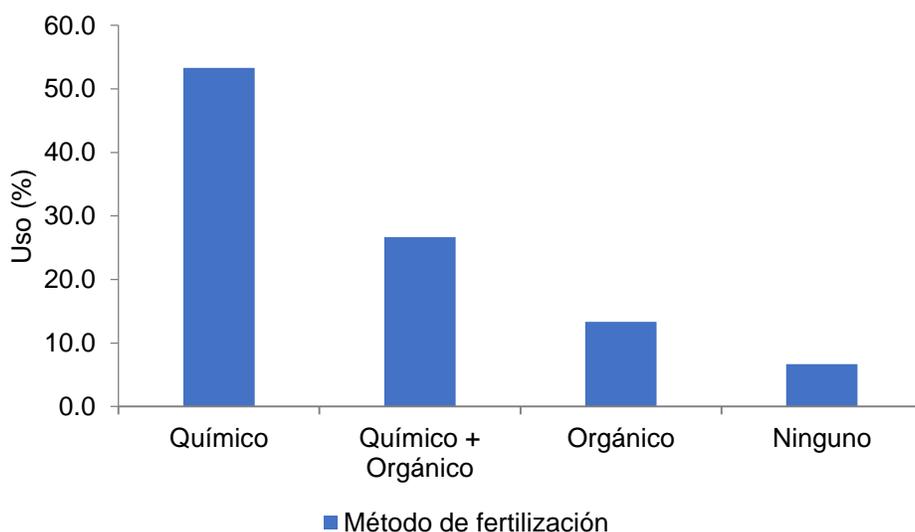
#### **4.2.8. Poda**

Los productores de la región Grijalva indicaron que no realizan poda al cultivo de chile habanero. Apodaca-González *et al.* (2016) mencionan que la poda es una actividad que rejuvenece el cultivo, porque con ella se eliminan los brotes y con esto se mejora el desarrollo de los frutos. No obstante, para evitar posibles infecciones en las heridas por

patógenos Pardo (2009) recomienda aplicar productos como Oxiclورو de sodio o Captan al término de esta actividad.

#### 4.2.9. Fertilización y control de malezas

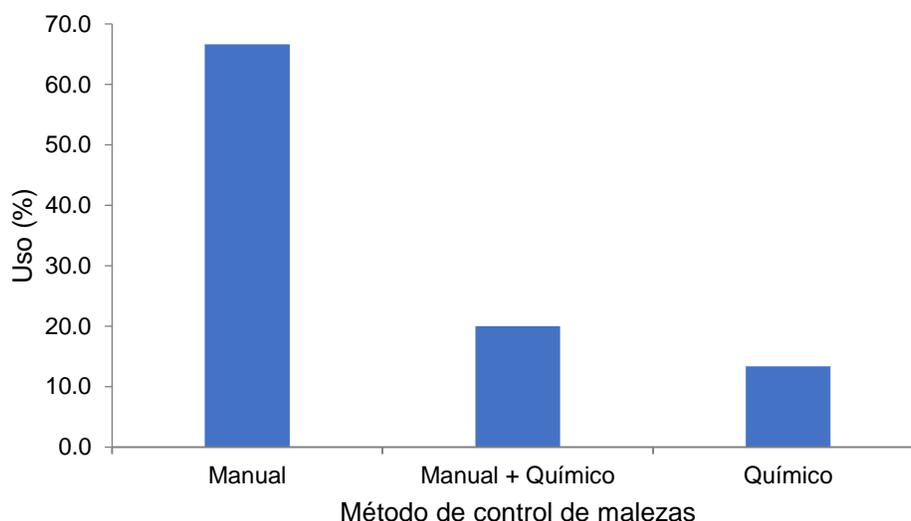
Los productores de la región Grijalva mencionaron hacer uso de la fertilización química (53.3%) con productos como Urea, Triple 17, Fosfato diamónico, Cloruro de potasio, Gro-green. El 13.3% indicó que fertiliza de manera orgánica con sustratos (compostas), y otros de origen comercial como Aitia, Invasore y Algavit. Mientras que, el 26.7% manifestó que combina los dos tipos de fertilización y solo el 6.7% no fertiliza (Figura 9). La combinación de productos químicos y orgánicos además de reducir los costos de producción, favorecen los rendimientos, incluso más de los que se logran con el uso de químicos (Flores-Aguilar *et al.*, 2012). El que los productores de chile habanero fertilicen, permite que las plantas estén vigorosas y que no sean susceptibles al ataque de patógenos.



**Figura 9.** Métodos de fertilización empleados en el cultivo de chile habanero en la región Grijalva, Tabasco.

La presencia de malezas en el cultivo de chile habanero de acuerdo a los productores fue baja. El 66.7% de los productores de chile expresaron que controlan las malezas utilizando el método manual (machete y azadón), el 13.3% hace uso exclusivo de

herbicidas como Paracuat, Glifosato y Metsulfuron Methyl, y el 20% restante combina ambos métodos (Figura 10).



**Figura 10.** Métodos empleados en el control de malezas en la Región Grijalva, Tabasco.

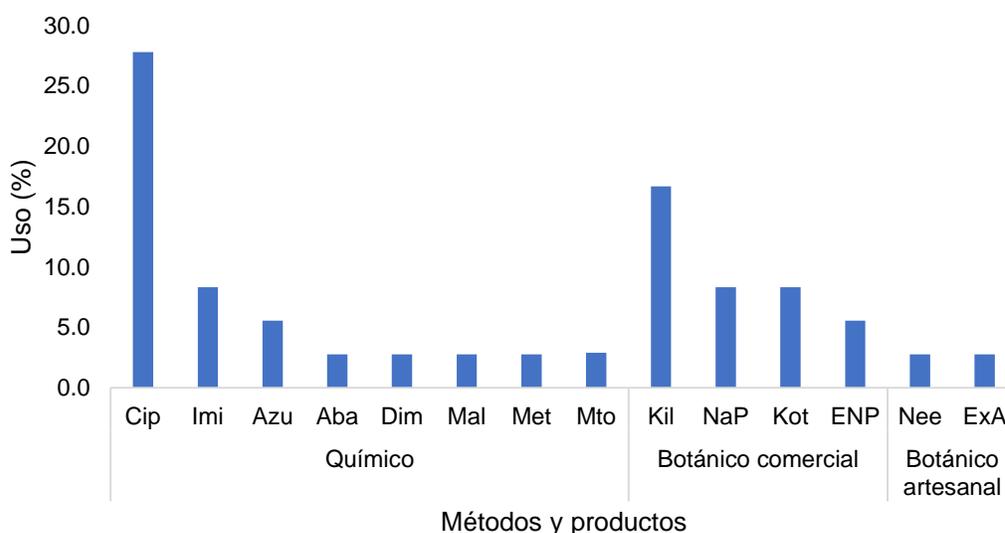
Cuando los productores no realizan el control de malezas, estas compiten con el cultivo de chile habanero por nutrientes, espacio, luz, agua y espacio, además de ser hospederas de plagas y enfermedades, incluso algunas pueden inhibir el crecimiento del chile habanero a través de exudados alelopáticos radicales (Díaz y Pérez, 2005 citado por Pérez-Moreno *et al.*, 2014). Para el control de malezas el INIFAP (2017), recomienda el uso de azadón o machete y si se hace uso de herbicidas conocer el tipo de maleza a controlar, tomar en cuenta si el herbicida requiere humedad en el suelo al momento de la aplicación y considerar la edad del cultivo. Por su parte, el Paracuat controla malezas anuales, mientras que el Glifosato controla tanto malezas anuales como perennes (Rodríguez-Ruiz y Agüero-Alvarado, 2011). Se observó que la presencia de malezas no fue un problema en el cultivo de chile habanero, porque la superficie sembrada es pequeña (<1 ha) lo que les facilita el control.

#### **4.2.10. Plagas y enfermedades**

La presencia de plagas según las respuestas de los productores fueron de los principales problemas que se presentan en el cultivo de chile en la región Grijalva, siendo el ácaro (*Poliphagotarsonemus latus*) la plaga más importante (33%), seguida del pulgón (*Myzus*

*persicae*) (22%) y mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) (15%) entre otras. En efecto, López-López *et al.* (2018) mencionan que en Tabasco el ácaro y la mosquita blanca se presentan en el cultivo de chile habanero. El ácaro además de ser la plaga más importante en este cultivo, también lo es para otros cultivos de importancia económica como: tomate, papa y otras hortalizas. Le siguen los pulgones, la mosquita blanca, los trips, estas varían de acuerdo al tipo de hortaliza, zona de producción y clima (Ruiz *et al.*, 2011; García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza 2012).

Para el control de estas plagas los productores, emplearon productos químicos como: Cipermetrina, Imidaclopid, Azufre, Abamectina, Dimetoato, Malation, Metamidofos y Metomilo y productos botánicos comerciales como: Killmite, Natural Plus, Kotoni y Extra Natural Plus. También aplicaron productos artesanales como el extracto de ajo e infusión de neem; considerados así porque están compuestos por extractos de plantas con acción repelente contra algunas especies de insectos. Los botánicos artesanales son elaborados por el mismo productor. El 40% de los productores utilizaron únicamente el control químico, y otro 40% químico + botánico comercial, el resto se divide entre los que solo utilizó el control botánico comercial y artesanal (Figura 11).



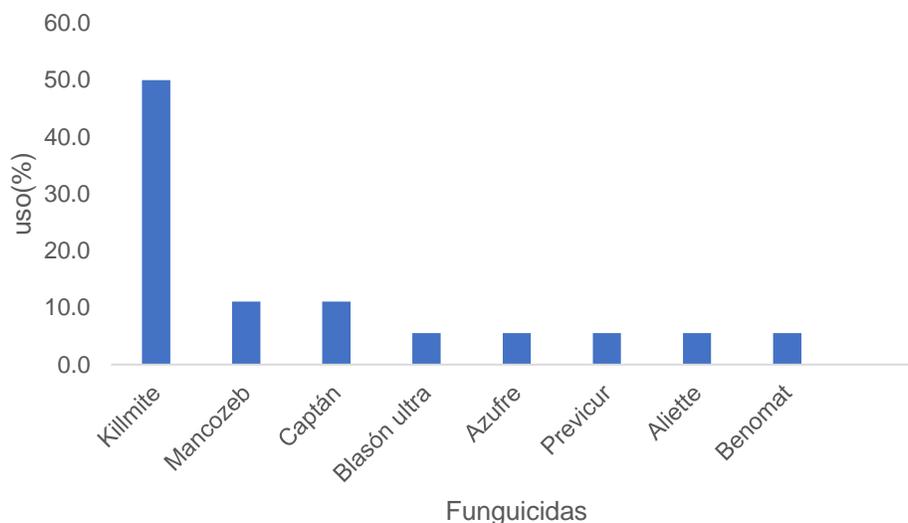
**Figura 11.** Métodos y clasificación de productos por frecuencia de uso en el control de plagas en chile habanero en la región Grijalva, Tabasco.

Debido a la alta incidencia de plagas en muchos cultivos de importancia económica (Guigón-López y González-González, 2007), el control químico es el método más

empleado, por su rápida acción. No obstante, el mal manejo de productos químicos ha dado como resultado que muchas plagas se vuelvan resistentes a uno o varios insecticidas y que las poblaciones de enemigos naturales disminuyan drásticamente (Pérez y Landero, 2009). En el cultivo de chile habanero se observaron incidencias altas de ácaro, mosquita blanca y pulgón, porque al cultivo había hortalizas (calabaza o jitomate). El control de estas plagas con los productos químicos y orgánicos no era eficiente, lo que hacía que estas emigraran al chile habanero.

Referente a las enfermedades, los productores de chile habanero mencionaron que las enfermedades virales y la marchitez del chile son las de mayor frecuencia. Los productores señalan que cuando la presencia de plagas es mayor, las plantas mostraban síntomas de manchas y enchinamientos de las hojas, las plantas no crecían y está ya no producía frutos. Respecto a la marchitez del chile, señalan que esta enfermedad se presenta en época de lluvias y que los síntomas que las plantas presentan son marchitez y que las hojas se van secando. También se mencionó la presencia de antracnosis, el productor con este problema mencionó que en los frutos se observaban manchas negras.

El 73.3% de los productores del chile habanero en la región Grijalva señalaron que realiza un control de enfermedades; de este porcentaje el 33.3% utiliza productos orgánicos, el 13.3% químicos y el 26.7% la combinación de ambos. La aplicación de los productos lo hacen para prevenir y controlar, el uso de estos productos es de uno hasta tres por productor. El 26.7% restante no realiza ningún tipo de control. En la Figura 12 se muestran los productos más utilizados como: Killmite, Mancozeb y Captan. Pardo (2006) menciona el uso de Captan para el control de damping-off o secadera de la plántula del chile, en la etapa de almácigo.



**Figura 12.** Fungicidas empleados en control de enfermedades en la región Grijalva, Tabasco.

La virosis fue la enfermedad que se observó en la mayoría de los sitios, debido a la alta incidencia de plagas. Las plantas presentaban enanismo, enchinamiento y moteado de las hojas. Además de la virosis, en el 40% de los sitios se observaron plantas con síntomas de marchitez. El síntoma de marchitez fue general en los sitios que presentaron la marchitez del chile, solo en un sitio se percibió daño a la raíz, dado que el cultivo ya se encontraba en la etapa final y en algunas plantas la severidad de la marchitez fue mayor. En otros sitios, se observó que las plantas mostraron manchas irregulares de color café a negro en la base del tallo y/o en las partes aéreas. También había plantas que mostraban marchitez y las hojas se secaban. Las plantas cercanas a las que presentaban los síntomas de marchitez se encontraban verdes, vigorosas sin ningún síntoma que indicara que estaban enfermas. En un solo sitio, se observaron manchas en los frutos con una parte hundida y la formación de anillos de color negro.

Para el control de las enfermedades, los productores hacen aplicaciones de los productos antes mencionados. Sin embargo, la mayoría desconoce el tipo de enfermedad, los momentos de aplicación y la dosis de los fungicidas. Por lo que, la aplicación de los productos no siempre controla la enfermedad. Esto hace que los costos de producción sean mayores.

#### **4.2.11. Experiencia y asistencia técnica**

El 33.3% de los productores de chile habanero contestaron que era la primera vez que lo cultivaban y que tenían poco tiempo de conocer su manejo y por ende no contaban con mucha experiencia. El 46.7% indicó contar con experiencia superior a los dos años y solo el 20% con experiencia mayor a 10 años. Sin embargo, para contribuir al conocimiento del manejo de este cultivo, los productores mencionaron que se les otorgó un programa para la siembra de este, el cual les brindaba asesoría técnica por parte de tres extensionistas para el control de plagas y enfermedades, además de algunos productos orgánicos. El no contar con la suficiente experiencia, ha propiciado que algunos productores se desanimen y quieran cambiar el cultivo por alguno más rentable. Como es el caso de los productores que tiene alta incidencia de plagas que, al no tener conocimiento del manejo del ácaro, la mosquita blanca y el pulgón, optan por cambiar de cultivo.

Referente a la asistencia técnica, no todos los productores fueron beneficiados con el programa, el 13.4% no recibe asistencia técnica de ningún tipo y el 86.6% si, cabe mencionar que la información que se les proporciona es general (fertilización, control de plagas y enfermedades). El propósito de dicha asistencia es aumentar los rendimientos y esta se logra mediante asesoría constante en actividades como: proceso de producción, industrialización, distribución y comercialización (Álvarez-Calderón *et al.*, 2017). Aunque los productores solo reciben asistencia general, esta les permite mejorar los rendimientos si no cuentan con la suficiente experiencia en el manejo del chile habanero u otros cultivos.

#### **4.2.12. Manejo agrícola típico del chile habanero en la región Grijalva**

El manejo típico de los pequeños productores de chile habanero en la región Grijalva se realiza en superficies pequeñas, menores a 0.5 ha, en terrenos planos. La siembra es directa, porque los productores generalmente no preparan la tierra. Es de trasplante con plántulas de chile habanero variedad Orange, obtenidas principalmente de un vivero de Teapa. La fecha de siembra se realiza cuando el periodo de lluvias es mayor, o cuando este ha terminado. La densidad de siembra en promedio es menor de 10,000 plantas ha<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>. El arreglo topográfico de la plantación promedio es de 1.3 m entre hileras y 0.6 m entre plantas.

La producción de chile habanero es principalmente a campo abierto de temporal. Los productores cuentan con drenaje de bueno a regular, porque realizan zanjas que permite que el agua no se estanque cuando las lluvias son frecuentes. Antes del establecimiento del chile habanero, el uso del suelo principalmente era de plátano, traspatio, maíz, potrero y cacao, siendo las plagas y enfermedades los principales problemas que más se presentaron. Los productores de chile habanero lo asocian con más de dos cultivos como: plátano, maíz, yuca, papaya, limón, naranja, betabel, cilantro, lechuga. Los cultivos circundantes al chile habanero, son: cacao, potrero, plátano, jitomate, calabaza, yuca, maíz, malanga, guanábana, naranja y mango. La poda es una actividad que no se realiza por los productores.

La fertilización del chile habanero es principalmente mediante el uso de fuentes inorgánicas como la Urea y el Triple 17, entre otros. Algunos utilizan fuentes orgánicas comerciales como: Aitia, Invasore, Algavit y sustratos. También hay quienes hacen uso de ambos tipos de fertilización. La presencia de malezas fue poca y esta no fue un problema, ya que son controladas con el uso de machete, y muy pocos productores utilizaban herbicidas como Paracuat, Glifosato, algunos combinaban ambos métodos.

Las principales plagas que se presentaron fueron: el ácaro (*Poliphagotarsonemus latus*), el pulgón (*Myzus persicae*) y la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*). Para su control, se hacen aplicaciones de insecticidas inorgánicos como Cipermetrina e Imidaclopid, entre otros, y como insecticidas orgánicos aplican Killmite, Natural plus, Kotoni y otros.

La principal enfermedad que se presenta es viral debido a la alta incidencia de plagas. La marchitez del chile es una enfermedad que se presenta principalmente en época de lluvias. Para el control de las enfermedades los productores aplican varios productos orgánicos e inorgánicos como: Killmite, Mancozeb y Captan, entre otros. La mayoría de los productores hacen aplicaciones de más de un producto para prevenir o curar las enfermedades. La mayoría de los productores de chile habanero reciben asistencia técnica general (fertilización, plagas, enfermedades y malezas).

### **4.3. Aislamiento y pruebas de patogenicidad**

#### **4.3.1. Visitas a las plantaciones y descripción de síntomas**

La etapa del cultivo de chile habanero al momento de la visita fue diferente. Los sitios S10 y S12, se encontraron en etapa de crecimiento vegetativo, los sitios S1, S2, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S16 se encontraron en etapa de desarrollo del fruto, los sitios S3 y S14 en etapa de maduración y con más de un corte, y los sitios S11 y S13 en etapa final de desarrollo del cultivo. La incidencia por sitio de plantas de chile con síntomas de marchitez del chile en los municipios de Cárdenas, Cunduacán, Huimanguillo y Centro fue menor al 10%. La distribución de la enfermedad fue al azar, es decir, en el terreno no se mostraron manchones, más bien se observaron plantas distribuidas esporádicamente en diferentes áreas del terreno.

En la Figura 13 se muestra una planta representativa que fue colectada y los síntomas de la marchitez al momento de la visita en los municipios de Cárdenas, Cunduacán, Huimanguillo y Centro, con diferentes avances de la enfermedad.



**Figura 13.** Síntomas por municipio. (A) Cárdenas S2 planta con hojas marchitas y flácidas; (B) Cunduacán S3 planta con hojas marchitas y flácidas; (C) Huimanguillo S16 planta marchita y hojas secas; (D) Centro S13 planta muerta por marchitez, planta seca.

La planta del municipio de Cárdenas presentaba marchitez total de la planta, pero no se observaron daños en la base del tallo ni en las raíces (Figura 13A), la distribución de este tipo de plantas era al azar y no se notaron manchones. La planta de Cunduacán mostraba marchitez y algunas hojas estaban empezando a cambiar de verde a café claro, las plantas cercanas no mostraban los mismos síntomas (Figura 13B). La planta de Huimanguillo mostró una marchitez más severa; las hojas cambiaron de verde a café claro, se observaban manchas irregulares de color café oscuro en la base del tallo y en algunos casos en las partes aéreas de la planta (Figura 13C). La planta del municipio de Centro, se encontraba en la etapa final del cultivo, razón por la cual, la planta de chile habanero se mostraba de color café claro, el interior del tallo estaba completamente seco y hueco, y se observó pudrición en las raíces (Figura 13D).

#### 4.3.2. Patógenos aislados

De los 15 sitios visitados, el 40% mostraron la presencia de plantas con marchitez mismas de las que se hicieron aislamiento de hongos y oomicetes en caja con medio de cultivo, y en el 60% restante no se colectaron plantas con síntomas de marchitez, porque en esos sitios la enfermedad no se presentó, quizá porque en los meses de las visitas en los sitios la temperatura, humedad relativa y precipitación no fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad. En el Cuadro 5 se muestran los detalles de los aislamientos obtenidos de plantas de chile habanero con síntomas de marchitez colectadas en la región Grijalva Tabasco.

**Cuadro 5.** Descripción de los aislamientos obtenidos de plantas de chile habanero con síntomas de marchitez en la región Grijalva, Tabasco.

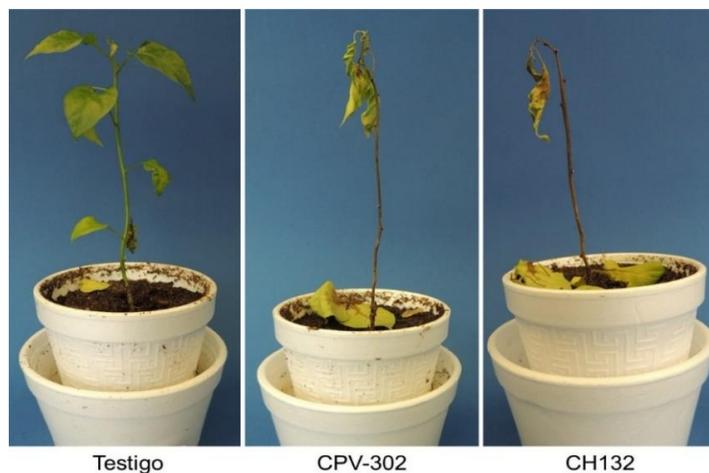
| Sitio | Clave de aislamiento en colección | Organismo aislado       |
|-------|-----------------------------------|-------------------------|
| S2    | CH2                               | <i>Fusarium</i> sp.     |
| S3    | CH3                               | <i>Fusarium</i> sp.     |
| S7    | CH7                               | <i>Fusarium</i> sp.     |
| S14   | CH14                              | <i>Fusarium</i> sp.     |
| S16   | CH16                              | <i>Fusarium</i> sp.     |
| S13   | CH132                             | <i>Phytophthora</i> sp. |

Del 40% de los sitios que presentaron marchitez se obtuvieron cinco aislamientos del género *Fusarium* (33.3%) y uno de *Phytophthora* (6.7%). Esto es similar a lo reportado por Guigón-López y González-González (2001) quienes encontraron esporádicamente a *P. capsici* causando marchitez en plantas de chile en Villa López Chihuahua. Vásquez *et al.* (2009), Lozano *et al.* (2015) y Pérez-Acevedo *et al.* (2017) reportaron aislar, ocasionalmente a *P. capsici* y principalmente a especies del género *Fusarium*, *Rhizoctonia*, entre otros. Esto puede ser posible porque en el suelo habita una gran diversidad de microorganismos como hongos (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*), oomicetes (*Pythium* spp., *Phytophthora* spp.), bacterias, entre otros. Algunos con la capacidad de causar enfermedades con síntomas similares a los que se presentan por *P. capsici* (Black *et al.*, 1991).

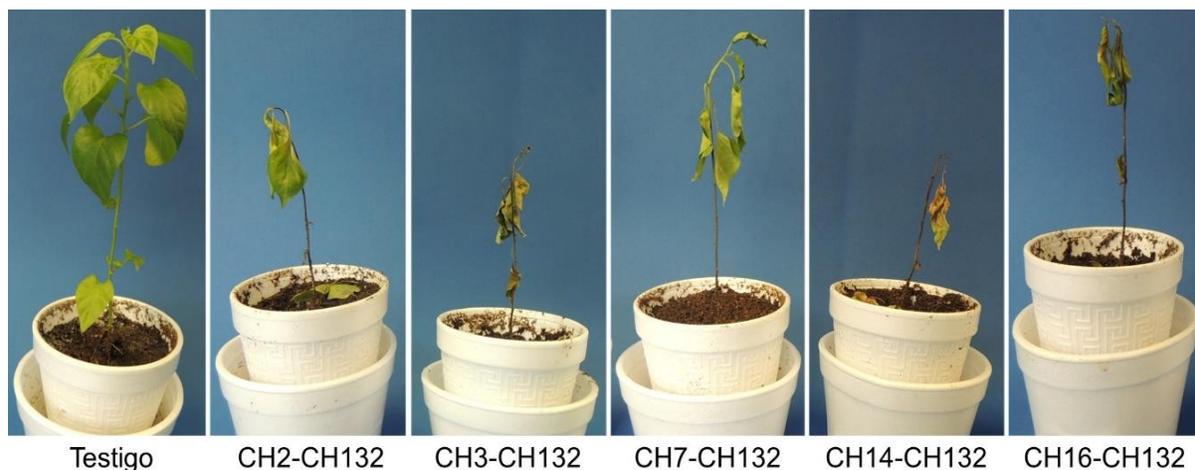
#### **4.3.3. Prueba de patogenicidad**

Las pruebas de patogenicidad mostraron que el aislamiento CH132 obtenido de Acachapan y Colmena, Centro resultó ser patogénico sobre las plántulas de chile habanero causando marchitez y necrosis en la base del tallo y muerte de la plántula; síntomas similares a lo reportado por Lozano *et al.* (2015) y Smith *et al.* (2019).

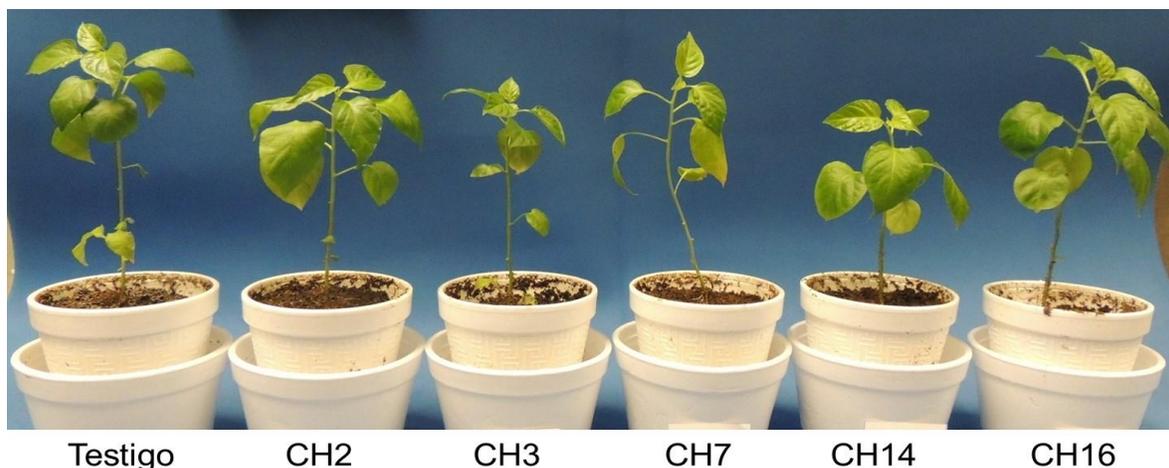
A los 16 ddi fueron más evidentes los síntomas de marchitez, necrosis del tallo y muerte de las plántulas de chile habanero, en los tratamientos que fueron inoculados con *P. capsici*, independientemente si fueron solos (Figura 14) o combinados con *Fusarium* spp. (Figura 15). Mientras que, los tratamientos de *Fusarium* solos no mostraron síntomas y las plantas se mostraron verdes y vigorosas igual al testigo, durante todo el experimento, (Figura 16).



**Figura 14.** Daño a los 16 ddi por *P. capsici* aislada de chile habanero en Morelia, Michoacán (CPV-302) y *Phytophthora* sp. (CH132) aislada de chile habanero en Centro, Tabasco.



**Figura 15.** Daño a los 16 ddi, por los tratamientos de *Fusarium* spp. combinados con *Phytophthora* sp. aislada de chile habanero en Centro, Tabasco.

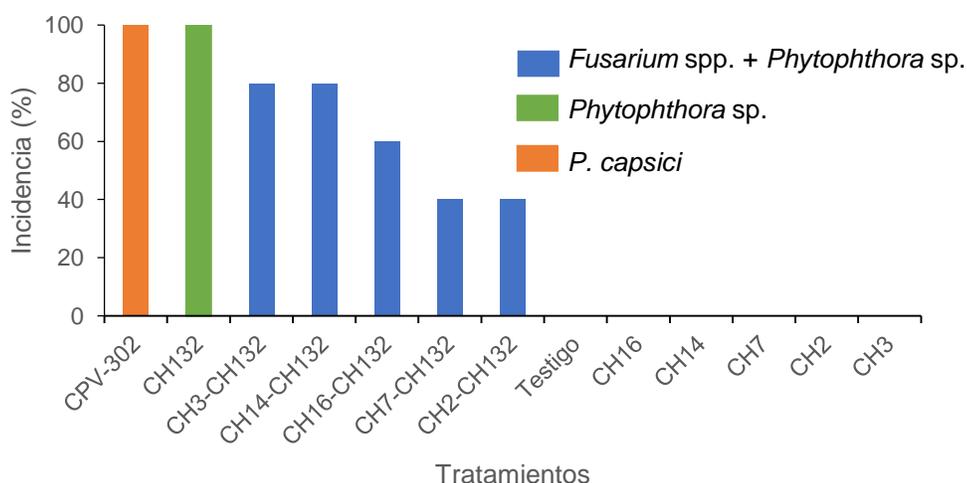


**Figura 16.** Aspecto de las plantas inoculadas con *Fusarium* spp. a los 16 ddi.

Por otra parte, los síntomas y la aparición de estos se ha visto que son variables, debido a que pueden estar influenciados por factores ambientales como; la temperatura, humedad, precipitación, viento y luz, entre otros (Agrios, 2005). De las plántulas de chile habanero que mostraron síntomas de marchitez se logró aislar únicamente a *Phytophthora*. Con esto podemos decir que los postulados de Koch se cumplieron.

#### 4.3.4. Incidencia

En condiciones controladas los tratamientos de *P. capsici*, *Phytophthora* sp. y *Fusarium* spp. + *Phytophthora* sp. mostraron síntomas de marchitez. En la Figura 17 se muestran los porcentajes de la incidencia por tratamiento a los 10 ddi. Los tratamientos de *Phytophthora* (CPV-302 y CH132) lograron el 100%, mientras que, los tratamientos de *Fusarium* spp. + *Phytophthora* sp. lograron incidencias del 40, 60 y 80%. Los tratamientos de *Fusarium* spp. solos en las plántulas de chile habanero no causaron marchitez, por lo tanto, la incidencia fue cero. Sin embargo, si se observó que influyó en la incidencia de los tratamientos de *Fusarium* spp. + *Phytophthora* siendo menores que los tratamientos CH132 y CPV-320 de *Phytophthora* cuando se inocularon solos. En otro estudio, Vásquez *et al.* (2009) encontraron resultados de incidencia similares, el 100% de incidencia fue a los 12 ddi con la inoculación de *P. capsici*.

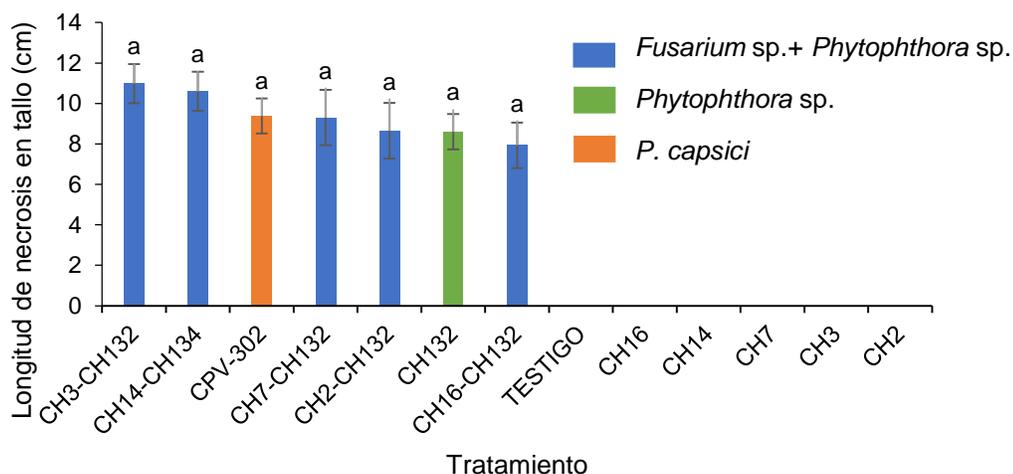


**Figura 17.** Incidencia de la marchitez por tratamientos en plántulas de chile habanero 10 ddi.

Existen especies de *Fusarium* no patogénicas o formas especiales que han sido probadas para reducir la incidencia y severidad de enfermedades. Dentro de las cuales se encuentran *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. oxysporum* 47, *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Díaz *et al.*, 2005; Silvar *et al.*, 2009; Veloso y Díaz, 2012). Silvar *et al.* (2009), indican que la inoculación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 48 h previas a la inoculación de *P. capsici* brindaron protección a las plantas de chile (*C. annuum*). En este estudio, los porcentajes de incidencia de los tratamientos que previamente fueron inoculados con las especies de *Fusarium* fue más baja que los que no lo fueron, quizás, porque las cepas de *Fusarium* al no ser patogénicas del chile ayudaron a que la incidencia causada por *Phytophthora* sp. fuera menor. Por otra parte, el método y el tiempo previo a la inoculación de *Fusarium*, pudo influir en la expresión de los síntomas de la enfermedad.

#### 4.3.5. Longitud de necrosis en tallo

En la Figura 18 se muestra la longitud de necrosis en tallo. Los tratamientos de *Fusarium* no mostraron necrosis en tallo. En tanto que, en los tratamientos de *Phytophthora* sp., *Fusarium* spp.+ *Phytophthora* sp. y *P. capsici* no se encontró diferencia estadística en la longitud de necrosis en tallo. Los tratamientos CH3-CH132, CH14-CH132 mostraron la mayor longitud (10.9 y 10.6 cm respectivamente), mientras que, la longitud de los tratamientos CPV-302 y CH132 fue de 9.3 y 8.6 cm respectivamente.



**Figura 18.** Longitud de necrosis en tallo (cm) por tratamientos 10 ddi. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p < 0.05$ ).

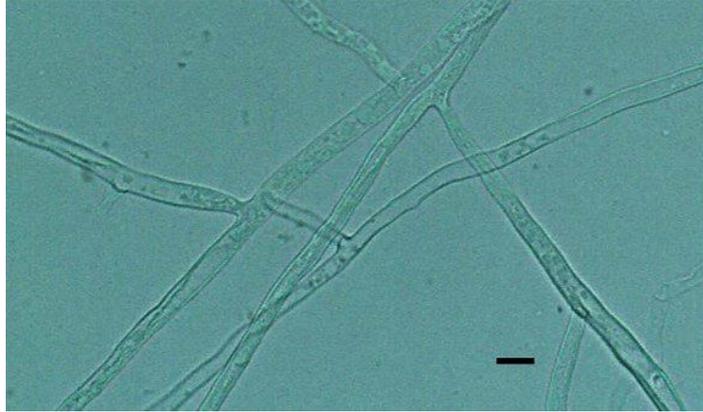
En un estudio realizado por Dandurand y Menge (1992), en cítricos, encontraron que la inoculación de *F. solani* con *P. parasitica* o *P. citrophthora* en algunos casos aumentó la enfermedad o no tuvo ningún efecto. Por ejemplo, cuando se inoculó primero a *F. solani* y después a *P. parasitica* o a *P. citrophthora* la pudrición de la raíz incrementó. Mientras que, cuando la inoculación fue simultánea la pudrición de la raíz no aumentó. Aunque en este estudio no se evaluó el daño a la raíz, se observó que con la pre-inoculación de las especies de *Fusarium* para algunos tratamientos aumentó la longitud de la necrosis, incluso estos fueron mayores que los tratamientos de *Phytophthora* solos. Por lo que podemos decir que, las especies de *Fusarium* podrían disminuir la incidencia, sin embargo, algunas especies pueden aumentar la severidad de los síntomas.

Por otra parte, Veloso y Díaz (2012), encontraron que cuando las plantas de Chile son pre-inoculadas con una suspensión de conidias de *F. oxysporum* 47 (Fo47) y después se inoculan con zoosporas de *P. capsici* en el suelo, la severidad de la enfermedad en las plantas se redujo. Sin embargo, cuando la inoculación de *P. capsici* se realizó directamente en las hojas, el hongo solo protegió a las plantas las primeras 48 h reduciendo la severidad ya que a las 72 h la severidad fue mayor. Con esto podemos decir que algunas especies de *Fusarium* tiene la capacidad de brindarle protección a plantas, sin embargo evidenciar estas propiedades de *Fusarium* no es fácil, ya que puede depender del método de la pre-inoculación y el sitio de la inoculación. En este estudio como ambas inoculaciones previas de *Fusarium* fueron en el tallo de las plántulas de Chile habanero, la expresión de los síntomas de marchitamiento no fue inmediata las primeras horas.

#### 4.4. Caracterización morfológica de *Phytophthora*

##### 4.4.1. Tipo micelio y dimensiones

El micelio fue cenocítico, liso y grueso con un diámetro promedio de 5.44  $\mu\text{m}$  y un rango de 4.13-7.93  $\mu\text{m}$  (Figura 19).



**Figura 19.** Micelio cenocítico, liso y grueso de 4  $\mu\text{m}$  .de la cepa CH132. Barra 10  $\mu\text{m}$ .

##### 4.4.2. Tipos de esporangios y dimensiones

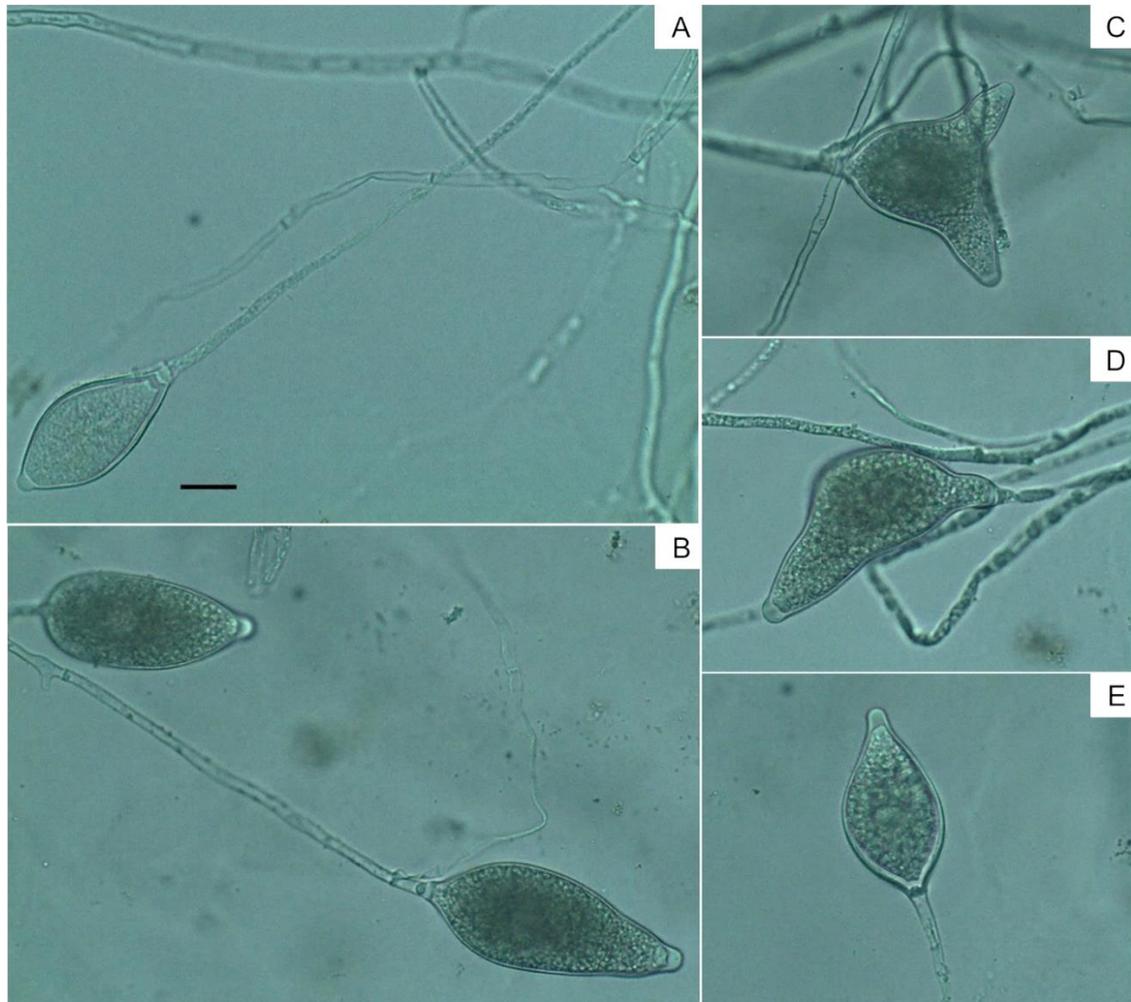
En el Cuadro 6 se observan las dimensiones promedio de 50 esporangios, papila y longitud del pedicelo del aislamiento CH132.

**Cuadro 6.** Características morfológicas cuantitativas de CH132 aislada de Chile habanero (promedio de 50 estructuras asexuales).

| Esporangio    |              |             | Papila          |          |           | Pedicelo |              |
|---------------|--------------|-------------|-----------------|----------|-----------|----------|--------------|
| Promedio      | Intervalo    | Intervalo   | Promedio        | Promedio | Intervalo | Promedio | Intervalo    |
| Largo / Ancho | Largo        | Ancho       | R Largo / Ancho |          |           |          |              |
| 73.72x37.30   | 49.44-103.65 | 26.40-78.60 | 2.02            | 4.91     | 2.7-6.78  | 189.80   | 43.24-589.60 |

NOTA: Dimensiones ( $\mu\text{m}$ ); n=50.

Los esporangios fueron caducos, papilados, con formas variadas de las que destacan la forma obpiriforme, limoniforme, obpiriforme alargado, formas distorsionadas y bipapilados (Figura 20).



**Figura 20.** Características asexuales de CH132. (A) esporangio limoniforme papilado con pedicelo largo; (B) esporangio limoniforme-obpiriforme papilado con pedicelo largo; (C) esporangio bipapilado; (D) esporangio con forma distorsionada papilado; (E) esporangio obturbinate alargado papilado. Barra 20  $\mu\text{m}$ .

#### 4.4.3. Tipo de compatibilidad y dimensiones de la estructura sexual

Se determinó que la cepa CH132 es heterotálica, con tipo de compatibilidad A2, porque formó oosporas con PVM 161.2 (A1). El anteridio fue anfígino y la oospora plerótica (Figura 21). En el Cuadro 7 se describen las características promedio de 50 estructuras del oogonio, el anteridio y la oospora.



**Figura 21.** Órganos sexuales del cruzamiento de PVM 161.2 (A1) y CH132 (A2). Barra = 10  $\mu$ m.

**Cuadro 7.** Dimensiones de estructuras sexuales del área de contacto entre CH132 (*Phytophthora*) aisladas de Chile y confrontadas con *P. capsici* PVM 161.2 A1.

|          | Oogonio |       |        | Anteridio |       |        | Oosporas |       |        |
|----------|---------|-------|--------|-----------|-------|--------|----------|-------|--------|
|          | Ancho   | Largo | Grosor | Ancho     | Largo | Grosor | Ancho    | Largo | Grosor |
| Promedio | 27.80   | 29.52 | 1.51   | 11.58     | 12.61 | 0.97   | 24.57    | 25.04 | 3.07   |
| Mínimo   | 17.17   | 18.37 | 0.65   | 7.8       | 9.3   | 0.72   | 16.2     | 16.71 | 1.94   |
| Máximo   | 35.06   | 37.12 | 2.28   | 16.66     | 17.06 | 1.44   | 30.76    | 31.14 | 4.52   |

NOTA: Dimensiones ( $\mu$ m); n=50.

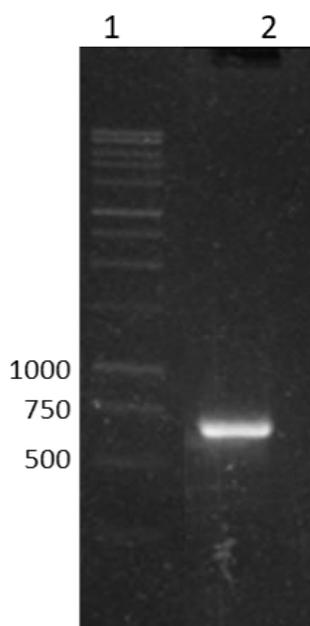
Las características morfológicas asexuales de micelio, esporangios, papila, pedicelo y sexuales oospora antes mencionadas, son similares a lo reportado para *Phytophthora capsici* por Stamps *et al.* (1990), Erwin y Ribeiro (1996) y Martin *et al.* (2012).

#### 4.5. Caracterización molecular de *Phytophthora*

##### 4.5.1. Electroforesis en geles de agarosa

La amplificación del ADN mediante PCR, con los oligonucleótidos COI-1F y COI-1R produjo un producto de PCR de aproximadamente 272 pb (Figura 22) para el aislamiento

CH132 de Acachapan y Colmena, Centro. El tamaño de los productos de PCR son similares a lo reportado por Choi *et al.* (2015) con el uso de COI.

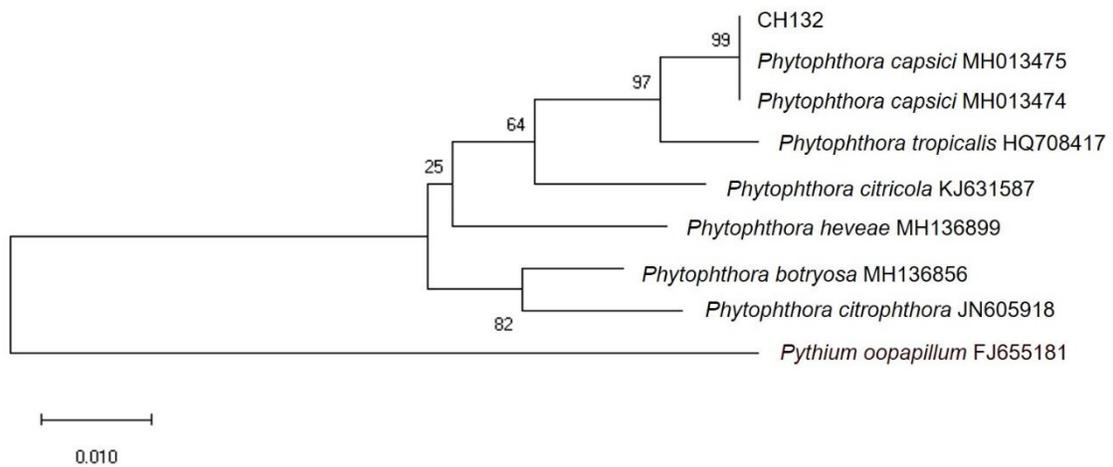


**Figura 22.** Electroforesis en gel de los productos de PCR amplificados de CH132 (727 pb), usando el gen COI. Línea 1; marcador de peso molecular 1Kb (DNA ladder Promega), Línea 2; CH132.

#### 4.5.2. Análisis filogenético

El análisis de la secuencia del gen mitocondrial COI demostró que el aislado CH132 presentaba un 100% de similitud con las especies de *P. capsici*. El árbol filogenético reconstruido con el programa MEGA-X ubica a las secuencias en dos grupos para las especies de *Phytophthora*. Como grupo externo se incluyó a *Pythium oopapillum*. Los resultados moleculares mostraron la similitud de CH132 con *P. capsici* indicando que estas especies son análogas, y que *P. capsici* y *P. tropicalis* tienen un ancestro en común más reciente (Figura 23).

Estos resultados son similares y congruentes con la información obtenida en el análisis realizado en BLAST (Genbank). El cual indica que la identidad del aislamiento CH132 es del 100% con *P. capsici* (AY129166, MH136864, MH013474, MH013475 y HQ261267) y 100% con *P. mexicana* (MH136933).



**Figura 23.** Análisis filogenético bajo el criterio de máxima verosimilitud de *Phytophthora capsici* y otras especies de *Phytophthora* del clado 2 con *Pythium oopapillum* como grupo externo. Los valores bootstrap (1000 repeticiones) de máxima verosimilitud en porcentajes se indican en los puntos de la rama. La barra de la escala indica 0.010 sustituciones por sitio por rama.

Esto confirmó la presencia de *P. capsici* en el cultivo de chile habanero. Como lo insinúa López-López *et al.* (2018) en trabajo sobre fechas de trasplante y productividad del chile habanero con riego por goteo.

## V. CONCLUSIONES

- Los pequeños productores del cultivo de chile habanero en la región Grijalva, Tabasco realizan un manejo con base a su experiencia, y al aporte de asesores externos. De las actividades que realizan, algunos productores convergen en algunas prácticas como: la siembra directa, la variedad cultivada, el manejo de drenaje, el control de plagas, la fertilización, el control de malezas. Para el control de la marchitez del chile, los productores realizan aplicaciones de funguicidas sin conocer cuál era el patógeno responsable.
- Mediante la caracterización morfológica de las estructuras reproductivas sexuales y asexuales se determinó que *P. capsici* es el agente causal de la marchitez.
- El uso del gen COI confirmó que el agente patogénico asociado a la marchitez del chile habanero en el municipio de Centro, Tabasco es el oomicete *P. capsici*. Siendo este el primer reporte de la presencia de *P. capsici* atacando chile habanero en Tabasco.

## VI. RECOMENDACIONES

- Los resultados derivados de este trabajo constituyen un punto de partida para estudios posteriores para la búsqueda de un mayor número de aislamientos y determinar el área infestada con este patógeno en las zonas productoras de chile de la subregión Centro.
- Conocer si existe patogenicidad cruzada de los aislamientos de *P. capsici* de chile habanero con las especies de *P. capsici* reportadas en el cultivo de cacao y viceversa.
- Comprender el riesgo que representa el patógeno en las zonas productoras de chile habanero y la zona cacaotera.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aceves N., L. A., J. F. Juárez L., D. J. Palma L., R. López L., B. Rivera H., J. A. Rincón R., R. Morales C., R. Hernández A., y A. Martínez S. 2008. Estudio para determinar zonas de alta potencialidad del cultivo del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en el estado de Tabasco. Tomo III. Tabasco. 33p.
- Acosta-Pérez, J. A., C. F. Ortiz-García, J. M. Zaldívar-Cruz, M. Rodríguez-Cuevas, C. C. Bautista-Muñoz, y C. de la C. Castillo-Aguilar. 2012. Identificación del agente causal e importancia de la gomosis en la zona citrícola de Huimanguillo, Tabasco, México. *Universidad y Ciencia* 28: 245-258.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 5th ed. Academic Press. New York, USA. pp: 96-100.
- Albañil, J. J. A., L. A. Mariscal, A., T.O. Martínez, M., J. L. Anaya, L., H. C. Cisneros, L., y H. A. Pérez, R. 2015. Estudio regional de fitopatógenos asociados a la secadera del chile en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp.* 11: 2191-2197.
- Álvarez-Calderón, N., J. I. Olvera-Hernández, J. D. Guerrero-Rodríguez, y E. Aceves-Ruíz. 2017. Asistencia técnica y capacitación para la seguridad alimentaria mediante el traspaso. *Agroproductividad* 10:64-69.
- Amooh, M. K., and M. Bonsu. 2015. Effects of soil texture and organic matter on evaporative loss of soil moisture. *Journal of Global Agricultura and Ecology* 3: 152-161.
- Amtmann, A., S. Troufflard, and P. Armengaud. 2008. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. *Physiologia Plantarum* 133: 682-691.
- Anaya-López, J. L., M. M. González-Chavira, E. Villordo-Pineda, R. Rodríguez-Guerra, R. Rodríguez-Martínez, R. G. Guevara-González, L. Guevara-Olvera, V. Montero-Tavera, e I. Torres-Pacheco. 2011. Selección de genotipos de chile resistentes al complejo patogénico de la marchitez. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2: 373-383.
- Antonious, G. F., L. Lobel, T. Kochhar, T. Berke, and R. L. Jarret. 2009. Antioxidants in *Capsicum chinense*: Variation among countries of origin. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 44: 621-626.
- Apodaca-González, C., J. P. Juárez-Sánchez., B. Ramírez-Valverde, y R. Figueroa-Sterquel. 2016. El cultivo de *Coffea arabica* L. por pequeños productores. *Agroproductividad* 9: 21-25.
- Baenas, N., M. Belović, N. Ilic, D. A. Moreno, and C. García-Viguera. 2018. Industrial use of pepper (*Capsicum annuum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages. *Food Chemistry* 274: 872-885.
- Bàrberi, P. 2004. Métodos preventivos y culturales para el manejo de malezas. *In* Manejo de malezas para países en desarrollo Addendum I. Labrada, R. (ed). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) Roma.

Consultado el día 15 de marzo de 2019 en <http://www.fao.org/3/y5031s/y5031s0e.htm#bm14>

- Barnett, H. L., and B. B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3er edición. Burgess Publishing Company. Minnesota, USA. 241p.
- Birch, P.R.J., and S. C. Whisson. 2001. *Phytophthora infestans* enters the genomics era. *Molecular Plant Pathology* 2: 257–263.
- Black, L. L., S. K. Green, G. L. Hartman, and J. M. Poulos. 1991. Pepper diseases: A field guide. Asian Vegetable Research and Development Center. USA 98p.
- Blair, J. E., M. D. Coffey, S. Y. Park, D. M. Geiser, and S. Kang. 2008. A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology* 45:266-277.
- Bosland, P. W., and E. J. Votava. 2012. Peppers: vegetable and spice capsicums. 2da ed. Crop production science in horticulture series. CAB International. USA. 230p.
- Botero, D., I. Valdés, M-J. Rodríguez, D. Henao, G. Danies, A. F. González, and S. Restrepo. 2018. A genome-scale metabolic reconstruction of *Phytophthora infestans* with the integration of transcriptional data reveals the key metabolic patterns involved in the interaction of its host. *Frontiers in Genetics* 9: 1-11.
- Brasier, C. M., and E. M. Hansen. 1992. Evolutionary biology of *Phytophthora*. Part II: Phylogeny, Speciation, and Population Structure. *Annual Review of Phytopathology* 30: 173-200.
- Carrizo G., C., M. H. J. Barfuss, E. M. Sehr, G. E. Barboza, R. Samuel, E. M. Moscone, and F. Ehrendorfer. 2016. Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Annals of Botany* 118: 35–51.
- Choi, Y, G. Beakes, S. Glockling, J. Kruse, B. Nam, L. Nigrelli, S. Ploch, H. Shin, R. G. Shivas, S. Telle, H. Voglmayr, and M. Thines. 2015. Towards a universal barcode of oomycetes – a comparison of the *cox1* and *cox2* loci. *Molecular Ecology Resources* 15:1275–1288.
- Cih-Dzul, I. R., J. L. Jaramillo-Villanueva, M. A. Tornero-Campante, y R. Schwentesius-Rindermann. 2011. Caracterización de los sistemas de producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el estado de Jalisco, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 501-512.
- Córdova-Ávalos, V., M. Sánchez-Hernández, N. G. Estrella-Chulím, A. Macías-Layalle, E. Sandoval-Castro, T. Martínez-Saldaña, y C. F. Ortiz-García. 2001. Factores que afectan la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el ejido Francisco I Madero del Plan Chontalpa Tabasco, México. *Universidad y Ciencia* 34: 93-100.
- Coscollá, R. 1980. Incidencia de los factores climáticos en la evolución de plagas y enfermedades de las plantas. *Boletín Servicio Plagas* 6:123-139.
- Coulibaly, K., R. A. Aka, B. Camara, E. Kassin, K. Kouakou, B. I. Kébé, N. K. Koffi, M. G. Tahi, N. P. Walet, S. B. Guiraud, M. E. Assi, B. Kone, K. F. N'Guessan, and D.

- Koné. 2018. Molecular identification of *Phytophthora palmivora* in the cocoa tree orchard of Côte d'Ivoire and assessment of the quantitative Component of Pathogenicity. *International Journal of Sciences* 7:7-15.
- Cruz G., B., R. Jarquín G., y H. M. Ramírez T. 2013. Viabilidad económica y ambiental de policultivos de hule, café y cacao. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 4: 49-61.
- Curry, J., M. Aluru, M. Mendoza, J. Nevarez, M. Melendez, and M. A. O'Connell. 1999. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent *Capsicum spp.* *Plant Science*. 148: 47-57.
- Dandurand, L. M., and J. A. Menge. 1992. Influence of *Fusarium solani* on citrus root rot caused by *Phytophthora parasitica* and *Phytophthora citrophthora*. *Plant and Soil* 144: 13-21.
- De la Cruz, R. Dario. 2018. Efecto *in vitro* del extracto metanólico de especies de *Capsicum* sobre *Moniliophthora roreri* y su caracterización química. Tesis de Maestría en ciencias Colegio de Postgraduados Campus Tabasco H. Cárdenas, Tabasco, México. 105 p.
- Demuner-Molina, G., M. Cadena-Zapata, S. G. Campos-Magaña, A. Zermeño-González, y F. de J. Sánchez-Pérez. 2014a. Efecto de labranza y mejoradores de suelo en humedad y desarrollo radicular. *Tecnología y Ciencias del Agua* 5: 123-130.
- Demuner-Molina, G., M. Cadena-Zapata, S. G. Campos-Magaña, A. Zermeño-González y F. de J. Sánchez-Pérez. 2014b. Efectos de tres sistemas de labranza y mejoradores de suelo en la disponibilidad de humedad y volumen de exploración de raíces. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp.* 4: 719-727.
- Díaz, J., C. Silvar, M. M. Varela, A. Bernal, and F. Merino. 2005. *Fusarium* confers protection against several micelial pathogens of pepper plants. *Plant Pathology* 54: 773-780.
- Dordas, C. 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 28: 33-46.
- Drenth, A. y D. Guest. 2013. *Phytophthora*: la destructora de plantas. *Palmas* 34 No. Especial, Tomo I, 49-56.
- Erwin, D. C., and Ribeiro O. K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 562 p.
- Escobar-Castillejos, D., A. Caballero-Roque y J. Rendón-Von Osten. 2011. Prácticas de utilización para plaguicidas en la localidad Nueva libertad, la concordia, Chiapas *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp.* 1: 19-30.
- FAOSTAT. 2017. Countries by commodity. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (FAOSTAT) Consultado el día 16 de abril de 2019 en [http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries\\_by\\_commodity\\_imports](http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity_imports).

- Feicán-Mejía, C. G., C. R. Encalada-Alvarado y A. E. Becerril-Román. 2016. Descripción agronómica del cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). *Agroproductividad*. 9: 78-86.
- Fernández-Pavía, S. P., C. L. Biles, M. E. Waugh, K. Onsurez-Waugh, G. Rodríguez-Alvarado, and C. M. Liddell. 2004. Characterization of southern New Mexico *Phytophthora capsici* Leonian isolates from pepper (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 22: 82-89.
- Fernández-Pavía, S. P., M. Díaz-Celaya, and G. Rodríguez-Alvarado. 2013. *Phytophthora* in Mexico. In: *Phytophthora a global perspective*. Lamour, K. (ed). CABI Plant Protection Series 215-221.
- Flores M., J. P., C. Valero C., P. Osuna Á., B. Corral D., M. K. Shukla y E. Salazar S. 2013. Textura del suelo y tipo de agua de riego en la disponibilidad de fósforo de estiércol bovino. *Terra Latinoamericana* 31: 211-220.
- Flores-Aguilar, J. J., R. Vázquez-Rosales, J. J. Solano-Vergara, V. Aguirre-Flores, F. I. Flores-Pérez, M. E. Bahena-Galindo, R. Oliver-Guadarrama, A. E. Granjeno-Colín, y A. Orihuela-Trujillo. 2012. Efecto de fertilizante orgánico, inorgánico y su combinación en la producción de alfalfa y propiedades químicas del suelo. *Terra Latinoamericana* 30: 213-220.
- Flores-Alaña L., F. Geraud-Pouey, D. T. Chirinos, y L. Meléndez-Ramírez. 2015. Efectividad de algunos insecticidas para el control de *Bemisia tabaci* (gennadius) en tomate, *Solanum lycopersicum* L. *Interciencia* 40:121-126.
- Fry, W. E., and N. J. Grünwald. 2010. Introduction to Oomycetes. The Plant Health Instructor. Consultado el 15 de marzo de 2019 en <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomycete/introduction/Pages/IntroOomycetesEspañol.aspx>
- García-Gutiérrez, C., y G. D. Rodríguez-Meza. 2012. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable (Ra Ximhai)* 8: 1-10.
- García-Hernández, J. L., R. D. Valdez C., R. Servín-Villegas, B. Murillo-Amador, E. O. Rueda-Puente, E. Salazar-Sosa, C. Vázquez-Vázquez, y E. Troyo-Diéguéz. 2009. Manejo de plagas en la producción de hortalizas orgánicas. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10: 15-28.
- Garza U., E. 2000. El Ácaro blanco *Polyphagotarsonemus latus*, nueva plaga del cultivo de chile en la planicie huasteca. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Ebano. Folleto técnico No. 3. Tampico, Tamaulipas. 19p.
- Garza U., E. 2002. Manejo integrado de las plagas del chile en la Planicie Huasteca. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Ébano. Folleto Técnico Núm. 10. San Luis Potosí, México. 47p.

- Guigón-López, C., y P. A. González-González, 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el Sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:49-56.
- Guigón-López, C., y P. A. González-González. 2007. Manejo de plagas en el cultivo de chile y su impacto ambiental en la zona agrícola de Jiménez-Villa López, Chihuahua, México. *Tecnociencia Chihuahua* 1: 36-47.
- Gutiérrez-Gómez, C., E. Carrillo-Ávila, C. Landeros-Sánchez, D. Coh-Méndez, A. Monsalvo-Espinosa, J. Arreola-Enríquez, and J. Pimentel-López. 2018. Soil moisture tension as an alternative for improving sustainable use of irrigation water for habanero chilies (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agricultural Water Management* 204: 28-37.
- Guzmán-Plazola, P., R. D. Guevara-Gutiérrez, J. L. Olgún-López, y O. R. Mancilla-Villa. 2016. Perspectiva campesina, intoxicaciones por plaguicidas y uso de agroquímicos. *Idesia* 34: 69-80.
- Hardwick, N. V. 2002. Weather and plant diseases. *Weather* 57: 184-190.
- Hausbeck, M. K., and K. H. Lamour. 2004. *Phytophthora capsici* on Vegetable Crops: Research Progress and Management Challenges. *Plant Disease* 88: 1292-1303.
- Hernández-Verdugo S, Dávila AP, y Oyama K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64: 65-84.
- Ho, H. H. 2018. The taxonomy and biology of *Phytophthora* and *Pythium*. *Journal of Bacteriology and Mycology* 6: 40-45. DOI: 10.15406/jbmoa.2018.06.00174
- Huez L., M. A., J. López E., J. Jiménez L., E. Rueda P. S. Garza O., y J. A. Huez M. 2013. Productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) bajo condiciones de invernadero en la costa de Hermosillo. *In: Memoria del XVI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas. Producción y protección de cultivos bajo un escenario de cambio climático. 24 y 25 de octubre. Mexicali Baja California, México* 282-286.
- INEGI. 2014. Encuesta nacional agropecuaria. Conociendo el campo de México. Resultados. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Consultado el día 03 de mayo de 2019 en [https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/ena/2014/doc/ena2014\\_pres.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/ena/2014/doc/ena2014_pres.pdf)
- INIFAP. 2017. Agenda Técnica Agrícola de Tabasco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (INEGI) Coyoacán, Ciudad de México. 140p.
- Jambhulkar, P. P., M. Sharma, D. Lakshman, and P. Sharma. 2015. Natural Mechanisms of Soil Suppressiveness Against Diseases Caused by *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, and *Phytophthora*. *In: Organic amendments and soil suppressiveness in plant disease management. Meghvansi, M. K., and A. Varma (eds). Springer International Publishing Switzerland.* 95-125.

- Jiménez G., J. C. y J. A. Acosta G. 2013. Efecto y correlación de fechas de siembra, fertilización y densidad en el rendimiento de frijol Pinto Saltillo de temporal en Chihuahua. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4:115-127.
- Jiménez S., J. de la C., L. P. Moreno F., y S. Magnitskiy. 2012. Respuesta de las plantas a estrés por inundación: Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 6: 96-109.
- Jiménez-Martínez, E., R. Martínez I., y M. Jirón C. 2013. Plaguicidas botánicos y químicos para el control del ácaro blanco (*Polyphagotarsonemus latus* Bank) (acarina: tarsonemidae) en chiltoma (*Capsicum annuum* L.), Tisma, Masaya. *La Calera* 13: 9-15.
- Jupe, J., R. Stam, A. J. M. Howden, J. A. Morris, R. Zhang, P. E. Hedley, and E. Huitema. 2013. *Phytophthora capsici*-tomato interaction features dramatic shifts in gene expression associated with a hemibiotrophic lifestyle. *Genome Biology* 14: 1-18.
- Keane, P. J., and A. Kerr. 1997. Factors affecting disease development. *In: plant pathogens and plant diseases*. Brown, J. F., and H. J. Ogle (eds). Rockvale Publications. Armidale Australia 287-298.
- Lamour, K. H., R. Stam, J. Jupe, and E. Huitema. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13: 329-337.
- Leslie, J. F. and B. A. Summerell. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing Professional. Iowa USA. 388 p.
- Leyva, S. L., A. Masaguer y A. Baldoquin. 2014. Efecto de sistemas de labranza en luvisoles dedicados a la producción de pastos. *Pastos y Forrajes* 37: 408-412.
- Loaiza-Figueroa, F., K. Ritland, J. A. Laborde C., and S. D. Tanksley. 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. *Plant systematics an evolution* 165:159-188.
- López L., R., F. Mirafuentes H., W. I. Avilés B., J. A. Jiménez C., y I. Meneses M. 2015. Producción de chile habanero con riego por goteo. Folleto técnico No. 80. INIFAP Centro de Investigaciones Regional Golfo Centro, Campo experimental Huimanguillo, Tabasco. 55p.
- López-Gómez, J. D., O. G. Villegas-Torres, H. Sotelo N., M. Andrade R., P. Juárez L., y E. Martínez F. 2017. Rendimiento y calidad del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) por efecto del régimen nutrimental. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8:1747-1758.
- López-López, R., M. A. Inzunza-Ibarra, A. Fierro-Álvarez, y D. J. Palma-López. 2018. Fechas de trasplante y productividad del chile habanero con riego por goteo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9: 51-64.
- Lozano A, N., R. A. Guzmán-Plazola, E. Zavaleta M., V. H. Aguilar R., V. Ayala E. 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.

- Lugo, M., O. Y., R. Guzmán U., R. S. García E., y J. León F. 2011. Geminivirus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en tomate, en el Valle Agrícola de Culiacán, Sinaloa. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29: 109-118.
- Margulis, L. 1992. Biodiversity: molecular biological domains, symbiosis and kingdom origins. *BioSystems* 27: 39-51
- Martin, F. N. and P. W. Tooley. 2003. Phylogenetic relationships among *Phytophthora* species inferred from sequence analysis of mitochondrially encoded cytochrome oxidase I and II genes. *Mycologia* 95: 269-284.
- Martin, F. N., Z. G. Abad, Y. Balci, and K. Ivors. 2012. Identification and detection of *Phytophthora*: Reviewing our progress, identifying our needs. *Plant Disease* 96: 1080-1103.
- Martínez De la C., y J., E. Moreno C. 2009. Manual técnico de chile en campo abierto. SAGARPA-Fundación PRODUCE. Nuevo León, México. 21p.
- McLeod, M. J, Guttman, S.I., and Eshbaugh, W. H. 1982. Early Evolution of Chili Peppers (*Capsicum*). *Economic Botany* 36: 361-368.
- Morán-Bañuelos, S. H., V. H. Aguilar-Rincón, T. Corona-Torres, F. Castillo-González, R. M. Soto-Hernández, y R. San Miguel-Chávez. 2008. Capsaicinoides en chiles nativos de Puebla, México. *Agrociencia* 42: 807-816.
- Nawaz, K., A. A. Shahid, L. Bengyella, M. N. Subhani, M. Ali, W. Anwar, S. Iftikhar, and S. Am Ali. 2018a. Evidence of genetically diverse virulent mating types of *Phytophthora capsici* from *Capsicum annuum* L. *World Journal Microbiology and Biotechnology* 34: 1-15.
- Nawaz, K., A. A. Shahid, M. N. Subhani, S. Iftikhar, and W. Anwar. 2018b. First report of leaf spot caused by *Phytophthora capsici* on chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) in Pakistan. *Journal of Plant Pathology* 100: 127-127.
- NOM-021-SEMARNAT 2000. Que establece las especificaciones de fertilidad salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Secretaria de medio ambiente y recursos naturales (SEMARNAT). Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2001. 75p.
- Ortiz G, C F. 1996. Etude de la diversité génétique de populations de *Phytophthora* pathogènes du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et du cocotier (*Cocos nucifera* L.). Tesis doctoral. Université Paul Sabatier- Centre de Fisiologia Vegetal-CNRS. Toulouse, France. 85p.
- Ortiz-García C. F., M. Torres-de-la-Cruz, y S. del C. Hernández-Mateo. 2015. Comparación de dos sistemas de manejo del cultivo del cacao, en presencia de *Moniliophthora roreri*, en México. *Revista de Fitotecnia Mexicana* 38: 191-196.
- Palma-López D. J., y A. Triano S. (Comps.) 2007. Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco, Vol. II. 2nda Reimpresión. Ed. Colegio de Postgraduados-ISPOTAB. Villahermosa Tabasco, México. 180 p.

- Palma-López D. J., C. J. Vázquez N., E. E. Mata Z., A. López C., M. A. Morales G., R. Chablé P., J. Contreras H., y D. Y. Palma-Cancino. 2011. Zonificación de ecosistemas y agroecosistemas susceptibles de recibir pagos por servicios ambientales en la Chontalpa, Tabasco. Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, Secretaria de Recursos Naturales y Protección Ambiental. Villahermosa, Tabasco, México. 139 p.
- Palma-López D. J., J. Cisneros D., E. Moreno C., y J. A. Rincón-Ramírez. 2007. Suelos de Tabasco: su uso y manejo sustentable. Colegio de Postgraduados-ISPROTAB-FUNDACIÓN PRODUCE TABASCO. Villahermosa, Tabasco, México.
- Palma-Martínez, E., V. H. Aguilar-Rincón, T. Corona-Torres, y O. Gómez-Rodríguez. 2017. Resistencia a *Phytophthora capsici* Leo. en líneas de chile huacle (*Capsicum annuum* L.). Revista Fitotecnia Mexicana 40: 359-363.
- Pardo U., G. 2006. Tecnología de producción comercial de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). 4ta ed. Instituto para el desarrollo de sistemas de producción del trópico húmedo de Tabasco. Villahermosa, Tabasco. 44p.
- Pérez V., A., y C. Landero S. 2009. Agricultura y deterioro ambiental. Elementos 73: 19-25.
- Pérez-Acevedo, C. E., J.C. Carrillo-Rodríguez, J. L. Chávez-Servia, C. Perales-Segovia, R. Enríquez del V., y Y. Villegas-Aparicio. 2017. Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en Valles Centrales de Oaxaca. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 8: 281-293.
- Pérez-Gutiérrez, A., A. Pineda-Doporto, L. Latournerie-Moreno, W. Pam-Pech, y C. Godoy-Ávila. 2008. Niveles de evapotranspiración potencial en la producción de chile habanero. Terra Latinoamericana 26: 53-59.
- Pérez-Moreno, L., C. Castañeda-Cabrera, M. Ramos-Tapia, y J. A. Tafuya-Razo. 2014. Control químico preemergente de la maleza en tomate de cáscara. Interciencia 39: 422-427.
- Pérez-Moreno, L., L. J. Durán-Ortiz, R. Ramírez-Malagón, J. R. Sánchez-Pale, y V. Olalde-Portugal. 2003. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología 21: 19-25.
- Ramírez-Sucre, M. O., y D. K. Baigts-Allende. 2016. Efecto del tratamiento térmico en el comportamiento reológico de salsas de chile habanero (*Capsicum chinense*) adicionadas con gomas guar y xantana. Agrociencia 50: 837-847.
- Ramos G., Y. K. 2017. Caracterización morfológica y molecular de especies de *Phytophthora* asociadas al cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el sureste de México. Colegio de Postgraduados. Tesis de Maestría. Tabasco, México 84p.
- Rico-Guerrero, L., S. Medina-Ramos, C. I. Muñoz-Sánchez, L. Guevara-Olvera, R. G. Guevara-González, B. Z. Guerrero-Aguilar, I. Torres-Pacheco, R. Rodríguez-Guerra, y M. M. González-Chavira. 2004. Detección de *Phytophthora capsici*

- Leonian en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) mediante PCR. Revista Mexicana de Fitopatología 22:1-6.
- Riethmüller, A., H. Voglmayr, M. Göker, M. Weiß, and F. Oberwinkler. 2002. Phylogenetic relationships of the downy mildews (Peronosporales) and related groups based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. Mycologia 94: 834-849.
- Robideau, G. P., A. W. A. M. De Cock, M. D. Coffey, H. Voglmayr, H. Brouwer, K. Bala, D. W. Chitty, N. Désaulniers, Q. A. Eggertson, C. M. M. Cachon, C. Hu, F. C. Küpper, T. L. Rintoul, E. Sarhan, E. C. P. Verstappen, Y. Zhang, P. J. M. Bonants, J. B. Ristaino, and C. A. Levésque. 2011. DNA barcoding of oomycetes with cytochrome c oxidase subunit I and internal transcribed spacer. Molecular Ecology Resources 11: 1002-1011.
- Robles-Hernández, L., A. C. González-Franco, E. M. Gill-Langarica, L. Pérez-Moreno, y J. C. López-Díaz. 2010. Virus fitopatógenos que afectan el cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección. Tecnociencia Chihuahua 4: 72-86.
- Rodríguez O., J. C., J. A. Alcalá J., A. Hernández M., H. Rodríguez F., F. H. Ruiz E., J. L. García H., y P. E. Díaz F. 2014. Elementos traza en fertilizantes y abonos utilizados en agricultura orgánica y convencional. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 5: 695-701.
- Rodríguez-Ruiz, A. M., y R. Agüero-Alvarado. 2011. Dinámica poblacional de *Panicum polygonatum* y *Axonopus micay* bajo combate con herbicidas y chapea, en una plantación bananera. Agronomía Mesoamericana 22: 117-122.
- Romero M., G., H. Lozoya S., G. Mora A., S. Fernández P., y N. J. Grünwald. 2012. Rendimiento de papa en función de epidemia por tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary). Revista Fitotecnia Mexicana 35: 69-78.
- Ruiz N., R. E., J. A. Ruiz N., S. Guzmán G., y E. J. Pérez Luna. 2011. Manejo y control de plagas del cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 27: 129-137.
- Ruiz-Bello, R., M. E. Nava-Tablada, C. Landeros-Sánchez, y G. Díaz-Padilla. 2016. Potencial productivo y limitantes para el cultivo de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en el estado de Veracruz, México. Revista Internacional de Desarrollo Regional Sustentable 1: 1-11.
- Ruiz-González, R. O., y L. Victorino-Ramírez. 2015. Respuesta del policultivo jamaica-frijol-maíz a tratamientos de fertilización en Villaflores, Chiapas, México. Agrociencia 49: 45-557.
- Ruiz-Lau, N., F. Medina L., y M. Martínez E. 2011. El chile habanero: su origen y usos. Ciencia 62:70-77.
- Salazar-Jara, F. I., y P. Juárez-López. 2013. Requerimiento macronutricional en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.). Bio Ciencias 2: 27-34.
- Santoyo J., J. A., y C. O. Martínez A. 2012. Tecnología de producción de chile habanero en casa sombra en el sur de Sinaloa. Secretaría de Agricultura, Ganadería,

- Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Fundación Produce, Sinaloa A. C. Enlace, Innovación y Progreso. 23 p.
- SIAP. 2010 Un panorama del cultivo de chile. Sistema de información agroalimentaria y pesquera (SIAP) pp: 1-20.
- SIAP. 2014. Márgenes de comercialización chile habanero. Servicio de Información Alimentaria y Pesquera (SIAP). Consultado el día 15 de noviembre de 2018 en [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/84384/MargenComer\\_ChileHabano\\_Oct2014.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/84384/MargenComer_ChileHabano_Oct2014.pdf)
- SIAP. 2015. Anuario Estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SIAP). Consultado el día 10 de abril de 2019 en [http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola\\_siap\\_gb/icultivo/index.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp)
- SIAP. 2016. El impacto de las plagas y enfermedades en el sector agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Consultado el día 30 de enero de 2019 en <https://www.gob.mx/siap/articulos/el-impacto-de-las-plagas-y-enfermedades-en-el-sector-agricola>
- Silvar, C., F. Merino, and J. Díaz. 2009. Resistance in pepper plants induced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* involves different defence-related genes. *Plant Biology* 11: 68-74.
- Silva-Rojas, H. V., S. P. Fernández-Pavía, C. Góngora-Canul, B. C. Macías-López, y G. D. Ávila-Quezada. 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.
- Smith, B. A. M., G. Eudoxie, and D. Saravanakumar. 2019. Identification of *Phytophthora capsici* causing collar rot in hot peppers in Trinidad. *Canadian Journal of Plant Pathology* 41: 129-134.
- Smith, R., J. L. Aguiar, A. Baameur, M. Cahn, M. Cantwell, M. de la Fuente, T. Hartz, S. Koike, R. Molinar, E. Natwick, T. Suslow, and E. Takele. 2011. Chile pepper production in California. *Universidad de California, Agricultura* 1-5.
- SMN. 2019. Resúmenes Mensuales de Temperaturas y Lluvia. Servicio Meteorológico Nacional (SMN) Consultado el día 10 de abril de 2019 en <https://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>
- Soria F., M. de J., J. A. Trejo R., J. M. Tun S., y R. Terán S. 2002. Paquete tecnológico para la producción de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2, Conkal, Yucatán. 75p.
- Soto P., A., G. Rodríguez A., Y. L. Fernández P., M. E. Pedraza S., L. López P., M. Díaz C., y S. P. Fernández P. 2017. Protocolos de aislamiento y diagnóstico de *Phytophthora* spp. enfoque aplicado a la investigación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8: 1867-1880.

- Stamps, D. J., G. M. Waterhouse, F. J. Newhook, and G. S. Hall. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Mycology Papers 162: 1-28.
- Sudha A., and P. Lakshmanan. 2009. Integrated disease management of powdery mildew (*Leveillula taurica* (Lev.) Arn.) of Chilli (*Capsicum annuum* L.). Archives of Phytopathology and Plant Protection 42: 299-317.
- Than, P. P., H. Prihasttuti, S. Phoulivong, P. W. J. Taylor, and K. D. Hyde. 2008. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. Journal of Zhejiang University-Science B 9: 764-778.
- Tibaduiza-Roa, V., A. Huerta-de la Peña, J. Morales-Jiménez, A. M. Hernández-Anguiano, y É. Muñoz-Reyes. 2018. Sistema de producción del cilantro en Puebla y su impacto en la inocuidad. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 9: 773-786.
- Tsitsigiannis, D. I., P. P. Antoniou, S. E. Tjamos, and E. J. Paplomatas. 2008. Major diseases of tomato, pepper and eggplant in greenhouses. The European Journal of Plant Science and Biotechnology 2:106-124.
- Tun S., J. M., M. E. Castillo P., J. Cristóbal A., y L. Latournerie M. 2011. Etiología de la mancha foliar del chile dulce (*Capsicum annuum* L.) y su control in vitro en Yucatán, México. Fitosanidad 15: 5-9.
- Tun, D. J. de la C. 2001. Chile habanero: Características y tecnología de producción. Centro de Investigación Regional del Sureste. Mocochoá, Yucatán. 74p.
- van West, P. V., A. A. Appiah, and N. A. R. Gow. 2003. Advances in research on oomycetes root pathogens. Physiological and Molecular Plant Pathology 62: 99-113.
- Vásquez L., A., B. Tlapal B., M. de J. Yáñez M., R. Pérez P., y M. Quintos E. 2009. Etiología de la marchitez del 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. Revista Fitotecnia Mexicana 32: 127-134.
- Vázquez-Casarrubias, G., J. A. S. Escalante-Estrada, Ma. T. Rodríguez-González, C. Ramírez-Ayala, y L. E. Escalante-Estrada. 2011. Edad al trasplante y su efecto en el crecimiento y rendimiento de chile apaxtleco. Revista Chapingo Serie Horticultura 17: 61-65.
- Velasco V., V. A. 1999. Papel de la nutrición mineral en la tolerancia a las enfermedades de las plantas. Terra 17: 193-200.
- Velásquez-Valle, R., L. R. Reveles-Torres, y M. Reveles-Hernández. 2013. Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México. Folleto Técnico. Núm. 50. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP. 57p.
- Velásquez-Valle, R., M. M. Medina-Aguilar, y J. de J. Luna-Ruiz. 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.

- Veloso, J., and J. Díaz. 2012. *Fusarium oxysporum* Fo47 confers protection to pepper plants against *Verticillium dahliae* and *Phytophthora capsici*, and induces the expression of defence genes. *Plant Pathology* 61: 281-288.
- Villa C., M., E. A. Catalán V., M. A. Inzunza I., A. Román L., H. Macias R., y D. Cabrera R. 2014. Producción hidropónica de chile habanero en invernadero. INIFAP Centro de Nacional de Investigación Disciplinara en Relación Agua Suelo Planta Atmósfera. Gómez Palacio, Durango 47p.
- Waizel-Bucay, J., y R. Camacho M. 2011. El género *Capsicum* spp. (“chile”). Una versión panorámica. *Aleph Zero* 60: 67-79.
- Walker, C. A., and P. van West. 2007. Zoospore development in the oomycetes. *Fungal Biology Reviews* 21: 10-18.
- Whittaker, R. H. 1969. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science* 163: 150-160.
- Woese, C. R., O. Kandler, and M. L. Wheelis. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87: 4576-4579.
- Yang, X., and C. Hong. 2018. Differential usefulness of nine commonly used genetic markers for identifying *Phytophthora* Species. *Frontiers in Microbiology* 9: 1-14.
- Zavala-Cruz, J., O. Castillo A., A. I. Ortiz C., D. J. Palma-López, J. F. Juárez L., S. Salgado-García, J. A. Rincón-Ramírez, E. Moreno C., y R. Ramos R. 2009. Capacidad de uso del suelo urbano en Tabasco, con base en suelo, uso actual y vegetación. Colegio de Postgraduados, Secretaria de Asentamientos y Obras Públicas, Secretaria de Recursos Naturales y Protección ambiental, Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. 204p + anexo cartográfico.
- Zavala-Cruz, J., O. Castillo-Acosta, M. A. Ortiz-Pérez, D. J. Palma-López, V. Córdova-Ávalos, J. J. Obrador-Olán, A. Guerrero-Peña, E. García-López, S. Salgado-García, J. Rincón-Ramírez, A. López-Castañeda y E. Shirma-Tórres, E. 2017. Compatibilidad de uso y capacidad agrológica como indicador de degradación de suelos en la cuenca del río Grijalva. *Agroproductividad* 10: 3-8.
- Zhang, H., U. Farooq, L. H. Cheng, Y. Ye, Y. C. Wang, H. Kawagishi, M. Ojika, and J. H. Qi. 2018. Specific inhibitors of sporangium formation of *Phytophthora capsici* from *Kalimeris indica*. *Chemistry of Natural Compounds* 54: 567-569.
- Zuluaga, A. P., J. C. Vega-Arreguín, Z. Fei, A. J. Matas, S. Patev, W. E. Fry, and J. K. C. Rose. 2016. Analysis of the tomato leaf transcriptome during successive hemibiotrophic stages of a compatible interaction with the oomycete pathogen *Phytophthora infestans*. *Molecular Plant Pathology* 17: 42-54.

## VIII. ANEXOS

**Anexo 1.** Cuestionario para conocer el manejo que los pequeños productores del cultivo de chile habanero le están dando, en la región Grijalva del estado de Tabasco.

### Manejo del cultivo en chile habanero

#### DATOS GENERALES

Etiqueta del sitio: \_\_\_\_\_

Entrevista No. \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre del productor: \_\_\_\_\_

Domicilio de la plantación: \_\_\_\_\_

Coordenadas: \_\_\_\_\_

Domicilio del productor: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

#### ASPECTOS TÉCNICOS DE LA PLANTACIÓN

Tipo de siembra:  DIRECTA  TRANSPLANTE

Fecha de establecimiento del cultivo: \_\_\_\_\_ Edad del cultivo: \_\_\_\_\_

Superficie cultivada: \_\_\_\_\_

Años que lleva cultivando chile:  1-3  4-6  7-9  MÁS DE 10

Variedad (es) cultivada (s): \_\_\_\_\_

Produce sus plántulas:  SI  NO

Dónde obtiene la plántula: \_\_\_\_\_

Distancia de siembra (surcos): \_\_\_\_\_ Densidad de plantación: \_\_\_\_\_

Cultivos anteriores: \_\_\_\_\_

Tiempo con el cultivo anterior (años):  1-3  4-6  7-9  MÁS DE 10

Cuantos años han pasado de la cosecha del cultivo anterior al establecimiento del chile habanero:  1-3  4-6  7-9  MÁS DE 10

Porque decidió cambiar el cultivo anterior: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Que problemas presentó con más frecuencia el cultivo anterior:

PLAGAS  ENFERMEDADES  MALEZA  AGUA  FERTILIZACIÓN

Especifique: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Drenaje del terreno:  BUENO  REGULAR  MALO

Textura del suelo:  ARCILLOSO  FRANCO  ARENOSO

Relieve:  PLANICIE  LADERA  LOMERÍO

Cultivos asociados: \_\_\_\_\_

Cultivos o vegetación circundante: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Desinfecta la herramienta cuando realiza labores culturales:  SI  NO

Poda brotes o yemas axilares:  SI  NO

Prepara la tierra:  SI  NO

Qué tipo de labores:  BARBECHO  SUBSUELO  ARADO  OTRO

Especifique: \_\_\_\_\_

Presencia de fuentes de agua:  RIO  ARROYO  POZO  OTRO

Distancia de la plantación a la fuente de agua (m): \_\_\_\_\_

Especificar: \_\_\_\_\_

Forma de riego:  TEMPORAL  RODADO  SISTEMA DE RIEGO  OTRO

Especificar: \_\_\_\_\_

Presencia de enfermedades:  SI  NO

Síntomas:  AMARILLAMIENTO  MARCHITEZ  ENCHINAMIENTO

CLOROSIS  NECROSAMIENTO  CANCRO  OTROS

Actualmente se encuentran esos síntomas:  SI  NO

Especifique: \_\_\_\_\_

Observación: \_\_\_\_\_

Fecha de inicio de síntomas: \_\_\_\_\_

Signos: \_\_\_\_\_

Severidad: \_\_\_\_\_

Incidencia: \_\_\_\_\_

### MANEJO DEL CULTIVO

Recibe asistencia técnica:  SI  NO

De quien:  PÚBLICA  PRIVADA

De qué trata: \_\_\_\_\_

SI  NO

**Fertilización:**

Tipo de fertilización:  QUÍMICA  ORGÁNICA

Fertilizante: \_\_\_\_\_ Dosis: \_\_\_\_\_

Método de aplicación:  MANUAL  MECÁNICO

Forma de aplicación:  BANDA  EN PUNTOS  AL VOLEO  OTRA

Especifique: \_\_\_\_\_

Frecuencia de aplicación: \_\_\_\_\_

**Control malezas:**  SI  NO

Método:  MANUAL  MECÁNICO

Maleza que controla: \_\_\_\_\_

Herbicida: \_\_\_\_\_

Dosis: \_\_\_\_\_

Época de aplicación: \_\_\_\_\_ Frecuencia de aplicación: \_\_\_\_\_

**Control de plagas:**  SI  NO

Método:  QUÍMICO  MANUAL  MECÁNICO  BIOLÓGICO

Plaga que controla: \_\_\_\_\_

Plaguicida: \_\_\_\_\_

Dosis: \_\_\_\_\_

Época de aplicación: \_\_\_\_\_ Frecuencia de aplicación: \_\_\_\_\_

**Control de enfermedades:**  SI  NO

Método:  QUÍMICO  MANUAL  MECÁNICO  BIOLÓGICO

1) Enfermedad que controla: \_\_\_\_\_

Método:  QUÍMICO  MANUAL  MECÁNICO  BIOLÓGICO



**Fragmentos del gen citocromo c oxidasa I de *Phytophthora* secuenciado.**

**>CH132.COI**

CTTTTTCAACAAATCATAAAGATATTGGAACCTTATATTTAATTTTTAGTGCTTTTGC  
GGGTGTTGTTGGTACAACATTATCTCTTTTAATTAGAATGGAATTAGCACAACCAGG  
TAATCAAATCTTTATGGGAAATCATCAATTATATAACGTTATTGTTACTGCTCATGCT  
TTTATTATGGTTTTCTTTTTAGTTATGCCTGCTTTAATTGGTGGTTTTGGTAACTGGT  
TTGTTCCTTAATGATAGGTGCACCTGATATGGCTTTTCCACGTATGAATAATATAA  
GTTTTTGGTTATTACCTCCAGCTTTATTATTATTAGTTTCATCAGCTATTGTAGAATC  
AGGTGCTGGTACAGGTTGGACTGTTTATCCACCATTATCTAGTGTACAAGCACATT  
CAGGACCTTCAGTAGATTTAGCTATTTTTAGTTTACATTTAACAGGTATCTCTTCATT  
ATTAGGTGCAATTAATTTTTATTTCAACCATTTATAATATGAGAGCTCCAGGTTTAAGT  
TTTCATAGATTACCTTTATTTGTTTGGTCTGTATTAATTACAGCATTTCCTTTATTATT  
AACTTTACCTGTATTAGCTGGTGAATTACTATGTTATTAAGTATAGAAATTTAAAT  
ACTTCTTTTTATGATCCTTCAGGTGGAGGTGATCCTGTATTATATCAACATTTATTTT  
GGTTTTTTGGTCACCCAGAAGTTTATATTTAATTTTACCTGGATTTGGTATCATCA