

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

DIVISION DE AGRONOMIA



**HONGOS EN LA SEMILLA DE CHILE (*Capsicum annuum* L) TIPO MIRASOL
EN CALERA Y FRESNILLO ZACATECAS**

Por:

RAUL MARTINEZ HERNÁNDEZ

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:**

INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Marzo de 2000**

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISION DE AGRONOMIA

HONGOS EN LA SEMILLA DE CHILE (*Capsicum annuum* L) TIPO MIRASOL EN CALERA Y
FRESNILLO ZACATECAS

TESIS

POR:

RAUL MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

QUE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER ÉL TITULO DE:

INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

Q.F.B. MARIA ELENA GONZÁLEZ
GUAJARDO

M.C. FAUSTINO LARA VICTORIANO

M.C. JESUS MACIAS HERNÁNDEZ

Dr. JERONIMO LANDEROS FLORES

CORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMIA

M.C. REYNALDO ALONSO VELASCO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Mayo de 2000

AGRADECIMIENTOS

A mi **ALAMA TERRA MATER** por brindarme los elementos fundamentales para mi formación profesional.

A la **DGETA**. Por brindarme el tiempo y el apoyo suficiente para la realización de este trabajo.

Q.F.B. María Elena González Guajardo por el apoyo constante y desinteresado

M.C. Faustino Lara Victoriano Por su tenaz e imprescindible colaboración en la identificación de material biológico del presente trabajo

M .C. Jesús Macias Hernández Por su disponibilidad en la revisión en la mejoría del presente trabajo.

D.r. Jerónimo Landeros Flores Por su valiosa colaboración y Consejos

Ing. Ramón Alvidrez Villarreal. Por su apoyo incondicional para la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

A mis hijos

Raul, Nydia y Rogelio

A mi esposa Lourdes

A todas las personas que de alguna manera
contribuyeron a su realización

ÍNDICE

| | Pagina |
|---|---------------|
| AGRADECIMIENTO | I |
| DEDICATORIA | II |
| ÍNDICE | III |
| ÍNDICE DE FIGURAS | V |
| ÍNDICE DE CUADROS | VI |
| RESUMEN | VII |
| 1 INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2 OBJETIVOS..... | 5 |
| 3 HIPOTESIS | 5 |
| 4 REVISIÓN DE LITERATURA | 6 |
| 4.1 Cosecha y trilla de la semilla..... | 6 |
| 4.2 Germinación en la semilla de chile..... | 7 |
| | |
| 4.3 Enfermedades en almácigo..... | 8 |
| | |
| 4.4 Efecto de los hongos en la semilla..... | 8 |
| | |
| 4.4.1 Antracnosis en la semilla de chile | 10 |
| | |
| 4.4.2 <i>Fusarium oxysporum</i> | 11 |
| | |
| 4.4.3 <i>Rhizoctonia solani</i> | 11 |
| | |
| 4.4.4 <i>Phytophthora capsici</i> | 12 |
| | |
| 4.4.5 Enfermedades del fruto..... | 13 |
| 4.5 Deterioro de la semilla..... | 13 |
| | |
| 4.6 Factores que afectan a la germinación | 13 |
| | |
| 4.7 Viabilidad de la semilla de chile..... | 15 |
| | |
| 4.8 Prueba de viabilidad con tetrazolio..... | 16 |
| | |
| 5 MATERIALES Y MÉTODOS..... | 18 |

| | |
|--|-----------|
| | |
| 5.1 Colecta de semilla. | 18 |
| | |
| 5.1.1. Selección de semillas. | 18 |
| | |
| 5.2 Prueba de viabilidad. | 19 |
| | |
| 5.2.1 Acondicionamiento de la semilla. | 19 |
| | |
| 5.2.2 Exposición al Tetrazolio. | 19 |
| | |
| 5.3 Prueba de germinación. | 20 |
| | |
| 5.3.1 Desinfestación de la semilla. | 20 |
| | |
| 5.3.2 Siembra. | 21 |
| | |
| 5.4 Sanidad de la semilla. | 21 |
| | |
| 5.4.1 Aislamiento de hongos. | 21 |
| | |
| 5.4.2 Purificación de las cepas de hongos | 22 |
| 5.4.2.1 Punta de hifa. | 22 |
| | |
| 5.4.2.2. Cultivos monospóricos. | 22 |
| | |
| 5.5 Prueba de Patogenicidad. | 23 |
| | |
| 5.5.1 Inoculación en plántula. | 23 |
| | |
| 5.5.2 Inoculación en hoja. | 23 |
| | |
| 5.6 Identificación y Caracterización. | 24 |
| | |
| 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN. | 25 |
| | |
| 6.1 Viabilidad. | 26 |

| | |
|--|----|
| | |
| 6.2 Germinación..... | 26 |
| | |
| 6.3 Sanidad..... | 27 |
| | |
| 6.3.1 Purificación de sepas..... | 28 |
| | |
| 6.4. Identificación..... | 29 |
| | |
| 6.4.1 <i>Fusarium solani</i> | 30 |
| | |
| 6.4.2. <i>Fusarium oxysporum</i> | 32 |
| | |
| 6.4.3 <i>Fusarium equiseti</i> | 34 |
| | |
| 7 CONCLUSIONES..... | 36 |
| 8. LITERATURA CITADA..... | 37 |

ÍNDICE DE CUADROS

Pagina

**Cuadro 1 Resultados de la prueba de Tukey correspondientes a
viabilidad, germinación y sanidad 26**
.....

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|-----------|
| Figura 1 | Comportamiento de la viabilidad, germinación y sanidad en la semilla de chile tipo mirasol de los municipios de Calera y Fresnillo Zacatecas. | 28 |
| Figura 2. | <i>Fusarium solani</i> a) Clamidosporas en cadena, b) Clamidospora terminal, c) Macroconidios y microconidios y d) Fiálides larga. | 31 |
| Figura 3. | <i>Fusarium oxysporum</i> a) Fiálide corta, b) microconidios y c) clamidosporas en cadena y terminales. | 33 |
| Figura 4. | <i>Fusarium equiseti</i> a) fiálide simple con macroconidios, b) macroconidios c) clamidosporas terminales y d) clamidosporas intercalares. | 35 |

1. INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum* sp.) es una solanácea de amplia distribución en América. Se considera a Perú, Bolivia y Brasil como su centro de origen (Hurres y Caraballo, 1988).

La especie *C. annuum* se considera originaria de México por la gran diversidad que se tiene además ha formado parte fundamental en la cultura mexicana desde los inicios del Imperio Mexica Como antecedentes se tienen reportados restos arqueológicos encontrados en el Valle de Tehuacan, Puebla que datan de 7,000 y 5000 A.C. con lo cual se ha especulado que el chile pudo haber sido el primer cultivo domesticado en Mesoamérica y se puede afirmar que fue el condimento obligatorio para la comida mexicana (Long, 1984).

Las culturas prehispánicas elaboraron una colección importante de códices; sin embargo, la mayoría fueron destruidos. De los 500 códices existentes en el mundo, sólo 16 ejemplares fueron pintados en la época prehispánica y el resto fueron reconstruidos después de la conquista; ahí se describe que el chile fue un importante objeto de tributo. Este producto se consignaba en diferentes formas, en grano o por cargas, fanegas, fardos, cestos, cajetes, tenates, chiquihuites, veneguenes, petates de dos arrobas y a demás, por sementeras. En el Códice Mendocino se describe la relación del chile con la vida cotidiana de los mexicanos, como una forma de castigo familiar, por ejemplo, un padre castiga a su hijo de once años, al hacerlo respirar el humo de la fogata donde se habían arrojado chiles secos, una madre amenazaba a su hija de seis años con el mismo castigo (Long , 1984). En la actualidad forma parte de nuestra identidad.

En México el chile, ha adquirido gran importancia económica y social por su gran rentabilidad y demanda del producto a nivel nacional e internacional, obligando con esto incrementar las áreas de cultivo (Pozo, 1983). Esta hortaliza ocupa el segundo lugar en superficie sembrada en México con 116, 689 ha (SAGAR, 1996), la ventaja de esto es que ha originado más empleos en el campo y ha generado divisas a nuestro país. La demanda y la exigencia de los mercados internacionales también han obligado a que ciertas zonas productoras se tecnifiquen como es el caso de los estados de Sinaloa y Sonora que exportan su producción a diversas partes del mundo (Laborde y Pozo, 1984).

La semilla de chile juega un papel importante en la propagación de este cultivo, pero además sirve como vehículo de transporte para diversos organismos que pueden ir dentro de la semilla o sobre ella. Los hongos que se transmiten por semilla sobreviven como esporas o estructuras de resistencia. Los que se alojan internamente producen plantas infectadas frecuentemente. Sin embargo, los hongos que están sobre la semilla se consideran relativamente poco importantes en la dispersión de enfermedades (Neergaard, 1977). Estas formas de dispersión pueden constituir un mecanismo mediante el cual un agente patógeno puede ser introducido en una zona donde originalmente no existía (Warham, *et al.* 1970).

La implementación de áreas de cultivo ha implicado la movilización de semillas entre las diferentes zonas productoras y las nuevas áreas de cultivo. La búsqueda de nuevos materiales que expresen la máxima producción es un factor de introducción de semilla. En los últimos dos ciclos de producción se ha observado que las plantas de chile presentan síntomas y signos de hongos nunca antes vistos tales como: amarillamientos irregulares de

ramas en la misma planta, marchitez con amarillamiento, defoliación de hojas, necrozamiento del pedúnculo del fruto, pudrición del fruto adherido a la planta, frutos que no maduran uniformemente, aborto de flores y frutos, pudrición de raíz, pudrición de raíz con desprendimiento de cutícula, todo esto ha ocasionado pérdidas considerables principalmente en los estados de Zacatecas, Guanajuato Puebla y Chiapas. También se pudo observar que los productores producen su semilla descuidando los aspectos fitosanitarios al realizar la selección de este para el siguiente ciclo agrícola.

En los últimos años, los estados productores de chile en México han sufrido serios problemas de enfermedades causadas por hongos; a tal grado que áreas completas han desaparecido y los productores han incursionado en nuevas áreas. Este caso se presentó en la parte central de Guanajuato y Aguascalientes, donde se abandonó el cultivo y los productores se desplazaron hacia la parte norte de Guanajuato, Zacatecas, Durango y San Luis Potosí. Sin embargo, al paso del tiempo los problemas con enfermedades fungosas se incrementaron incluso en regiones consideradas como áreas de cultivo nuevas, la Mesa Central, Golfo de México y Costa del Pacífico, debido al libre movimiento de semillas y plántulas infectadas a las demás regiones (Pozo, 1983).

En Ontario Canadá, el chile dulce se produce en invernaderos a través de la técnica de hidroponía teniéndose los más estrictos cuidados de asepsia. El suelo es esterilizado para eliminar algún posible patógeno, además se emplean fungicidas para reforzar las medidas de seguridad. En 1990 en un invernadero se tuvieron pérdidas del 50%, estas plantas presentaron síntomas de pudrición de tallo y frutos. Se identificó como agente causal a *Nectria haematococa* (Telemorfo de *Fusarium solani*). En los frutos que presentaron esta

podrición se encontró que las semillas también estaban infectadas(Jarvis *et al* 1994). Este mismo caso sucedió en 1991 en el Reino Unido con las mismas características solo que de aquí se aisló de manera directa a *Fusarium solani* (Fletcher 1994)

Por los problemas presentados a nivel nacional y en otro lugares de mundo se plantearon los siguientes objetivos.

2. OBJETIVOS

1. Determinar el efecto que tienen los hongos en la germinación de la semilla de chile.
- 2- Probar la patogenicidad de los hongos involucrados con la semilla de chile
3. Caracterizar e identificar a los hongos fitopatógenos.

3. HIPÓTESIS

Los hongos fitopatógenos están afectando de manera directa la germinación de la semilla de chile.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en el invernadero y laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la **Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”**

5. 1 Muestreo

El muestreo de la semilla fue completamente al azar en los lotes de semillas de los productores en las localidades de Calera y Fresnillo Zac.

5. 1.1. Selección de semillas

Las semillas fueron seleccionadas a través de la técnica de flotación; la cual consistió en adicionar 400 ml de agua destilada en un vaso de precipitado de 500 ml donde se adicionaron las semillas. Se eliminó la semilla flotante y la que se precipitó se sacó a la sombra por 72 horas para tenerlas listas en las pruebas posteriores.

5. 2. Prueba de viabilidad

La viabilidad se basó para su desarrollo en las reglas internacionales para evaluación de semilla (ISTA, 1985) y lo establecido por la Organización de las Naciones Unidas para la

Agricultura y la Alimentación (FAO, 1961). Se utilizó el cloruro de tetrazolio al 0.01% para evaluar la viabilidad. Se evaluaron 200 semillas en cinco repeticiones de 40 semillas y un testigo, que fue material proporcionado por la casa comercial de semilla Petoseed (chile ancho San Luis), donde la etiqueta señalaba que tenía un 98% de germinación.

5. 2.1 Acondicionamiento de la semilla

La semilla fue colocada en agua destilada por 12 horas para su reblandecimiento para luego proceder a la escarificación; esta consistió en partir la semilla de forma longitudinal poniendo al descubierto el embrión y un cotiledón.

5. 2.2. Exposición al Tetrazolio

Se preparó la solución del Cloruro de Tetrazolio a una concentración de 0.01% las semillas escarificadas se colocaron en vasos de precipitado de 50 ml y se adicionó la solución hasta cubrir la semilla, en seguida se incubó a una temperatura de 35°C por ocho horas para luego realizar las evaluaciones de acuerdo a las Reglas Internacionales (ISTA, 1985). El criterio para determinar si una semilla es viable o no fue el siguiente finalizada la prueba: el embrión que presenta alguna parte no teñida por la sustancia es considerada semilla no viable, por el contrario si el embrión se presenta teñido de color rojo junto con el cotiledón se considera como semilla viable; para facilitar la observación se usó el microscopio estereoscópico.

5. 3. Prueba de germinación

El tamaño de muestra, distribución de la semillas, así como el uso del testigo, fue la citada anteriormente. Esta prueba se llevó a cabo *in vitro* utilizando el medio de cultivo harina de maíz-agar con antibióticos: ampicilina, rifamicina y pimaricina (Massago *et al* 1977; Tsao y Guy, 1977). Este medio se empleó por que se hicieron ensayos previos que dieron excelentes resultados como: permitir se lleve acabo primero la germinación y luego da paso al desarrollo de hongos en semilla, además, el lento crecimiento de los hongos permitió evaluar la germinación y la sanidad. Este medio de cultivo fue empleado como medio específico de *Phytophthora capsici* (Massago *et al* 1977 ; Tsao y Guy, 1977).

5. 3.1. Desinfestación de la semilla

Las semillas se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1% por un minuto posteriormente se enjuagaron tres veces en agua destilada esterilizada para la eliminación del resto de la sustancia, se colocaron sobre papel secante esterilizado para el secado. Todo el proceso se llevo acabo en condiciones de asepsia.

5. 3.2. Siembra

Las semillas desinfectadas se colocaron en cajas Petri de 12 cm de diámetro con medio de cultivo Harina de Maíz Agar con antibiotico (Massago *et al* 1977; Tsao y Guy, 1977) y se sellaron con parafilm guardándose en la cámara de incubación a una temperatura de 28°C. La germinación se evaluó de los cinco a los 15 días después de la siembra.

5. 4. Sanidad de la semilla

La sanidad de la semilla se determinó conjuntamente con la prueba de germinación. La evaluación inicio a los siete y finalizo 15 días después de la siembra, enumerando las colonias de hongos que crecieron en la semilla.

5. 4.1. Aislamiento de hongos

Las colonias de hongos que se presentaron en la semilla se aislaron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) para su crecimiento.

5. 4.2. Purificación de las cepas de hongos

5. 4.2.1. Punta de hifa

Las colonias de hongos que no produjeron conidios y solo micelio se pasaron a medio de cultivo Agua-Agar (AA), se incubaron a 28 °C por 24 horas y con ayuda del microscopio estereoscópico se ubicaron cuatro puntas de hifa aisladas, estas se cortaron con una espátula muy pequeña, se extrajeron y se pasaron a medio de cultivo PDA.

5. 4.2.2. Cultivos monospóricos

El método se empleó en los cultivos que produjeron conidios. El proceso se hizo de la siguiente manera: a la caja Petri con el hongo se le adicionaron 10 ml de agua destilada esterilizada y con ayuda de una espátula de goma se removieron los conidios, posteriormente con una pipeta Pasteur se tomaron 2 ml de la solución y se diluyó en 8 ml de agua destilada estéril, de estos se tomó una gota y se colocó en un porta objeto escabado y se observó al microscopio (10x). Con la técnica de diluciones se determinó la concentración, tomado una alicuota hasta tener de 5 a 10 conidios después se procedió a tomar una gota y distribuirla en el medio de cultivo. Finalmente se incubó a 28°C por 12 horas y con ayuda del microscopio estereoscopio se localizaron las colonias aisladas y se escogieron cuatro colonias de cada cepa.

A partir de estas dos técnicas se logró tener las cepas puras para luego determinar la patogenicidad de cada una de ellas.

5. 5. Prueba de Patogenicidad

A los hongos seleccionados se les determinó la patogenicidad a través de dos técnicas.

5. 5.1. Inoculación en plántula

Para esta técnica se utilizó como sustrato el medio de cultivo harina de maíz - Agar con antibiótico (Massago *et al* 1977; Tsao y Guy, 1977). Se pusieron tres semillas por caja

Petri a germinar, cuando las plántulas tenían cinco días de edad se inocularon con una solución de propágulos del hongo, esto se hizo con cada una de las cepas. Se incubaron con luz por tres días para luego proceder con la evaluación, esta se determinó en base a los síntomas que presentaron las plántulas.

5. 5.2. Inoculación en hoja

En esta técnica se consideró el principio de cámara húmeda, donde se colocó de papel filtro en el fondo de una caja de Petri, luego se colocaron 3 varillas de vidrio sobre esta una malla de plástico y se adicionó 5 ml de agua destilada esterilizada para humedecer el papel y se colocaron las hojas de chile sobre las cuales se inocularon discos de medio de cultivo con micelio del hongo de 4 mm de diámetro, las cajas se taparon. Se hicieron tres repeticiones de cada cepa y un testigo inoculado con un disco de medio de cultivo sin hongo. La evaluación se realizó entre los siete y 14 días en la cual se consideró patogénico si presentaba síntomas y signos.

5. 6. Identificación y Caracterización

Una vez que se determinó la patogenicidad de cada uno de las cepas se procedió a la caracterización e identificación de todas las cepas que se sembraron en PDA para su crecimiento, posteriormente se utilizaron según las claves de Boot 1987 para la identificación.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Cosecha y trilla de la semilla

Los frutos se cosechan cuando están maduros de color rojo, la semilla extraída de frutos inmaduros puede tener una germinación inferior al 10 %. Los frutos se cortan, se trituran o se maceran en maquinas similares a las utilizadas en tomate. La semilla se separa de la pulpa y de las pieles por lavado en un tamiz rotatorio. No se practica la fermentación. La semilla se lava y seca al sol en bandejas con fondo de tela metálica, puede secarse artificialmente como la semilla de tomate. Se almacena hasta por dos años si se maneja con los cuidados necesarios. En los trópicos puede almacenarse en recipientes metálicos con un contenido de humedad entre 8-10 %. El rendimiento medio de semilla es de 25-50 Kg/Ha. (Montes y Martínez 1990)

Pozo, (1983) mencionó que debido a la escasez de la semilla para siembra, el mercado sugiere que se obtenga de la siguiente manera: antes de realizar el primer corte se deben marcar las mejores plantas, que deberán reunir buenas características agronómicas como vigor, precocidad, frutos de buena calidad, abundancia de frutos y altura media. Una vez que los frutos estén rojos, se cortan aquéllos que no presenten síntomas de enfermedades. De esta manera se obtiene semilla para siembra, que se desinfecta con 850 gramos de Tiram por kilogramo de semilla y posteriormente se almacena en un lugar fresco y seco. (Pinto, 1969)

4.2 La germinación en la semilla de chile

La germinación es la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables. Las pruebas de germinación nos dan información con respecto a la capacidad de las semillas para producir plántulas normales. Además, estas pruebas permiten hacer comparaciones del poder germinativo entre diferentes lotes de semilla de la misma especie. (Arcos, *et al* 1998)

Las semillas viables no siempre germinan cuando se exponen a las condiciones óptimas para su germinación. Tales semillas tienen un periodo persistente de descanso (Jimenez, *et al* 1987).

Para que se lleve a cabo la germinación de las semillas es necesario lo siguiente:

a) La semilla debe ser viable, es decir, tener embrión vivo y capaz de crecer, b)

No deben existir barreras físicas, químicas o fisiológicas para la germinación y c)

La semilla debe estar expuesta a las condiciones ambientales apropiadas:

disponibilidad de agua, temperatura adecuada, provisión de oxígeno y en ocasiones luz. (Bustamante, 1997).

4.3 Enfermedades en almácigo

En 1983, Pozo mencionó que para la región de Guanajuato, la enfermedad más importante que se presentó en almácigo fue el ahogamiento o marchitamiento de las plantas, causado por un hongo del género *Pythium*. Gran parte del daño se presentó antes de la emergencia de las plantas; sin embargo, la semilla también pudo estar infectada (se vuelve suave y pierde su poder germinativo), o bien esto puede ocurrir después de la germinación, lo cual impide el brote de la planta. El ataque se presentó en el cuello del tallo a la altura del nivel del suelo y se observó una lesión que lo rodea, que es el estrangulamiento característico de la enfermedad.

En algunos casos, se puede presentar la enfermedad llamada tizón temprano, causado por el hongo *Alternaria solani* Sorauer que produce una lesión café oscuro alrededor del tallo y llega a marchitar las plántulas (Brauer y Richardson, 1957).

4.4. Efecto de los hongos en la semilla

El impacto directo de los hongos sobre las semillas es muy considerable. En la maduración de la misma se reduce la producción de semillas de calidad, otros hongos saprófitos y varios parásitos débiles pueden bajar la calidad al causar decoloración. Los fitopatógenos producen diferentes enfermedades como: aborto de la semilla, reducción del tamaño (semilla chupada), pudrición, esclerotización ó estromatización necrosis, decoloración etc.; lo que lleva a una reducción ó

eliminación de la capacidad de germinación así como alteraciones fisiológicas en la semilla (Neergaard, 1977).

Aborto de semilla. Existen ejemplos de hongos que son capaces de provocar el aborto de semillas, principalmente en cereales y pastos cuando el hongo afecta de forma sistémica (como el ergot), en este caso los órganos florales son remplazados por la fructificación de los hongos parásitos. Ciertos hongos parásitos, son patógenos de flores y estructuras jóvenes de la semilla, pero la pérdida de su patogenicidad ocurre cuando la semilla está a punto de madurar; otros hongos de este grupo afectan a la semilla madura y pueden ser de menor o de ninguna importancia en los primeros estados de desarrollo de *Drechslera sorokiniana*. Los hongos pueden tener poca o ninguna preferencia; algunos hongos fitopatógenos causan el deterioro en los óvulos y primordio de la semilla, estos reducen cuantitativamente la producción de semilla (Neergaard, 1977)

Reducción de tamaño de semilla (semilla chupada). Se da principalmente cuando existe la remoción de semillas de los frutos cuando aún no alcanza su madurez y se ve afectada de manera severa por hongos (*Alternaria brassicicola* (Schwein) y *Phoma lingam* (Tode:Fr) Desmaz en crucíferas).

Reducción de la producción de semilla. Es resultado del pobre desarrollo de la semilla causado por muchos hongos, los cuales no necesariamente son transmitidos por semilla. Los patógenos que atacan al follaje afectan directamente a la fotosíntesis lo cual es un factor adverso para el desarrollo de la semilla, un

ejemplo importante es el ennegrecimiento de los tallos causado por la roya *Puccinia graminis* Pers. Otros hongos que producen royas en cereales, zacates y otros cultivos así como el mildiu *Peronospora destructor* (Berk.) en cebolla y *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthier en la semilla de girasol reducen el contenido de aceite (Neergaard, 1977).

Pudrición de semilla. Varios de los hongos que afectan a la semilla ocasionan pudrición en las mismas, esto sucede durante la formación de la semilla en la planta y durante la germinación como ejemplo tenemos a *Fusarium* en cereales incluyendo a *F. avenaceum* (Corda:Fr) , *F. culmorum* (W.G. Sm.), *F. moniliforme* Sheldon,, *F. nivale* (Fr.) Ces. con un amplio rango de hospedantes (Neergaard, 1977).

4.4. 1 Antracnosis en la semilla de chile

La muerte del pedicelo puede ser ocasionada por *Colletrotrichum capsici* Syd.Bult. Los primeros reportes del este hongo afectando a la semilla de chile fueron en Madras, Bihar Assam (Chowhary 1957), donde la enfermedad se presentó en tres fases I) ennegrecimiento de las plántulas, o damping off.; II) manchas en hojas, originadas en diferentes estados de crecimiento. La infección se inicia en los pedúnculos de los frutos, posteriormente continua en las ramificaciones donde el avance es gradual, invadiendo completamente las ramas, las ramas principales también son infectadas y el síntoma clásico es la muerte del pedúnculo. Es más evidente cuando la invasión es cercana al estado de floración. III) Los síntomas presentan manchado y/o pudrición de los frutos rojos, una decoloración, reducción de la calidad y la reducción en la producción. Chowdhary (1957) reportó que cerca del 12 a 32 % de los frutos fueron afectados por *C. capsici* en Assam (Siddiqui, et al 1977).

Mriha y Siddique (1989) indicaron que los hongos causan pudrición, no solo afectan sino que reducen la calidad de los frutos y que pueden transmitirse a través de la semilla.

4.4. 2 *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum (Schlench. emend) Snyder & Hans. afecta directamente a la semilla de chile, reduciendo el porcentaje de germinación y crecimiento. Este hongo se encuentra frecuentemente en los aislamientos de las semillas de chile. Cuando el hongo se presenta en plántula provoca marchitamiento al momento del trasplante y cuando alcanza su desarrollo es muy común encontrarlo en pudriciones de fruto (Vidhyasekaran y Thiagarajan, 1981)

4. 4. 3 *Rhizoctonia solani*

Rhizoctonia solani Kühn es uno de los hongos comunes que causan el damping off en plántulas, puede degradar o desintegrar la semilla. Los primeros reportes que se tienen es que se encontró en las semillas de frijol, donde el micelio y esclerocios fueron localizados en el pericarpio debido a que las vainas estuvieron en contacto con el suelo (Kenneth ,1947).

Evidencias de que *Rhizoctonia solani* se transmite por semilla de chile (*Capsicum frutescens* L.) fueron reportadas en el Sur de California (E.U.A.) en el periodo de 1936-45, donde más de 500 acres de chile fueron afectados. Se detectó la presencia del hongo en la semillas, en los invernaderos. En los meses de diciembre a marzo las pérdidas en la producción de plántulas fueron considerables. Los suelos fueron pasteurizados, lo cual redujo las pérdidas por damping off en los semilleros comerciales pero a pesar de estas medidas se siguieron presentando muchas plántulas enfermas por este hongo. (Baker, 1947)

4. 4. 4 *Phytophthora capsici*

Leonian (1922) indicó que cuando la infección esta confinada a la cubierta de la semilla no interfiere en la germinación de la misma.

En México Villapudua (1977) reportó que aparentemente el hongo se encuentra en la semilla en forma de micelio, aunque se inoculen dos cepas compatibles del hongo, si las condiciones ambientales y el contenido de humedad en la semilla, no

le son favorables no sobrevivirá por más de un mes, concluye que el micelio en las semillas de chile no dura de una estación de cultivo a otra.

4. 4. 5 Enfermedades del fruto

En estudios realizados por Datar (1995) se encontraron seis hongos que causaban pudrición en fruto de chile (*Capsicum annuum* L.) estos fueron *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*), *Fusarium solani*, *Dechslera australiensis* (*Cochliobolus australiensis*) y *Colletotrichum capsici*.. En la India la patogenicidad de estos hongos se probó en frutos a diferentes temperaturas de 0 a 5 °C no produjo pudrición, de 10 a 25°C el daño fue reducido y entre 20 a 30 °C hubo desarrolló de hongos con capacidad de podrir a los frutos.

4. 5 Deterioro de la semilla

Existen tres conceptos que caracterizan el deterioro de las semillas: a) el proceso del deterioro es inevitable, b) el proceso del deterioro es irreversible y c) el deterioro varia entre una población de semillas a otra. Estos puntos se ven reflejados directamente en la baja germinación (McGee, 1998).

4. 6 Factores que afectan a la germinación

En el proceso de reanudación del crecimiento activo del embrión que se realiza en la semilla viable puede ser afectada por diversos factores como

- I. La humedad de la semilla superior al 14% va ocasionar el aumento de la respiración causando calentamiento y aceleración del deterioro de la semilla y cuando el contenido de humedad está entre los 5 y 6% puede haber rompimiento de estructuras membranosas de la célula del embrión.
- II. Temperatura.- La curva de equilibrio de humedad de las semillas es ligeramente influenciada por la temperatura, el calentamiento va causar la reducción del contenido de humedad y cuando baja la temperatura hay formación de cristales de hielo, los cuales causan trastornos en la membrana y contribuyen el deterioro de la semilla.
- III. Factores genéticos. Algunas semillas están genética y químicamente más adaptadas para el almacenamiento prolongado, la mayoría de las especies tienen testa dura y por lo tanto la cubierta es impermeable lo que da mayor longevidad. Existen semillas de vida corta, las diferentes especies pueden presentar características químicas similares en las semillas, pero genéticamente diferentes, también se presenta entre variedades de una misma especie
- IV. Presencia de hongos. Cuando el proceso de infección ocurre desde la fecundación hay aborto de semillas durante la maduración. Los hongos de almacén, que causan deterioro además de formación de metabolitos tóxicos que destruyen las células para su subsistencia saprófita.
- V. Daño mecánico.- Las prácticas de producción de semilla desde cosecha hasta el manejo de las mismas, siempre ocasionan daño mecánico aunque el efecto de tal daño en la calidad de las semillas no se manifiesta inmediatamente, pero su longevidad se reduce considerablemente.
- VI. Factores agronómicos. Las prácticas deficientes, la maduración de las semillas, temperatura, humedad del suelo, variedades,

estado de nutrición de la planta madre, también influye en la madurez de las semillas, que a la vez influyen en el grado de almacenamiento (Bustamante 1997).

Otras de las causas de la pérdida de semilla en el país son la reducción de vigor y viabilidad a nivel bioquímico que son difíciles de definir, ya que las semillas muestran una gran diversidad de respuestas ante el deterioro (Vázquez 1990).

Uno de los cambios bioquímicos observados son las membranas internas distorsionadas. Así, la síntesis de ATP es menor que en las semillas testigo, también es menor el consumo de oxígeno y la actividad respiratoria en general. Es de esperarse que el nivel energético celular sea insuficiente para satisfacer las necesidades de los procesos metabólicos esenciales para la germinación. 2. La capacidad de síntesis de proteína cae hasta un 20% del nivel en las semillas. Las causas de esta pérdida pueden ser varias, sobre todo considerando la variedad de los factores protéicos que están involucrados en la síntesis de proteínas. 3. La síntesis de ARN de todos los tipos también se reduce, lo mismo que la capacidad de procesar o modificar dichos ARN. La formación de los polisomas a partir de los ribosomas igualmente se afecta. 4. En general, las membranas celulares pierden cohesión y se afecta tanto la permeabilidad como la actividad de las enzimas adheridas a ellas. El metabolismo general pudiera verse afectado por el daño a las membranas (Vázquez, 1990).

4. 7 Viabilidad de la semilla de Chile

La viabilidad se ha definido como la capacidad de germinación bajo condiciones adecuadas. Las semillas viables pueden o no germinar inmediatamente. Las semillas con latencia son viables y requieren de tiempo o tratamiento específicos para que estas puedan germinar (Vázquez 1990).

El ADN (ácido desoxiribonucleico) deberá entonces sufrir un proceso de reparación al principio de la germinación, inmediatamente después de la entrada de agua, para asegurar su funcionalidad. Se tienen evidencias de que dos enzimas claves del mecanismo de reparación del ADN, la ADN polimerasa y la ADN ligasa, pierden actividad cuando las semillas se han deteriorado. La actividad de ambas enzimas se recupera conforme la germinación avanza; sin embargo, podrían estar ausentes en momentos críticos cuando la expresión de algunos genes es vital (Vázquez 1990).

La ruptura de ADN debe ser en principio un fenómeno netamente aleatorio, con rupturas en cualquier lugar y en cualquier célula. Algunas semillas habrán acumulado daños en regiones críticas del ADN y no germinarán, mientras que otras tendrán más suerte y podrán subsistir al daño (Vázquez 1990).

4. 8 Prueba de viabilidad con tetrazolio

Esta prueba permite determinar en forma rápida la condición biológica de las semillas en cuanto a viabilidad y vigor, lo cual es necesario en el comercio de las semillas. Además es útil para el análisis de semilla latente, así como para completar los datos obtenidos en una prueba de germinación y diagnóstico de las

causas del deterioro de las semillas. La prueba de tetrazolio debe llevar a cabo sólo con las semillas que no muestren signos de brote en los órganos germinales, es decir que no hayan estado bajo condiciones adecuadas de humedad y temperatura para iniciar su germinación (Moreno, 1984)

Principio de la prueba de viabilidad con tetrazolio. Esta prueba se basa en la reacción bioquímica de ciertas enzimas de las células vivas con la sal del tetrazolio, la cual consiste en la reducción del tetrazolio, formándose un compuesto rojo llamado formazan (Moreno 1984).

El color rojo se manifiesta en los tejidos del embrión y se debe a la reacción del hidrógeno en la respiración de las células vivas con la solución de tetrazolio absorbida en los tejidos embrionarios. Los embriones sanos absorben lentamente el tetrazolio y el color que se manifiesta es más ligero que el color que se muestra en embriones fracturados, viejos, helados o con otro tipo de daño. (Moreno, 1984)

La actividad de esos sistemas enzimáticos decrece paralelamente con la viabilidad de las semillas; por lo tanto, una coloración roja intensa es indicadora de la presencia de células vivas del embrión. En cambio, la no coloración o coloración rosa pálido son indicadoras de la muerte o poca viabilidad de las células y dado que el pigmento rojo que se forma es insoluble, no hay difusión del color rojo a las otras células; por lo tanto, las zonas viables que toman color-rojizo, se delimitan de las zonas muertas que mantienen su color original. Esto ha permitido llamar a esta prueba topográfica del tetrazolio. En diferentes especies de semilla se han elaborado esquemas, basados en la prueba topográfica con tetrazolio que permite

evaluar la viabilidad de un determinado lote de semillas mediante la prueba de una muestra representativa. (Moreno, 1984)

CONCLUSIONES

Los hongos fitopatógenos no tienen efecto directo en la germinación de la semilla de Chile

Los hongos *Fusarium Solani*(Mart) Sacc1881 *Fusarium equiseti* (Corda)Sacc1886 *Fusarium Oxysporum* Schlecht se encuentran en la semilla de Chile tipo mirasol . Estos son capaces de producirle enfermedad.

RESUMEN

La introducción de nuevas enfermedades en el cultivo de chile en una región determinada es una consecuencia de la movilización de la semilla entre los productores. El objetivo de este trabajo es determinar el efecto que tienen los hongos asociada a la semilla de chile sobre la germinación de esta, además patogenicidad de estos hongos así como caracterizarlos e identificarlos a nivel de especie. Se realizo un estudio en semillas proveniente de las localidades de Calera y Fresnillo, Zac., Se evaluó la viabilidad, sanidad y germinación de la semilla, la patogenicidad de los hongos asociados a la semilla se determino inoculando hojas y plántulas de chile. En la identificación se consideró las claves reportados por Both, 1977, Sneh, 1991 y Rotem, 1994. Los resultados de viabilidad fue 96% , germinación de 68% y sanidad de 28.5%, la comparación con el testigo indica que la viabilidad y germinación se comportan igual que este tratamiento. La sanidad mostró que no tiene influencia en la germinación y/o viabilidad. Los hongos identificados en la semilla no están afectando de manera directa la germinación. El 30.00 % de los

aislamientos de hongos resultó patogénico a nivel de hoja y plántula. Los hongos patogénicos fueron: *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*

Los hongos asociados a la semilla de chile no afectan la germinación de esta, pero muestran patogenicidad a nivel de hoja y plántula de chile.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La semilla de los municipios de Calera y Fresnillo Zacatecas Se analizó como una muestra por tratarse del mismo material.

6.1 Viabilidad

Los resultados obtenidos de viabilidad en el análisis de varianza, muestran que no hay diferencia significativa entre la media del testigo al nivel de confianza $\alpha=0.05$. La prueba de Tukey permitió visualizar estadísticamente que no hay diferencia entre los niveles medios las muestras(Cuadro1). La prueba al llevarla acabo puede presentar problemas en la interpretación de resultados pues puede haber errores de interpretación cuando hay fracturas del embrión, daños en el hipocotilo en el punto de inserción con los cotiledones o daños que comprenden puntos de crecimiento (Grabe 1996). Otros factores en que se pueden incurrir son la exposición continua al medio ambiente y la edad de la semilla

(Bustamente, 1997) de tal forma que esta prueba es una herramienta para conocer el estado de la semilla.

6.2 Germinación

La germinación es una prueba más contundente pero también tiene riesgos en este caso. A los datos obtenidos se aplicó el análisis de Varianza. Tales resultados indican que existe diferencia entre los tratamientos a un nivel de confianza $\alpha=0.05$. La comparación de media con el método de Tukey mostró que hay diferencia entre la muestra y el testigo este último obtuvo la tasa más alta en germinación(Cuadro1), aunque estadísticamente también existe similitud entre los tratamientos. El riesgo que se tiene cuando se germina semilla de chile es la latencia, en otros trabajos con el genero *Capsicum* determinaron que un factor limitante es la temperatura en que se lleva la germinación. En investigaciones sobre morfología determinaron que este también es un factor que afecta a este fenómeno(Guizar, 1981), La presencia de *Fusarium oxysporum* en la semilla también es un elemento limitante en la germinación(Vidhysekaran y Thiagajan, 1981)

Cuadro 1 Resultados de la prueba de Tukey correspondientes a viabilidad, germinación y sanidad

| PRUEBA | ZACATECAS | | TESTIGO | |
|---------------|------------------|--------|----------------|--------|
| | Media | Letras | Media | Letras |
| VIABILIDAD | 96.00 | A | 100.00 | A |
| GERMINACIÓN | 68.50 | A B | 97.00 | A |
| SANIDAD | 28.50 | A | 0.50 | B |

| | | | | |
|---------|-------|---|------|---|
| SANIDAD | 28.50 | A | 0.50 | B |
|---------|-------|---|------|---|

6.3 Sanidad

El análisis de varianza con un nivel de significancia a un nivel de confianza $\alpha=0.05$ y la prueba de Tukey se observa en el Cuadro 1 que existe diferencia significativa entre el testigo. La muestra presento el índice más alto de colonias de hongos comparado con le testigo. La presencia de hongos como: *Aspergillus* sp, *penicillum* sp. *Mucor* sp. *Rhizopus* sp. *Geotrichum* sp. *Alternaria* sp y *Fusarium* sp. Dhawale y Kodmelwar (1978) indican que estos hongos son parte de la microflora de la semilla de chile sin embargo también mencionan que la baja germinación esta relacionada con la presencia de estos hongos.

Los resultados mostrados en el cuadro 1 de viabilidad, germinación y sanidad muestran que la germinación y la viabilidad se comportan son estadísticamente iguales o con muy poca diferencia y que la sanidad no esta influenciando en el comportamiento de estos. En la gráfica se puede observar existen casos como el punto 1 que la presencia de colonias no afectó la germinación, otro caso es el punto 5 donde la germinación de la muestra de Zacatecas es baja pero también el numero de colonias(Figura 1). Con esto se puede decir que la presencia de los hongos en semillas viables no afecten de manera directa. El efecto de los hongos en la semilla pudiera darse después de que se lleva acabo este fenómeno lo que llevaría a determinar en que etapa fenológica de la plántula es cuando existe el daño por hongos.

Figura 1 Comportamiento de la viabilidad, germinación y sanidad en la semilla de chile tipo mirasol de los municipios de Calera y Fresnillo Zacatecas.

6.3.1 Purificación de aislamientos.

En el proceso de purificación de las colonias de hongos se obtuvieron 52 aislamientos las cuales se probó su patogenicidad mediante dos técnicas: Inoculación en hojas de chile

mostrando gran eficiencia en la respuesta. Las cepas patogenicas fueron aquellas capaces de invadir y causar síntomas. Las características son la asociación de necrosis y crecimiento del micelio en la superficie de la hoja. El testigo no produjo ningún síntoma al igual que algunos aislamientos.

Inoculación en la plántula. Es la forma más eficiente y rápida para la determinación de la patogenicidad de los hongos. En la plántula el hongo encuentra todas las condiciones para su crecimiento. La patogenicidad se expresó invadiendo completamente a la plántula y en algunos casos se observó como es capaz de producir estragulación en el tallo (Damping off) en tanto el testigo creció de manera normal y los aislamientos no patogenicos crecieron sobre el medio de cultivo sin dañar a la plántula.

Este proceso de pruebas de patogenicidad determinó que las pruebas llevaron al cumplimiento del objetivo. De tal forma que de los 52 aislamientos solo 30.00 % resultaron fitopatógenos.

6.4 Identificación

La caracterización fue el primer paso, En medio de cultivo harina de maíz se determinó el color de los aislamientos, forma de crecimiento, posteriormente se hicieron preparaciones microscópicas donde se determinó las características morfológicas y fisiológicas, basado en la clave de identificación (Booth, 1971) tomando todos criterios se identificaron a los siguientes hongos:

6.4.1 *Fusarium solani*

La identificación se realizó después de hacer la prueba de patogenicidad. Se procedió a la caracterización después de haber transcurrido siete días a 28°C en medio de cultivo Harina de Maíz Agar (HMA) donde se observó un color blanco del micelio. El color cambió hasta los 30 días en luz continua a un color café pálido.

La presencia de microconidios (Figura 2) fue muy abundante, las cuales son unicelulares y algunas veces se presentan bicelulares. La longitud de estos conidios fue de 8.50 - 12.15 μ y ancho 2.43-3 μ .

El hongo produjo muy pocos macroconidios (Figura 2) cuando solo tenía siete días de edad después de este se forman los macroconidios, la célula apical del macroconidio terminó en forma reducida y redondeada y la célula de la parte basal fue en forma de pie.

La ramificación de las fiálides (Figura 2) fue lateral, en general fueron muy largas excepto cuando estas empezaron a desarrollar. Las dimensiones de tamaño fueron de 46.17 - 60.75 X 2.43 - 3 μ . Las fialides se adelgazan en la parte terminal donde hay la producción de conidios.

La presencia de clamidosporas fue muy evidente cuando el cultivo tenía más de siete días de edad, estas se encontraron en la parte terminal, intercaladas y en cadena. Las

dimensiones variaron cuando llegó a fusionarse pero cuando se tomó el tamaño de clamidosporas individuales las dimensiones fueron 8.5- 12.15 X 8.5-9.2 μ .

Estas características concordaron con las que presenta Booth (1971) para la identificación de *Fusarium solani* (Mart.)Sacc. Las cepas patógenas presentaron las características antes mencionadas fueron aislamientos de Fresnillo y Calera Zac(1, 3, 5, 9, 11, 12 y 14)

Figura 2. *Fusarium solani* a) Clamidosporas en cadena, b) Clamidospora terminal, c) Macroconidios y microconidios y d) Fiálides larga.

6.4.2. *Fusarium oxysporum*

En medio de cultivo PDA el hongo se desarrolló muy bien y formó todas sus estructuras, sin embargo, Booth (1971) reporta como evidente el color de la cepa para la identificación de esta especie; por que hubo la necesidad de emplear el medio de cultivo HMA

El color de la cepa en medio de cultivo HMA varió de color rosado a color purpura intenso, el crecimiento micelial fue algodonoso, en algunas cepas el crecimiento fue en forma de estrías (raícillas) (Figura 3).

Los microconidios fueron abundantes en las diferentes etapas de crecimiento, la forma de estos fue oval a elipsoidal algunas veces curvadas. Generalmente fueron de una sola célula con dimensiones de 4.86-9.72 X 2.43-2.91 μ (Figura 3).

Los macroconidios fueron escasos a los siete días después de la siembra en medio de cultivo HMA y en PDA; las dimensiones fueron de 27.73 - 31.59 x 2.43-2.91 μ de forma muy similar a los macroconidios de *Fusarium solani*.

En comparación con *Fusarium solani* las fiálides de esta especie fueron cortas 4.86 - 12.15 μ con un estrangulamiento en la parte apical.

La presencia de clamidosporas fue muy evidente cuando la cepa alcanzó siete día de edad, las cuales se encuentran en la parte terminal, intercalar, o en parejas de dos y en cadenas en el micelio.

Todas las características coinciden con las citadas por Booth (1971), para la especie de *Fusarium oxysporum* Schlecht. Las cepas en estudio que cuentan con estos caracteres son: cepas de Frasnillo y Calera, Zac (2,4,6,13 y15),

Figura 3. *Fusarium oxysporum* a) Fiálide corta, b) microconidios y c) clamidosporas en cadena y terminales

6.4.3. *Fusarium equiseti*

La cepa de este hongo, en medio de cultivo HMA se tornó de color crema a color durazno y a los 30 días de edad presentó un color café. El crecimiento fue algodonoso en medio de cultivo PDA. La presencia de macroconidios fue abundante; la célula basal es en forma de pie fue muy marcada y también tomó la forma de un pedicelo; la célula apical es larga y curva con terminación en punta; el número de septas varía dependiendo de la cepa, cuando

los conidios estan adheridos a la fiálide los septos fueron 5 y cuando el macroconidio se encontró desprendido ya maduro el número de septos fue de 7; las dimensiones fueron de $48.6 \text{--} 53.46 \times 2.43\text{--}3.64\mu$ (Figura 4).

La fialides fueron simples, cortas y ramificadas lateralmente, con dimensiones de $9.72\text{--}12 \times 2.42 \text{--} 3\mu$ como se muestra en la Figura 4.

Clamidosporas presentes cuando hubo madurez de los macroconidios. Formandose de manera terminal e intercalar. (Figura 4).

Todas las características coinciden con las citadas por Booth (1971), para la especie de *Fusarium equiseti*. Las cepas en estudio que cuentan con estos caracteres son: cepas de Fresnillo y Calera, Zac (8).

Figura 4. *Fusarium equiseti* a) fiálide simple con macroconidios, b) macroconidios c) clamidosporas terminales y d) clamidosporas intercalares.

LITERATURA CITADA

Agarwal, K. V. y J. B. Sinclair. 1987. Principles of Seed Pathology CRC Ores Inc.
Boca Raton, Florida. U.S.A. VI 83 p.

Alexopoulos C.J., C.Mims W. and M. Blackwell. 1996. Introductory micology.
Fourth Edition Edit. Jonh Wiley & Sons, Inc. United States of
America. 869 p.

Arcos C. G., J. Hernández, H., D.E., Uriza A., O. Pozo, C. y A., Olivera S. 1998.
Tecnología para producir chile jalapeño en la planicie costera del
golfo de México. INIFAP, SAGAR, México D.F. Folleto técnico No 24.
206 p.

Baker K.F. 1947. Seed Transmission of *Rhizoctonia solani* in relation to control of
seedling damping off. Phytopathology 37 912-924.

- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, Uniteds Kindom.
- Bustamente G. L 1997. Apuntes del Curso de tecnología de semilla TEC500 UAAAN, Saltillo Coah.
- Chowdhary, S. 1957. Studies on development and control of fruit rot of chillies. *Indian Phytopathology* 10; 55-52.
- Christense C.M., Fanse, G. H. Nelson, Fern Bates and C.J. Mirocha. 1967. Microflora of Black and Red Pepper. *Applied Microbiology* 15:3, 622-626
- Datar W. 1995. Pathogenicity and effect of temperature on six fungi causing fruit rot of chilli. *Indian- Journal- Of Mycology and Plant Pathology* 25(3) 195-197.
- Dhawale S. D. And Kodmelwar R.V. 1978. Studies on Mycoflora of Chilli Seed. *Seed Research*. 6(1), 23-30.
- Doolittle S.P. 1953. Diseases of pepper, *Plant Diseases the Yearbook of agriculture*. United Department of Agriculture Washington, D.C. U.S.A.466-469.
- Fletcher J.T. 1994. *Fusarium* stem fruit rot of sweet pepper in the glasshouse. *Plant Pathology*. 43; 225-227.
- Grover K. Rajendra and R.D. Bansal . 1970. Seed-borne nature of *Colletotrichum capsici* in chilli seeds and its by seed dressing fungicides. *Indian Phytopathology* 13: 664-668

- Guizard D. J. 1981. Análisis de semilla y determinación de las posibles causas de anomalías en la germinación de una línea de chile serrano (*Capsicum annuum* L.) Tesis de licenciatura ITESM División de Ciencias Agropecuarias y Marítimas 67 p.
- Hurres P.C. y N. Caraballo L. 1988. Horticulture. Pueblo y Educación. Habana, Cuba. 193 p.
- Internacional Seed Testing Association. 1985. Rules for seed testing 1985. Seed Science and Technology 13(2): 299-520.
- Jarvis W. R., S. K. Khosla and S.D. Barrie. 1994 Fusarium stem and fruit rot of sweet pepper in Ontario greenhouses. Canadian Plant Disease Survey 72:2 131-134.
- Jiménez M. N., H. Valdez T., J.M. Garza L. 1991. Aspectos generales sobre la germinación de semillas de chile manzano (*Capsicum pubescens* R.& P) Revista Chapingo Año XV 43 p.
- Laborde C., J.A. y O. Pozo C. 1984. Presente y pasado del chile en México. SARH, INIA. México D.F. Publicación especial No 85. 80 p.
- Leonian L.H. 1922. Stem and fruit of pepper caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. Phytopathology 12. 401-408.
- Long S. J. 1984. Huella Histórica, situación actual y líneas de Investigación en. Presente y pasado del chile en México. SARH, INIA. México D.F. Publicación especial No 85. 8-11 pp.

- Manandhar , J.B. Hartman, G.L. and Wang T.C. 1995 Conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum capsici* and *C. gloeosporioides* isolates from pepper. Plant disease 79:361-366.
- Manandhar, J. B and Hartam, G. L. 1995. Semiselective Medium for *Colletotrichum gloeosporioides* and Ocurrence of Three *Colletotrichum spp.* Pepper Plants.
- Masago, H., Yoshikawa, M. Fukada, and Nakanishi. 1977. Selective inhibition of *Pythium spp.* On medium for direct isolation of *Phytophthora spp.* From soils and plants. Phytopathology 67:425-428.
- Mathur R. L. and J.P. Agnihotri. 1961. Internal Mould of chillies caused by *Alternaria tenuis* Auct. Indian Phytopathological 13: 104-105
- McGee, D. 1998. Perspectivas de las enfermedades transmitidas por la semilla. Curso Internacional sobre Tecnología de Producción de Semillas de Maíz. CIMMYT, El Batán Edo de México. 1-5 pp
- Menzies J.G. and Jarvis W.R. 1994. The infestation of tomato seed by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Plant Pathology. 43,378-386.
- Montes F. C. y A. Martínez G. 1990. Producción de semilla de chile serrano. Análisis de la enseñanza, producción e investigación de semillas en México(Eds) J. Molina M., J.A. Estrada, G., M. Livera ,M. Y V.A. González H. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. (SOMEFI) Chapingo, México pp: 83-8786

- Mridha . A. U. And Siddique A. B. M. 1989. Fruit Rot Disease of Chilli in Relation to seed Infection. Seed Research. 17:(2): 174-177.
- Mridha M .A U. And Siddique A.B.M. 1989. Fruit Rot Disease of Chilli in Relation to Seed Infection. Seed Research 17:(2): 174-177.
- Nedumaran S. and p. Vidhysekaran. 1981. Control of *Fusarium semitectum* infection in tomato seed. 9: (1): 28-31.
- Neergaard P. 1977. Seed pathology, Vol. 1 and 2, Mcmillan, London, 1187 p.
- Pinto C.B. 1969. El cultivo del chile, Novedades Horticolas, SARH, INIA Mexico D.F. Vol XIV 3-26 pp.
- R. Khulbe A.P. Dhyani and M. C. Sati. 1991. Seed-borne *Didymella lycopersici* and *Diaporthe phaseolorum*: their location in seed, transmission and pathogenic importance in red pepper and bell pepper. Indian Phytopathology 44:4 480-486.
- Rajendra K. G. and R.D. Basal. 1970 . Seed-borne nature of colletotrichum capsici in chile seeds and its control by seed dressing fungicides. Indian Phytopatology V-13 - 664668
- SAGAR. 1996. Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos 1996. tomo II. Secretaria de Agricultura Ganaderia y Desarrollo Rural, Centro de Estadistica Agropecuaria pp: 382-388.
- Saracco F., R. J. Bino, J.H.W. Bergervoet and Lanteri S.. 1995. Influence of priming-induced nuclear replication activity on storability of pepper (*Capsicum annum* L.) seed. Seed Science Research. V: 5, 25-29.

- Siddiqui M. R., Sing D. and Gaur A. 1977. Prevalence of Chilli Anthracnose Fungus on Seeds and Its Effective Control. *Seed Research*. 5:1 67-72.
- Simmons E.G. 1967 Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. *Mycologia* 59:67-92.
- Sinha O.K. and M.N. Khare 1977. Control of seed-borne *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium equiseti* by hot treatment of cowpea seeds. *Seed Research* 5(1): 20-23.
- Smith R. W. and Crossan D. F. 1958. The taxonomy, etiology, and control of *Colletotrichum capsici* (Syd.) B. & B. *Plant Disease Reporter*. 42(10): 1099-1103.
- Sneh B. L. Burpee and A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. The Phytopathological Society (APS PREES) St. Paul Minnesota, USA. p:133.
- Tsao, P.H., and S.O. Guy. 1977. Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a *Phytophthora*-isolation medium containing hymexazol. *Phytopathology* 67: 796-801
- Vanangamudi K., Subramanian, K. S. and Baskaran M. 1990. Influence of irrigation and Nitrogen on the Yield and Quality of Chilli Fruit and Seed. *Seed Research* 18:2 114-116.
- Vazquez R. J.M. 1990. La bioquímica como herramienta para el estudio de la germinación. Análisis de la enseñanza, producción e investigación de

semillas en México(Eds) J. Molina M., J.A. Estrada, G., M. Livera ,M. Y V.A. González H. Sociedad Mexicana de Fitogenetica, A.C. (SOMEFI) Chapingo, México pp: 189-202.

Verma M. L. 1973. Comparative studies on virulence of isolates of four species of *colletotrichum* parasitic on chillies. *Indian Phytopathology*. 26: 27-31.

Vidhyasekaran y Thiagarajan, 198. Seed-borne transmission of *Fusarium oxysporum* in chili. *Indian Phytopathology*; 34(2) 211-213.

Villapudua J.R. 1977. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de “Marchitez del chile “ tesis de Maestria. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 64 p.

Vir. D. and Grewal J.S. 1961. Efficacy of different fungicides. III Seed disinfection in relation to damping-off of chillies (*Capsicum annuum* Linn). *Indian Phytopathology*. 14,10-12.

Warhan E.J., L.D. Butler y B.C. Sutton. 1997. Ensayos para la semilla de maíz y trigo. Manual de Laboratorio. CIMMYT. México D.F. 84p.

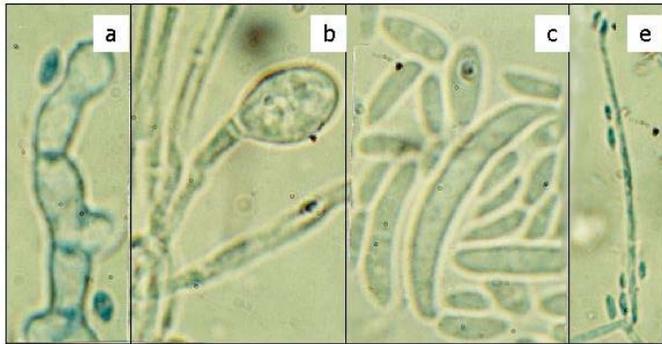


Figura 2. *Fusarium solani* a) Clamidosporas en cadena, b) Clamidospora terminal, c) Macroconidios y microconidios y d) Fiálides larga.

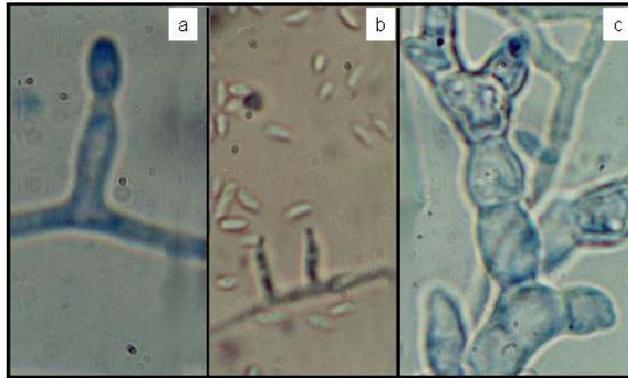


Figura 3. *Fusarium oxysporum* a) Fiálide corta, b) microconidios y c) clamidosporas en cadena y terminales

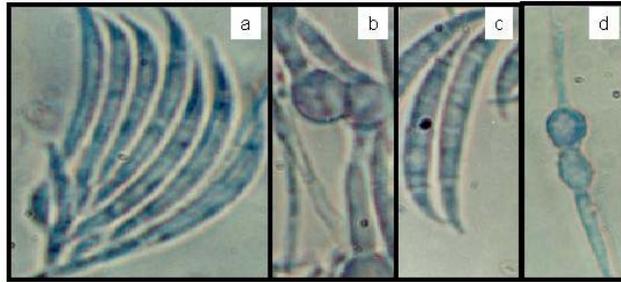


Figura 4. *Fusarium equiseti* a) fiálide simple con macroconidios, b) macroconidios c) clamidosporas terminales y d) clamidosporas intercalares

