

## RESEARCH/ INVESTIGACIÓN

### AVANCES EN EL CONOCIMIENTO SOBRE EL ROMPIMIENTO DE LA RESISTENCIA DE CHILE CM-334 (*CAPSICUM ANNUUM* L.) A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* POR *NACOBBUS ABERRANS*

O. Nabor-Romero<sup>1</sup>, R. I. Rojas-Martínez<sup>1</sup>, D. L. Ochoa-Martínez<sup>1</sup>, J. Vega-Arreguin<sup>2</sup>, F. A. Sánchez-Flores<sup>3</sup>, y E. Zavaleta-Mejía<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo. de México, CP 56230, México; <sup>2</sup>Ciencias Agrogenómicas, Escuela Nacional de Estudios Superiores, UNAM, Boulevard UNAM #2011, Los Tepetates, León, Guanajuato, CP. 37684, México; <sup>3</sup>Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática. Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad 2001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, CP. 62210, México; \*Autor de correspondencia: zavaleta@colpos.mx

---

#### RESUMEN

Nabor-Romero, O., R. I. Rojas-Martínez, D. L. Ochoa-Martínez, J. Vega-Arreguin, F. A. Sánchez-Flores, y E. Zavaleta-Mejía. 2020. Avances en el conocimiento sobre el rompimiento de la resistencia de chile CM-334 (*Capsicum annuum* L.) a *Phytophthora capsici* por *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 50:45-58.

La marchitez del chile causada por el oomiceto *Phytophthora capsici*, es un grave problema que limita la producción del cultivo en México y otros países. Cuando las condiciones son favorables (suelo saturado y temperatura entre 18 y 30°C) puede afectar hasta el 100% de la producción. La mejor alternativa para combatir esta enfermedad es mediante el uso de materiales resistentes a *P. capsici*. El genotipo de chile Criollo de Morelos 334 (CM-334), es clasificado como resistente a *P. capsici*; sin embargo, su resistencia a este patógeno se pierde cuando es infectado por el nematodo *Nacobbus aberrans*, fenómeno conocido como rompimiento de resistencia. En la presente revisión de literatura, se incluyen los resultados de los estudios que a la fecha se han realizado con el propósito de conocer los cambios moleculares inducidos por el nematodo y que se podrían asociar con el rompimiento de la resistencia. Tales como, la disminución en la expresión de los genes *WRKY-a*, *WRKY1*, *EAS*, *POX*, *PR-1*, *GLU* y *Hmg2*, la reducción de la actividad de peroxidasas y PAL, así como el decremento en el contenido de ácido clorogénico y de capsidiol y el retraso en la respuesta de hipersensibilidad.

*Palabras clave:* Marchitez del chile, mecanismos de defensa, nematodo falso agallador, rompimiento de resistencia

---

#### ABSTRACT

Nabor-Romero, O., R. I. Rojas-Martínez, D. L. Ochoa-Martínez, J. Vega-Arreguin, F. A. Sánchez-Flores, and E. Zavaleta-Mejía. 2020. Advances in knowledge about breaking of resistance of chili CM-334 (*Capsicum annuum* L.) to *Phytophthora capsici* by *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 50:45-58.

*Phytophthora* wilting of chili pepper induced by the oomycete, *Phytophthora capsici*, is a serious problem that limits crop production in Mexico and other countries. When conditions are favorable (saturated soil and a temperature of 18 to 30°C), the pathogen can cause up to 100% reduction in production.

The best alternative to combat this disease is through the use of varieties resistant to *P. capsici*. The chili cv. Creole of Morelos 334 (CM-334) is classified as resistant to *P. capsici*; however, resistance to *P. capsici* is lost when it is also infected by the nematode *Nacobbus aberrans*, a phenomenon known as breaking of resistance. We present the results of studies that have been carried out with the purpose of characterizing the molecular changes induced by the nematode and potentially associated with the resistance breaking. Decrease in the expression of the genes *WRKY-a*, *WRKY1*, *EAS*, *POX*, *PR-1*, *GLU* and *Hmg2*, the reduction of peroxidases and PAL activity, as well as the decrease in the content of chlorogenic acid and capsidiol, and the delay of the hypersensitive response were found.

*Key words:* Breaking of resistance, defense mechanisms, false root-knot nematode, wilting of chili

## INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum annuum* L.) es uno de los cultivos más importantes en México y se cultiva prácticamente en todo el país (Aguilar, 2012). La planta es atacada por diferentes patógenos, destacando el oomiceto *Phytophthora capsici*, agente causal de la marchitez del chile (Leonian, 1922).

*Phytophthora capsici* es un patógeno devastador, por su rápida propagación (mediante la producción de esporangios y zoosporas) y pérdidas de hasta el 100% que ocasiona en este cultivo, se ha convertido en un desafío para investigadores de todo el mundo, quienes han estudiado la compleja interacción del patosistema *Capsicum* – *Phytophthora* (Barchenger *et al.*, 2018). A pesar de los avances y conocimiento generado sobre los mecanismos involucrados en la defensa y los cambios estructurales y funcionales que se presentan en la planta de chile durante el proceso de infección de *P. capsici*, la interacción del patosistema a nivel genético y molecular no ha sido comprendida en su totalidad (Castro *et al.*, 2012). Mientras tanto, la diseminación de la enfermedad va en aumento, debido a que la mayoría de cultivares comerciales son susceptibles al oomiceto y los métodos de control químico, biológico y cultural han sido poco efectivos (Barchenger *et al.*, 2018). Por tal razón, la mejor estrategia para el manejo de la enfermedad es el uso de genotipos resistentes, entre los cuales destaca el chile Criollo de Morelos 334 (CM-334) que es altamente resistente a *P. capsici* (Guerrero y Laborde, 1980; Gil *et al.*, 1991).

Se han realizado diferentes estudios moleculares con la finalidad de identificar los genes que le confieren la resistencia a CM-334, como base para el mejoramiento genético del chile (Richins *et al.*, 2010; Ashrafi *et al.*, 2012; Naegele

*et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2016). A pesar del alto grado de resistencia del chile CM-334 a *P. capsici*, se ha comprobado que cuando es previamente infectado por el nematodo falso agallador *Nacobbus aberrans*, pierde su resistencia y se comporta como susceptible al oomiceto (Vargas *et al.*, 1996; Zavaleta-Mejía, 2002; Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005). Este nematodo induce una reprogramación de la expresión génica de la planta que involucra la modulación y/o supresión de algunos genes de defensa para crear un ambiente favorable para su establecimiento y conclusión exitosa de su ciclo de vida (Godínez-Vidal *et al.*, 2010; Fernández-Herrera *et al.*, 2012; López-Martínez *et al.*, 2011; Villar-Luna *et al.*, 2015a, 2015b, 2015c). En esta revisión se presentan los avances de los estudios del rompimiento de resistencia en el modelo del chile CM-334 - *N. aberrans* - *P. capsici*.

### *Phytophthora capsici*

El oomiceto *P. capsici* (Leonian, 1922), agente causal de la marchitez del chile, infecta las plantas de chile en cualquier etapa fenológica, induciendo tizón foliar y pudrición en raíz, tallo y frutos (González *et al.*, 2009; Foster y Hausbeck, 2010). Este patógeno es una especie heterotálica que se puede reproducir tanto asexual como sexualmente. En condiciones de campo, el contacto de *P. capsici* con el agua favorece su reproducción asexual a través de la producción de esporangios y zoosporas motiles flageladas (Barchenger *et al.*, 2018) que se diseminan fácilmente a través del agua de lluvia o de riego. Una vez que tienen contacto con la raíz, se desprenden de los flagelos y se adhieren a su superficie produciendo un tubo germinativo que penetra la cutícula (Kurt *et al.*, 2012). El oomiceto tiene la capacidad de degradar la pared celular mediante la secreción de poligalacturonasas, pectinmetil esterases y pectato

líasas, así como la membrana celular mediante la secreción de la capsiceína (Chávez-Díaz y Zavaleta-Mejía, 2019).

Pang *et al.* (2017) reportaron 1,200 proteínas que ayudan al oomiceto a establecerse en las primeras etapas de la infección, asociadas principalmente con la degradación de ácidos grasos, glucólisis, ciclo del ácido tricarbóxico y la ruta de la pentosa fosfato, proporcionando la energía necesaria para lograr la infección y el desarrollo de micelio. En etapas tempranas de la infección por *P. capsici*, las células del hospedante no parecen afectadas (biotrofia), pero a medida que avanza las destruye (necrotrofia), ocasionando necrosis y colapso del tejido, seguido de la emergencia de esporangios, que son estructuras de dispersión responsables de un nuevo ciclo de infección (Kurt *et al.*, 2012).

*Phytophthora capsici* está presente en todas las áreas productoras del cultivo de chile y bajo condiciones favorables puede afectar hasta el 100% de la producción, ocasionando severas pérdidas económicas (Fernández *et al.*, 2013; Jeon *et al.*, 2016; Barchenger *et al.*, 2018), por lo que se considera la enfermedad más importante de este cultivo. Las estrategias de manejo de la enfermedad son el uso de semilla certificada, adecuada densidad de plantas, reducción de la humedad, rotación de cultivos, control biológico y químico (Lee *et al.*, 2008; González *et al.*, 2009). Sin embargo, la mejor alternativa es el uso de genotipos de chile resistentes a *P. capsici*. No obstante, la estabilidad de la resistencia es comprometida por la existencia de razas fisiológicas del oomiceto (Oelke *et al.*, 2003; Glosier *et al.*, 2008), a pesar de lo cual el genotipo de chile tipo serrano “Criollo de Morelos 334” (CM-334) ha destacado por su alto nivel de resistencia.

#### “Criollo de Morelos 334” (CM-334) y su resistencia a *P. capsici*

En México se inició un programa de mejoramiento genético de la planta de chile, en 1966 se evaluaron genotipos resistentes procedentes del extranjero, los cuales fueron susceptibles a las cepas de *P. capsici* presentes en el país (Heredia, 1966; Redondo, 1979; Fernández *et al.*, 2012). Considerando estos resultados, investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

(INIFAP) recolectaron materiales nativos de México. Diecinueve materiales criollos provenientes del estado de Morelos mostraron resistencia a *P. capsici*, destacándose el “Criollo de Morelos 334” por su alto grado de resistencia, aun cuando se inoculaba con las cepas más virulentas del patógeno (Guerrero y Laborde, 1980; Gil *et al.*, 1991).

El material CM-334 es resistente a *P. capsici*, sin importar la virulencia de la cepa aislada, el estado fenológico de la planta o las condiciones ambientales (Palloix *et al.*, 1988; Glosier *et al.*, 2008). Además, es resistente a *Potato virus Y* (PVY), *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV), *Pepper mottle virus* (PepMoV), *Pepper severe mosaic virus* (PepSMV) y a *Ecuadorian rocoto virus* (ERV) (Boiteux *et al.*, 1996; Janzac *et al.*, 2009), así como a tres especies de nematodos agalladores: *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*. Se ha sugerido que la resistencia del material CM-334 a estas tres especies es conferida por el gen *Me7* y por barreras físicas o la exudación de algún compuesto nematostático que impiden la migración, desarrollo y reproducción del nematodo (Pegard *et al.*, 2005). En contraste con lo anterior, el material CM-334 es susceptible a *M. enterolobii* (Villar-Luna *et al.*, 2017) y a *N. aberrans* (Vargas *et al.*, 1996; Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005).

Fernández-Pavía (1997) comprobó que *P. capsici* tiene la capacidad de penetrar las células de las raíces del material CM-334, pero su colonización se inhibe entre los 3 y 4 días después de su inoculación (ddi), presentando sólo ligeras lesiones de 1 a 5 cm en el ápice de raíces laterales, con la ausencia de síntomas de la enfermedad. En contraste, la infección de un genotipo susceptible ocasionó la muerte de la planta a los 7-10 ddi. Estas observaciones indicaron que la resistencia del material CM-334 no está conferida por barreras físicas que impiden la penetración de *P. capsici* y que muy probablemente la defensa se manifiesta después de la penetración.

Los mecanismos de defensa involucrados en esta interacción implican la activación de varios genes que conducen a la síntesis *de novo* de varias proteínas y compuestos antimicrobianos. Por ejemplo, los genes de defensa *HMG*, *SC* y *EAS* (hidroximetilglutaril-CoA reductasa, sesquiterpeno ciclasa, y 5-epiaristoliqueno sintasa, respectivamente), implicados en la biosíntesis de fitoalexinas sesquiterpénicas con propiedades antimicrobianas como el capsidiol, son sobre-

expresados en respuesta al ataque por *P. capsici* (Silvar *et al.*, 2008; Fernández-Herrera *et al.*, 2012; Villar-Luna *et al.*, 2015b).

El capsidiol se deriva de la ruta del mevalonato y su biosíntesis es regulada por las enzimas EAS y EAH (epi-aristoloqueno dihidroxilasa) (Bohlmann *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 2005). Esta es la principal fitoalexina sesquiterpénica en la planta de Chile, la cual puede reducir en 50% el contenido proteico en las membranas de *P. capsici* y una pérdida del 33% de los fosfolípidos, con un desprendimiento subsecuente de diversos lípidos neutros (Turelli *et al.*, 1984). Por lo tanto, su acumulación en las zonas de infección inhibe o restringe el crecimiento de este patógeno en la planta de Chile (Egea *et al.*, 1996; Candela *et al.*, 2000). La acumulación de esta fitoalexina con frecuencia se asocia con la resistencia a *P. capsici* en raíz, tallo y follaje en algunos genotipos de *Capsicum* spp. (Ward, 1976; Molot *et al.*, 1981; Egea *et al.*, 1996). El efecto tóxico de esta fitoalexina, también se demostró en el segundo estado juvenil (J2) de *N. aberrans* (Godínez-Vidal *et al.*, 2010).

La resistencia a *P. capsici* también se asocia con incrementos en la actividad de la fenilalanina amonio-liasa (PAL, por sus siglas en inglés), enzima importante en la ruta de los fenilpropanoides y a través de la cual se sintetizan distintos metabolitos secundarios como los ácidos fenólicos, flavonoides, isoflavonoides y coumarinas con propiedades antimicrobianas que son fundamentales en los mecanismos de defensa de las plantas (Salisbury y Ross, 1996; Vogt, 2010). Las respuestas de defensa del material CM-334 a *P. capsici* también se relacionaron con un aumento en la expresión de los genes *pal*, asociados a compuestos fenólicos que inhiben el crecimiento del patógeno (Fernández-Pavía, 1997). Del mismo modo, PAL está involucrada en la biosíntesis del ácido salicílico (AS), esencial en la resistencia sistémica de la planta (Dae y Byung, 2014). Además del AS, el ácido jasmónico (AJ), se ha asociado con la defensa del material CM-334 a *P. capsici*. Después de la inoculación con el oomiceto se registró un incremento inmediato del AJ, seguido de una disminución concomitante con un incremento de los niveles de AS, lo que provocó una respuesta de hipersensibilidad (RH). Esto sugiere que ambas fitohormonas tienen diferentes funciones en la respuesta de defensa (Ueeda *et al.*, 2006; Castro *et al.*, 2012).

La resistencia del material CM-334 a *P. capsici* también se asocia con incrementos en la actividad de proteínas relacionadas con la patogénesis (PRPs), como  $\beta$ -1,3-glucanasas, peroxidasa y PR-1 (Fernández-Pavía, 1997; Egea *et al.*, 1999; Silvar *et al.*, 2008). Las PRPs por lo general se sintetizan en respuesta al ataque por patógenos y se consideran uno de los principales mecanismos de defensa de las plantas (Van Loon *et al.*, 2006; Vidhyasekaran, 2008). La función de las  $\beta$ -1,3-glucanasas es hidrolizar la  $\beta$ -1,3-glucano, componente mayoritario de la pared celular de los oomicetos (Selitrennikoff, 2001). En interacciones incompatibles de la planta de Chile resistente - *P. capsici*, se ha observado un incremento en la actividad de  $\beta$ -1,3-glucanasas, en comparación con las interacciones compatibles (materiales susceptibles) (Egea *et al.*, 1999). Las peroxidasa participan en el reforzamiento de la pared celular por la deposición de lignina y suberina, que constituyen una barrera física al avance del patógeno (Passardi *et al.*, 2005). Las proteínas PR-1 están involucradas en el engrosamiento de la pared celular, lo que impide el avance del patógeno; además, pueden tener un efecto tóxico contra éste (Benhamou *et al.*, 1991; Niderman *et al.*, 1995).

Richins *et al.* (2010) y Jones *et al.* (2015) encontraron un gen que codifica una proteína de pared celular rica en glicina, que en el material CM-334 proporciona resistencia a *P. capsici* en raíz y hoja. La función de la proteína es desconocida, no obstante, Richins *et al.* (2010) sugieren que se podría relacionar con la detección y reconocimiento del oomiceto, así como la defensa contra el patógeno a través del reforzamiento de la pared celular.

El análisis transcriptómico de las interacciones del Chile CM-334 - *P. capsici* (incompatible) y del Chile NM6-4 - *P. capsici* (compatible), reveló la alteración de 168 genes y los que más se expresaron en la planta fueron PRPs, catalasas y asparagina sintetasa; de los cuales sólo 22 genes se sobre-expresaron en el material resistente (Richins *et al.*, 2010).

La resistencia del material CM-334 a *P. capsici* se atribuye a genes localizados en diferentes cromosomas. Estudios de detección de loci de carácter cuantitativo (QTL, por sus siglas en inglés) y su mapeo indicaron que el QTL más consistente, estaba ubicado en el cromosoma cinco y por lo tanto, se le considera como el de mayor

importancia en la resistencia al oomiceto (Bonnet *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2019). Otros se localizaron en los cromosomas 1, 2, 4, 5, 6, 10 y 11, presentándose en cada uno un número distinto de QTL (Thabuis *et al.*, 2004; Bonnet *et al.*, 2007; Truong *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2016; Toğaç *et al.*, 2019).

A pesar de las investigaciones realizadas, la base genética en el material CM-334 que le confiere resistencia a *P. capsici* no se conoce completamente (Jones *et al.*, 2015). Sin embargo, con base en la detección de los QTL relacionados con resistencia al oomiceto y genes que se expresan diferencialmente en las respuestas de defensa de la planta al ataque por el patógeno (Truong *et al.*, 2012; Jones *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2019) se ha propuesto que la resistencia del chile CM-334 es de naturaleza poligénica (Richins *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2019; Naresh *et al.*, 2019; Toğaç *et al.*, 2019).

#### *Nematodo falso agallador (Nacobbus aberrans)*

*Nacobbus aberrans* tiene una amplia gama de hospedantes, que incluye 84 especies de plantas de 18 familias, incluyendo cultivos de importancia económica como papa (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), chile (*Capsicum annuum*) y remolacha azucarera (*Beta vulgaris*) (Brodie *et al.*, 1993; Manzanilla-López *et al.*, 2002; Manzanilla-López, 2010). En México este nematodo causa pérdidas de rendimiento del 12-83% en tomate (Cristóbal *et al.*, 2006), 36% en frijol (Manzanilla-López *et al.*, 2002) y en chile; sin embargo, de este cultivo las estadísticas de pérdida de rendimiento no están disponibles. Se ha reportado en Coahuila, Guanajuato, Michoacán, Hidalgo, Ciudad de México, Morelos, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala, Zacatecas (Toledo *et al.*, 1993; Manzanilla-López *et al.*, 2002; Cabrera-Hidalgo *et al.*, 2019) y Estado de México (Yáñez-Juárez *et al.*, 2001; Villa-Briones *et al.*, 2008; Cabrera-Hidalgo *et al.*, 2019).

El nematodo falso agallador tiene etapas endoparasitarias migratorias y endoparasitarias sedentarias en su ciclo de vida (Eves-van *et al.*, 2014). Todos los estados de desarrollo del nematodo como juveniles, hembras vermiformes y machos se pueden comportar como parásitos migratorios, que producen cavidades y lesiones dentro de los tejidos radicales. Mientras que las hembras maduras y grávidas son endoparásitas

sedentarias que establecen sitios de alimentación permanentes e inducen agallas en las raíces del hospedante (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

El ciclo de vida comprende los estados de huevo, cuatro estados juveniles y la etapa adulta; dentro del huevo se desarrolla el primer estado juvenil (J1) y ocurre la primera muda, originando el estado juvenil 2 (J2). Después de la eclosión, los J2 penetran las raíces secundarias (ingresando y saliendo con frecuencia), donde se mueven intracelularmente (Clark, 1967; Inserra *et al.*, 1983). La muda de los estados J2 a J3 y a hembra o macho J4 puede ocurrir en la raíz o en el suelo (Manzanilla-López, 1997). Dentro de la raíz, la hembra inmadura se aloja cerca del cilindro vascular e induce la formación del sitio especializado de alimentación (estructura que también puede ser inducida por la hembra J4), en este estado sécil alcanza la madurez y su posterior fecundación conduce a la deposición de huevos en una matriz gelatinosa que es visible en la superficie de las agallas (Manzanilla-López *et al.*, 2002; Eves-van *et al.*, 2014).

El sitio especializado de alimentación se denomina sincitio, que puede involucrar a más de 185 células y puede medir hasta 8 mm (Palomares-Rius *et al.*, 2017). Se forma modificando una sola célula (célula sincitial inicial) que es metabólicamente más activa, se extiende longitudinalmente a lo largo del cilindro vascular, se disuelve su pared celular y su protoplasto se fusiona con los de las células adyacentes mediante la disolución de sus paredes celulares. El sincitio es la única fuente de nutrimentos para la hembra adulta durante varias semanas (Manzanilla-López *et al.*, 2002; Eves-van *et al.*, 2014; Rehman *et al.*, 2016; Palomares-Rius *et al.*, 2017).

La interacción de *N. aberrans* con su hospedante está mediada por la actividad de efectores (toxinas y/o proteínas), los cuales se sintetizan en las glándulas esofágicas del nematodo y se secretan a las células del hospedante a través del estilete (Bent y Mackey, 2007; Jones *et al.*, 2011; Mitchum *et al.*, 2013; Kikuchi *et al.*, 2017). Los efectores son los responsables de las modificaciones metabólicas y transcripcionales de las células del hospedante, que involucra la supresión de las respuestas de defensa y cambios en los procesos fisiológicos como la alteración del equilibrio de las fitohormonas, con la finalidad de inducir y mantener el sitio especializado de alimentación para poder completar su ciclo de vida

(Mitchum *et al.*, 2013; Eves-van *et al.*, 2014; Palomares-Rius *et al.*, 2017).

Eves-van *et al.* (2014) realizaron el primer análisis transcriptómico de *N. aberrans* y encontraron que, en diferentes etapas de su ciclo de vida, el nematodo secreta efectores que se creía eran “específicos” de los nematodos que se enquistan y de los formadores de agallas. El análisis filogenético multigénico de *N. aberrans* indicó que su proximidad con los nematodos formadores de agallas sólo se relaciona con la formación de nudos o agallas, mientras que las demás características de la interacción biotrófica son más análogas a las de los nematodos que se enquistan (Eves-van *et al.*, 2014). Por otra parte, estudios bioquímicos y moleculares sugieren que *N. aberrans* se puede considerar como un complejo de especies o grupos con una serie de biotipos o razas fisiológicas (Ibrahim *et al.*, 1997; Manzanilla-López *et al.*, 2002; Reid *et al.*, 2003; Anthoine y Mugniéry, 2005; Lax *et al.*, 2007; Vovlas *et al.*, 2007; Manzanilla-López, 2010; Cabrera-Hidalgo *et al.*, 2019).

#### *Rompimiento de la resistencia del material de Chile CM-334 a P. capsici ocasionado por N. aberrans*

A pesar del alto grado de resistencia del material CM-334 a *P. capsici*, se encontró que cuando las plantas de este material son previamente infectadas por *N. aberrans*, éstas se comportan como susceptibles al oomiceto, produciéndose así el fenómeno conocido como rompimiento de resistencia (Vargas *et al.*, 1996; Zavaleta-Mejía, 2002; Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005). Este fenómeno, implica que variedades de plantas resistentes al ataque de oomicetos y hongos, al ser infectadas por nematodos fitoparásitos se comportan como susceptibles (Hernández-Anguiano *et al.*, 1992; Zavaleta-Mejía, 2002). *N. aberrans* completa su ciclo biológico sólo si es capaz de inducir la formación del sincitio, que involucra una reprogramación de la expresión génica de las células hospedantes (Zavaleta-Mejía, 2002).

Cuando se realizaron experimentos con plantas de Chile CM-334, con el sistema radical dividido en dos macetas diferentes, donde se inoculó por separado el oomiceto y el nematodo, se comprobó que las plantas se comportaron como susceptibles, indicando que el rompimiento de resistencia no era atribuible al daño mecánico

ocasionado por *N. aberrans*, sino a posibles cambios fisiológicos y/o bioquímicos involucrados en la interacción planta-nematodo-oomiceto (Vargas *et al.*, 1996).

Fernández-Pavía (1997) confirmó que la resistencia del Chile CM-334 ocurría después de que *P. capsici* penetraba, que la expresión del gen *pal* era más rápida en el material CM-334 en comparación con el genotipo susceptible, y que los fenoles extraídos de CM-334 inhibían el crecimiento de *P. capsici in vitro*. En contraste con *pal*, cuando analizó la actividad de la enzima HMG-CoAR (hidroximetilglutaril-CoA reductasa) ésta fue mayor en las plantas susceptibles, por lo que se concluyó que esta enzima no estaba involucrada en la resistencia a *P. capsici* en el material CM-334. Por el contrario, Zavaleta-Mejía (2002) señaló que HMG-CoAR también podría ser un factor importante en la resistencia del Chile CM-334 a *P. capsici*, pues la enzima HMG-CoAR no sólo es clave para la síntesis de capsidiol, sino también para la síntesis de esteroides que son indispensables para el crecimiento y reproducción del oomiceto. Bajo este razonamiento Zavaleta-Mejía (2002) propuso la hipótesis de que: “el rompimiento de la resistencia a *P. capsici* por *N. aberrans* en Chile CM-334, se explica en parte por un incremento en la actividad de HMG-CoAR y una reducción en la actividad de peroxidasa y de PAL, debido a una estimulación y represión, respectivamente, de los genes responsables de su codificación”. Para generar la información que permitiera sustentar esta hipótesis, fue necesario afinar el modelo del Chile CM-334 - *N. aberrans* - *P. capsici*; así Trujillo-Viramontes *et al.* (2005) determinaron que el rompimiento de resistencia ocurría con un mínimo de 2,000 J2 de *N. aberrans* y 21 días después con al menos 300,000 zoosporas de *P. capsici* (Pc). Una vez establecido el modelo, se realizaron estudios para conocer los cambios que *N. aberrans* (Na) inducía en el material CM-334, considerando plantas inoculadas sólo con el nematodo (CM-334+Na), sólo con *P. capsici* (CM-334+Pc), y la combinación de ambos (CM-334+Na+Pc) y plantas testigo sin inocular (CM-334).

Generalmente tanto en raíces como en tallos y hojas, la actividad de peroxidasa,  $\beta$ -1,3 glucanasas, PAL y el contenido de fenoles solubles totales (FST) fue significativamente mayor en CM-334+Pc, en comparación con CM-334+Na+Pc y CM-334 sin inocular que presentaron niveles

estadísticamente similares, mientras que en CM-334+Na hubo una reducción significativa (Godínez-Vidal *et al.*, 2008; Sandoval-Luna, 2011; López-Martínez *et al.*, 2011; Fernández-Herrera *et al.*, 2012). Estos resultados sugirieron que la presencia del nematodo en las plantas redujo la actividad de estas enzimas y el contenido de FST.

Por otro lado, en raíces de CM-334+Pc o con la combinación de CM-334+Na+Pc, se registró una mayor acumulación de los transcritos de los genes *PRP*: *POX*, *GLU* y *PR-1*, en comparación con las raíces de CM-334 sin inocular. En contraste, la acumulación de transcritos de estos genes fue baja en la interacción compatible CM-334+Na y ligeramente mayor a la observada en el testigo CM-334 (Fernández-Herrera *et al.*, 2012). Estos resultados también sugieren que el material CM-334 activa con mayor intensidad sus mecanismos de defensa en contra de *P. capsici* mientras que en las plantas inoculadas sólo con el nematodo (CM-334+Na) las respuestas de defensa son atenuadas.

Resultados obtenidos por Sandoval-Luna (2011), en relación con otros metabolitos derivados de la ruta de los fenilpropanoides, indican que el contenido de flavonoides, se incrementó en raíces y tallos de plantas CM-334+Na+Pc y CM-334+Na, en comparación con CM-334+Pc y CM-334 sin inocular. La relevancia de los flavonoides en la interacción planta-nematodo, radica en que estos compuestos pueden ser reguladores del desarrollo del sincitio y agallas, a través de sus efectos sobre el transporte y la localización de auxinas (Wasson *et al.*, 2009). A su vez, las auxinas regulan la expresión de genes involucrados en el desarrollo del sincitio, asimismo, las secreciones esofágicas de los nematodos controlan la distribución de las auxinas en la raíz (Hutangura *et al.*, 1999; Grunewald *et al.*, 2009). El incremento en la acumulación de flavonoides, se podría atribuir a que el nematodo induce la acumulación de las auxinas para lograr el desarrollo del sincitio (Goverse *et al.*, 2000).

La acumulación de compuestos fenólicos se considera como parte de la resistencia del chile CM-334 (Fernández-Pavía 1997; Pegard *et al.*, 2005). Cuando en plantas inoculadas únicamente con *N. aberrans* se comparó el contenido de ácido clorogénico entre los materiales CM-334 y J. E. Parker (susceptible al oomiceto), se encontró que el contenido de ácido clorogénico en las plantas de ambos genotipos fue significativamente menor que en las no inoculadas (Sandoval-Luna, 2011; López-

Martínez *et al.*, 2011). Asimismo, se comprobó que el ácido clorogénico tiene un efecto nematocida sobre *N. aberrans* (López-Martínez *et al.*, 2011). Estos resultados sugieren que el nematodo podría interferir con la acumulación de este compuesto fenólico en la planta.

Al evaluar la expresión de genes que codifican para algunas de las enzimas de la ruta mevalónica, se encontró que los mayores niveles de transcritos de *EAS* (enzima clave en la síntesis de capsidiol) se obtuvieron en raíces de CM-334+Pc y CM-334+Na+Pc, en comparación con CM-334+Na y el testigo CM-334 sin inocular (Fernández-Herrera *et al.*, 2012). También se evidenció que el nematodo modificó la expresión de los genes *Hmg*, al disminuir la acumulación de *Hmg2*, asociado con la síntesis de capsidiol (Villar-Luna *et al.*, 2015b; Villar-Luna *et al.*, 2017). Al respecto, en raíces (Godínez-Vidal, 2010; Fernández-Herrera *et al.*, 2012), follaje (Villar-Luna *et al.*, 2009) y tallos (Villar-Luna *et al.*, 2017) del material CM-334+Na, el contenido de capsidiol fue menor que el encontrado en el testigo CM-334 sin inocular. Por el contrario, en las plantas donde se inoculó el oomiceto (CM-334+Pc y CM-334+Na+Pc), se encontraron niveles significativamente más altos. Esto indica que los cambios metabólicos inducidos por el nematodo, reducen la acumulación de la fitoalexina en la planta. Además, en presencia del nematodo se retrasó la expresión de la RH (Villar-Luna *et al.*, 2009). En contraste, en la comparación entre CM-334+Na y el testigo CM-334 sin inocular, se registró un incremento en la actividad de HMG-CoAR relacionada con una mayor acumulación de transcritos de *Hmg1*, asociado con la síntesis de esteroides; en cambio los niveles de *Hmg3* y *SS* fueron similares en ambos tratamientos (Godínez-Vidal, 2010; Godínez-Vidal *et al.*, 2013).

Los genes *SS* codifican para la escualeno sintasa, enzima clave en la síntesis de esteroides que son esenciales para la fisiología celular de todos los organismos eucarióticos. Los nematodos fitoparásitos no son capaces de realizar síntesis de esteroides (Chitwood y Lusby, 1991), por lo que son totalmente dependientes de los que produce su hospedante. Esto sugiere que en las raíces del chile CM-334 infectadas por *N. aberrans*, el nematodo modula la expresión de los genes *Hmg1* y *SS*, para asegurarse un abastecimiento adecuado de estos compuestos.

Todos los resultados descritos con anterioridad se obtuvieron en investigaciones

enfocadas al estudio de los cambios transcripcionales y metabólicos en el sistema radical completo de las plantas del material CM-334. Al analizar los cambios transcripcionales sólo en las agallas inducidas por *N. aberrans* (CM-334+Na), también se encontró que la expresión de los genes *WRKY1*, *POX*, *PR-1*, *WRKY-a* y *EAS* fue más baja en comparación con la interacción incompatible CM-334+Pc (Villar-Luna *et al.*, 2015a).

Por otra parte, como se indicó anteriormente, el material CM-334 es resistente a *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*, por lo que, se esperaría que al tratarse de interacciones incompatibles sus mecanismos de defensa, no serían reducidos. Lo anterior se demostró cuando el chile CM-334 se inoculó con *M. incognita* (interacción incompatible CM-334+*M. incognita*) y se determinó que los niveles de acumulación de capsidiol, el contenido de ácido clorogénico y la expresión de los genes de defensa *EAS*, *HMG2*, *WRKY-a*, *PR-1* y *POX*, fueron mayores en comparación con la interacción compatible (CM-334+*N. aberrans*) (Pegard *et al.*, 2005; Villar-Luna *et al.*, 2015c).

Todo lo hasta aquí descrito indica que la resistencia del chile CM-334 en interacciones incompatibles se asocia con la inducción de los genes de defensa mencionados y con la acumulación de ácido clorogénico y capsidiol que restringen el establecimiento y reproducción de *M. incognita* y de *P. capsici* (Pegard *et al.*, 2005; Villar-Luna *et al.*, 2015c).

## CONCLUSIONES

Las investigaciones consultadas indican que *N. aberrans* al establecer una interacción compatible con el chile CM-334 reduce los mecanismos de defensa del hospedante, lo cual, en parte, podría explicar porque las plantas infectadas por el nematodo pierden su resistencia a *P. capsici*. El avance en las investigaciones sugiere que la disminución en la expresión de los genes *WRKY-a*, *WRKY1*, *EAS*, *POX*, *PR-1*, *GLU* y *Hmg2*, la reducción de la actividad enzimática de peroxidasas y PAL, así como la reducción en el contenido de FST como el ácido clorogénico y de la fitoalexina sesquiterpénica capsidiol, y el retraso en la RH, se puede deber a la reprogramación génica que induce el nematodo con el fin de asegurar su establecimiento y la culminación exitosa de su ciclo de vida. Tales modificaciones

crean un ambiente favorable para que el oomiceto infecte y colonice el material CM-334.

Además de los genes mencionados, la expresión de muchos otros podría ser modificada por la presencia del nematodo. Para lograr un conocimiento comprensivo del fenómeno de rompimiento de resistencia por nematodos, habrá que aplicar las tecnologías de nueva generación, como la secuenciación masiva de RNA-seq. Con esta metodología se lograría por un lado, definir con precisión los cambios moleculares que constituyen la base de la respuesta de defensa en esta interacción y por el otro identificar los genes que el nematodo altera para lograr su establecimiento. La información obtenida podría ser utilizada en programas de control que utilicen el silenciamiento génico contra el establecimiento del nematodo tanto en plantas del material CM-334, como en otros genotipos de chile.

Con la secuenciación de nueva generación, se tendría la posibilidad de profundizar en el entendimiento de los mecanismos de resistencia del material CM-334 y con ello incrementar el número de marcadores moleculares que hasta el momento se han identificado en el mapa genético de este genotipo de chile. Esto facilitaría la identificación de genes de resistencia a *P. capsici* para ser introducidos en genotipos comerciales de chile.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACyT por la beca de doctorado otorgada a la primera autora.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar, R. V. H. 2012. Cultivo del chile en México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35:264.
- Anthoine, G., and D. Mugniéry. 2005. Variability of the ITS rDNA and identification of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae) by rDNA amplification. *Nematology* 7:503-516.
- Ashrafi, H., T. Hill, K. Stoffel, A. Kozik, J. Yao, C. W. S. Reyes, and D. A. Van. 2012. *De novo* assembly of the pepper transcriptome (*Capsicum annuum*): A benchmark for *in silico* discovery of SNPs, SSRs and candidate genes. *BioMed Central Genomics* 13:571.
- Barchenger, D. W., K. H. Lamour, and P. W. Bosland. 2018. Challenges and strategies for



- breeding resistance in *Capsicum annuum* to the multifarious pathogen, *Phytophthora capsici*. *Frontiers in Plant Science* 9:628.
- Benhamou, N., J. Grenier, and A. Asselin. 1991. Immunogold localization of pathogenesis-related protein P14 in tomato root cells infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 38:237-253.
- Bent, A. F., and D. Mackey. 2007. Elicitors, Effectors and R genes: The new paradigm and lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology* 45:399-436.
- Bohlmann, J., E. J. Stauber, B. Krock, N. J. Oldham, J. Gershenzon, and I. T. Baldwin. 2002. Gene expression of 5-epi aristolochene synthase and formation of capsidiol in roots of *Nicotiana attenuate* and *N. sylvestris*. *Phytochemistry* 60:109-116.
- Boiteux, L. S., F. P. Cupertino, C. Silva, A. N. Dusi, D. C. Monte-Neshich, R. A. A. Van der Vlugt, and M. E. N. Fonseca. 1996. Resistance to potato virus Y (pathotype 1-2) in *Capsicum annuum* and *Capsicum chinense* is controlled by two independent major genes. *Euphytica* 87:53-58.
- Bonnet, J., S. Danan, C. Boudet, L. Barchi, A. M. Sage-Palloix, B. Caromel, A. Palloix, V. Lefebvre. 2007. Are the polygenic architectures of resistance to *Phytophthora capsici* and *P. parasitica* independent in pepper? *Theoretical and Applied Genetics* 115:253-264.
- Brodie, B. B., K. Evans, and J. Franco. 1993. Nematode parasites of potatoes. Pp. 169-181 in W. R. Nickle (ed.) *Plant and insect nematodes*. New York and Basel: Marcel Dekker, Inc.
- Cabrera-Hidalgo, A. J., N. Marban-Mendoza, and E. Valadez-Moctezuma. 2019. Phylogenetic relationships among Mexican populations of *Nacobbus aberrans* (Nematoda, Pratylenchidae) reveal the existence of cryptic (complex) species. *Nematropica* 49:1-11.
- Candela, M. E., C. Egea, M. D. García-Pérez, J. Costa, and M. Candela. 2000. Breeding paprika type peppers resistant to *Phytophthora capsici*. *ISHS Acta Horticulturae* 522:79-86.
- Castro, R. A., P. S. P. Fernández, y A. P. Osuna. 2012. Mecanismos de defensa del chile en el patosistema *Capsicum annuum* - *Phytophthora capsici*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 30:49-65.
- Chávez-Díaz, I. F., y E. Zavaleta-Mejía. 2019. Comunicación molecular en el patosistema *Capsicum* spp. - *Phytophthora capsici*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37:1-28.
- Chitwood, D., and W. Lusby. 1991. Metabolism of plant sterols by nematodes. *Lipids* 26:619-627.
- Clark, S. A. 1967. The development and life history of the false root-knot nematode, *Nacobbus serendipiticus*. *Nematologica* 13:91-101.
- Cristóbal, A. J., G. Mora-Aguilera, R. H. Manzanilla-López, N. Marbán-Mendoza, P. Sánchez-García, I. Cid del Prado-Vera, and K. Evans. 2006. Epidemiology and integrated control of *Nacobbus aberrans* on tomato in Mexico. *Nematology* 8:727-737.
- Dae, S. K., and K. H. Byung. 2014. An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signaling of the defense response to microbial pathogens, *Journal of Experimental Botany* 65:2295-2306.
- Egea, C., M. D. Alcazar, and M. E. Candela. 1996. Capsidiol: Its role in the resistance of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum* 98:737-742.
- Egea, C., M. J. Dickinson, M. Candela, and E. M. Candela. 1999.  $\beta$ -1, 3-glucanasa isoenzymes and genes in resistant and susceptible pepper (*Capsicum annuum*) cultivars infected with *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum* 107:312-318.
- Eves-van, D. A. S., C. J. Lilley, E. G. J. Danchin, C. Rancurel, P. J. A. Cock, P. E. Urwin, and J. T. Jones. 2014. The transcriptome of *Nacobbus aberrans* reveals insights into the evolution of sedentary endoparasitism in plant-parasitic nematodes. *Genome Biology and Evolution* 6:2181-2194.
- Fernández, P. S. P., C. M. Díaz, and A. G. Rodríguez. 2013. *Phytophthora* in Mexico. Pp. 215-221 in K. Lamour (ed.) *Phytophthora*, a global perspective. CAB International.
- Fernández, H. E., S. F. J. Rivas, G. J. Cosme, P. E. O. Rueda. 2012. Rompimiento de resistencia a hongos fitopatógenos: Chile CM-334, un caso de estudio. XV Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas 46-50.
- Fernández-Herrera, E., R. I. Rojas-Martínez, L. Guevara-Olvera, M. E. Rivas-Dávila, E.

- Valadez-Moctezuma, y E. Zavaleta-Mejía. 2012. Defensa en Chile CM-334 inoculado con *Phytophthora capsici* e infectado por *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 42:96-107.
- Fernández-Pavía, S. P. 1997. Host-pathogen interaction in the root rot resistant *Phytophthora capsici/Capsicum annuum* CM-334 pathosystem. Ph. D. Thesis. New Mexico State University, Las Cruces, New Mexico, USA. 109 p.
- Foster, J. M., and M. K. Hausbeck. 2010. Resistance of pepper to *Phytophthora* crown, root, and fruit rot is affected by isolate virulence. *Plant Disease* 94:24-30.
- Gil, O. R., E. C. Palazón, and Z. J. Cuartero. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SCM-334'. *Plant Breeding* 107: 50-55.
- Glosier, B. R., E. A. Ogundiwin, G. S. Sidhu, D. R. Sischo, and J. P. Prince. 2008. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica* 162:23-30.
- Godínez-Vidal, D. 2010. Cambios en la ruta mevalónica como respuesta a la infección por *Nacobbus aberrans* en Chile CM-334. Tesis de Doctorado en Ciencias Colegio de Postgraduados Montecillo, Edo. de México. 89 pp.
- Godínez-Vidal, D., M. Rocha-Sosa, E. B. Sepúlveda-García, E. Lozoya-Gloria, R. I. Rojas-Martínez, L. Guevara-Olvera, and E. Zavaleta-Mejía. 2013. Transcript accumulation of the mevalonate pathway genes and enzymatic activity of HMGCoA-r and EAS in chilli CM-334 infected by the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *Plant and Soil* 372:339-348.
- Godínez-Vidal, D., M. Rocha-Sosa, J. Lara-Reyna, R. I. Rojas-Martínez, E. B. Sepúlveda-García, and E. Zavaleta-Mejía. 2008. Phenylalanine ammonia lyase activity in chilli CM-334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. *European Journal of Plant Pathology* 120:299-303.
- Godínez-Vidal, D., M. Soto-Hernández, M. Rocha-Sosa, E. Lozoya-Gloria, R. I. Rojas-Martínez, L. Guevara Olvera, y E. Zavaleta-Mejía. 2010. Contenido de capsidiol en raíces de Chile CM-334 infectadas por *Nacobbus aberrans* y su efecto en juveniles del segundo estadio. *Nematropica* 40:227-237.
- González, C. M. M., P. E. Villordo, H. J. L. Pons, S. F. Delgadillo, M. R. Paredes, H. H. Godoy, L. J. L. Anaya, V. F. P. Gámez, C. T. Medina, G. R. Rodríguez, C. E. Ruiz, L. A. Ruiz, B. R. Cárdenas, A. J. R. Cárdenas, P. I. Torres, P. E. Rendón, S. J. Martínez, D. F. Mojarro, E. O. M. Villaseñor, y A. B. Z. Guerrero. 2009. Guía para el manejo de la marchitez del Chile en Guanajuato. Primera edición. Editorial Prometeo Editores S. A. de C. V. México. 34p.
- Goverse, A., H. Overmars, J. Engelbertink, A. Schots, J. Bakker, and J. Helder. 2000. Both induction and morphogenesis of cyst nematode feeding cells are mediated by auxin. *Molecular Plant Microbe Interactions* 13:1121-1129.
- Grunewald, W., B. Cannoot, J. Friml, and G. Gheysen. 2009. Parasitic nematodes modulate PIN-mediated auxin transport to facilitate infection. *PLoS Pathog* 5:e1000266.
- Guerrero, M. A., and J. Laborde. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. Pp 52-56 in *Synopses of the 4th Meeting of the Capsicum Working Group of Eucarpia I. V. T., Wageningen, The Netherlands.*
- Heredia, Z. A. 1966. Herencia de la resistencia del Chile *Capsicum annuum* L. al ataque del hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis Profesional. E. N. A., Chapingo, México. 40 p.
- Hernández-Anguiano, A. M., E. Zavaleta-Mejía, and G. Carrillo. 1992. Efecto de *Nacobbus aberrans* (Thorne y Allen, 1944) en la infección de *Phytophthora capsici* Leo. en Chile. *Revista Mexicana de Fitopatología* 10:166-174.
- Hutangura, P., U. Mathesius, M. G. K. Jones, and B. G. Rolfe. 1999. Auxin induction is a trigger for root gall formation caused by root-knot nematodes in white clover and is associated with the activation of the flavonoid pathway. *Australian Journal of Plant Physiology* 26:221-231.
- Ibrahim, S. K., J. G. Baldwin, P. A. Roberts, and B. C. Hyman. 1997. Genetic variation in *Nacobbus aberrans*: An approach toward taxonomic resolution. *Journal of Nematology* 29:241-249.
- Inserra, R. N., N. Vovlas, G. D. Griffin, and J. L. Anderson. 1983. Development of the false

- root-knot nematode, *Nacobbus aberrans*, on sugar beet. *Journal of Nematology* 15:288-296.
- Janzac, B., M. F. Fabre, A. Polloix, and B. Moury. 2009. Phenotype and spectrum of action of the Pvr4 resistance in pepper against potyviruses, and selection for virulent variants. *Plant Pathology* 58:443-449.
- Jeon, S., C. S. Krasnow, C. K. Kirby, L. L. Granke, M. K. Hausbeck, W. Zhang. 2016. Transport and retention of *Phytophthora capsici* zoospores in saturated porous media. *Environmental Science & Technology* 50:9270-9278.
- Jones, J., G. Gheysen, C. Fenoll. 2011. Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 583 p.
- Jones, R. F., P. W. Bosland, R. L. Steiner, R. W. Jones, M. A. O'Connell. 2015. Detection of gene expression changes in *Capsicum annuum* L. foliar blight caused by *Phytophthora capsici* Leon. using qRT-PCR and leaf discs. *HortScience* 50:1342-1348.
- Kikuchi, T., D. A. S. Eves-van, and J. T. Jones. 2017. Genome evolution of plant-parasitic nematodes. *Annual review of phytopathology* 55:333-354.
- Kim, N., W. H. Kang, J. Lee, and S. I. Yeom. 2019. Development of clustered resistance gene analogs-based markers of resistance to *Phytophthora capsici* in chili pepper. *BioMed Research International* 2019:1-12.
- Kurt, H. L., R. Stam, J. Jupe, and E. Huitema. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13:329-337.
- Lax, P., J. C. R. Dueñas, C. N. Gardenal, and M. E. Doucet. 2007. Assessment of genetic variability in populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae) from Argentina. *Nematology* 9:261-270.
- Lee, K. J., S. Kamala-Kannan, H. S. Sub, S. C. Kyu, and L. G. Woong. 2008. Biological control of *Phytophthora* blight in red pepper (*Capsicum annuum* L.) using *Bacillus subtilis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24:1139-1145.
- Leonian, L. H. 1922. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* species nov. *Phytopathology* 12:401-408.
- López-Martínez, N., M. T. Colinas-León, C. B. Peña-Valdivia, Y. Salinas-Moreno, P. Fuentes-Montiel, M. Biesaga, and E. Zavaleta-Mejía. 2011. Alterations in peroxidase activity and phenylpropanoid metabolism induced by *Nacobbus aberrans* Thorne and Allen, 1944 in chilli (*Capsicum annuum* L.) CM-334 resistant to *Phytophthora capsici* Leo. *Plant and Soil* 338:399-409.
- Manzanilla-López, R. H. 1997. Studies on the characterisation and bionomics of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae). Ph. D. Thesis. University of Reading, U.K. 395 pp.
- Manzanilla-López, R. H. 2010. Speciation within *Nacobbus*: Consilience or controversy? *Nematology* 12:321-334.
- Manzanilla-López, R. H., M. A. Costilla, M. Doucet, J. Franco, R. N. Inserra, P. S. Lehman, I. Cid del Prado-Vera, R. M. Souza, and K. Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32:149-227.
- Mitchum, M. G., R. S. Hussey, T. J. Baum, X. Wang, A. A. Elling, M. Wubben and E. L. Davis. 2013. Nematode effector proteins: An emerging paradigm of parasitism. *New Phytologist* 199:879-894.
- Molot, P. M., P. Mas, M. Conus, H. Ferriere, and P. Ricci. 1981. Relations between capsidiol concentration, speed of fungal invasion and level of induced resistance in cultivars of pepper (*Capsicum annuum*) susceptible or resistant to *Phytophthora capsici*. *Physiological Plant Pathology* 18:379-389.
- Naegele, R. P., H. Ashrafi, T. A. Hill, C. W. S. Reyes, A. E. Van Deynze, and M. K. Hausbeck. 2014. QTL mapping of fruit rot resistance to the plant pathogen *Phytophthora capsici* in a recombinant inbred line *Capsicum annuum* population. *Phytopathology* 104:479-483.
- Naresh, P., K. Meenu, G. C. Acharya, A. C. Reddy, and L. D. C. Reddy. 2019. Genetics and molecular markers for resistance to major soil borne pathogens in chilli (*Capsicum annuum* L.). *Research Journal of Biotechnology* 14:101-105.

- Niderman, T., I. Genetet, T. Bruyere, R. Gees, A. Stintzi, M. Legrand, B. Fritig, and E. Mössinger. 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal. Isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology* 108:1727.
- Oelke, L. M., P. W. Bosland, and R. Steiner. 2003. Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128:213-218.
- Palloix, A., A. M. Daubeze, and E. Pochard. 1988. Time sequences of root infection and resistance expression in an artificial inoculation method of pepper with *Phytophthora capsici*. *Journal of Phytopathology* 123:12-24.
- Palomares-Rius, J. E., C. Escobar, J. Cabrera, A. Vovlas, and P. Castillo. 2017. Anatomical alterations in plant tissues induced by plant-parasitic nematodes. *Frontiers in Plant Science* 8:1987.
- Pang, Z., V. Srivastava, X. Liu, and V. Bulone. 2017. Quantitative proteomics links metabolic pathways to specific developmental stages of the plant-pathogenic oomycete *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 18:378-390.
- Passardi, F., C. Cosio, C. Penel, and C. Dunand. 2005. Peroxidases have more functions than a swiss army knife. *Plant Cell Reports* 24:255-265.
- Pegard, A., G. Brizzard, A. Fazari, O. Soucaze, P. Abad, and C. Djian-Caporalino. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 95:158-165.
- Redondo, J. E. 1979. Búsqueda de genotipos de chile resistente al hongo *Phytophthora capsici* Leonian. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 23:220-224.
- Rehman, S., V. K. Gupta, and A. K. Goyal. 2016. Identification and functional analysis of secreted effectors from phytoparasitic nematodes. *BioMed Central Microbiology* 16:48.
- Reid, A. P., R. H. Manzanilla-López, and D. J. Hunt. 2003. *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae); a nascent species complex revealed by RFLP analysis and sequencing of the ITS-rDNA region. *Nematology* 5:441-451.
- Richins, R. D., S. Micheletto, and M. A. O'Connell. 2010. Gene expression profiles unique to chile (*Capsicum annuum* L.) resistant to *Phytophthora* root rot. *Plant Science* 178:192-201.
- Salisbury, F., and C. Ross. 1996. *Plant Physiology*. 4<sup>a</sup> edition. Wadsworth Publishing. California. USA. 759 p.
- Sandoval-Luna, R. 2011. Actividad de PAL, acumulación de fenoles y flavonoides en el chile CM-334 infectado por *Nacobbus aberrans* e inoculado en follaje con *Phytophthora capsici*. Tesis de Doctorado en Ciencias Colegio de Postgraduados Montecillo, Edo. de México. 109 pp.
- Selitrennikoff, P. C. 2001. Antifungal proteins. *Applied and Environmental Microbiology* 67:2883-2894.
- Silvar, C., F. Merino, and J. Díaz. 2008. Differential activation of defense-related genes in susceptible and resistant pepper cultivars infected with *Phytophthora capsici*. *Journal of Plant Physiology* 165:1120-1124.
- Takahashi, S., Y. Zhao, P. E. O'maille, B. T. Greenhagen, J. P. Noel, R. M. Coates, and J. Chappell. 2005. Kinetic and molecular analysis of 5-epiaristolochene 1,3-dihydroxylase, a cytochrome P450 enzyme catalyzing successive hydroxylations of sesquiterpenes. *Journal of Biological Chemistry* 280:3686-3696.
- Thabuis, A., A. Palloix, B. Servin, A. M. Daubeze, P. Signoret, and V. Lefebvre. 2004. Marker-assisted introgression of 4 *Phytophthora capsici* resistance QTL alleles into a bell pepper line: validation of additive and epistatic effects. *Molecular Breeding*, 14:9-20.
- Toğaç, S., S. Akinci, B. B. Arpacı. 2019. Polygenic resistance of improved red pepper lines to *Phytophthora capsici*. *International Journal of Agriculture, Forestry and Life Sciences* 3:138-142.
- Toledo, R. J. C., C. Sosa-Moss, and E. Zavaleta-Mejía. 1993. Gama de hospederos de cinco

- poblaciones mexicanas de *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 23:105-108.
- Trujillo-Viramontes, F., E. Zavaleta-Mejía, R. I. Rojas-Martínez, y J. Lara. 2005. Tiempo de inoculación y nivel de inóculo, factores determinantes para el rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* inducido por *Nacobbus aberrans* en chile (*Capsicum annum*). *Nematropica* 35:37-44.
- Truong, H. T. H., K. T. Kim, D. W. Kim, S. Kim, Y. Chae, J. H. Park, D. G. Oh, and M. C. Cho. 2012. Identification of isolate-specific resistance QTLs to *Phytophthora* root rot using an intraspecific recombinant inbred line population of pepper (*Capsicum annum*). *Plant Pathology* 61:48-56.
- Turelli, M., C. Coulomb, J. P. Coulomb, J. P. Roggero, and M. Bounias. 1984. Effects of capsidiol on the lipid and protein content of isolated membranes of *Phytophthora capsici*. *Physiological Plant Pathology* 24:211-221.
- Ueda, M., M. Kubota, and K. Nishi. 2006. Contribution of jasmonic acid to resistance against *Phytophthora* blight in *Capsicum annum* cv. SCM-334. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67:149-154.
- Van Loon, L. C., M. Rep, and C. M. J. Pieterse. 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology* 44:135-162.
- Vargas, E. M. T., E. Zavaleta-Mejía, y A. A. M. Hernández. 1996. Rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* en chile serrano CM-334 por *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. *Nematropica* 26:159-166.
- Vidhyasekaran, P. 2008. Induction and evasion of pathogenesis-related proteins. Pp. 345-409 in *Fungal pathogenesis in plants and crops: Molecular biology and host defense mechanisms*. Second Edition. CRC Press, USA. 509 p.
- Villa-Briones, A., E. Zavaleta-Mejía, M. Vargas-Hernández, O. Gómez-Rodríguez, S. Ramírez-Alarcón. 2008. Incorporación de vermicomposta para el manejo de *Nacobbus aberrans* en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Revista Chapingo* 14:249-255.
- Villar-Luna, E., B. Reyes-Trejo, R. I. Rojas-Martínez, O. Gómez-Rodríguez, A. M. Hernández-Anguiano, y E. Zavaleta-Mejía. 2009. Respuesta hipersensitiva en el follaje de chile CM-334 resistente a *Phytophthora capsici* infectado con *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 39:143-155.
- Villar-Luna, E., J. A. García-Espinoza, O. Gómez-Rodríguez, R. I. Rojas-Martínez, E. Zavaleta-Mejía. 2015a. Defense gene expression in root galls induced by *Nacobbus aberrans* in CM-334 chilli plants. *Helminthologia* 52:77-82.
- Villar-Luna, E., R. I. Rojas-Martínez, B. Reyes-Trejo, M. Rocha-Sosa, E. Zavaleta-Mejía. 2015b. Expression of hydroxymethylglutaryl-coa reductase 2 (HMG2) gene in chilli (*Capsicum annum* L.) CM-334 infected by *Nacobbus aberrans* and *Phytophthora capsici*. *Agrociencia* 49:69-75.
- Villar-Luna, H., B. Reyes-Trejo, O. Gómez-Rodríguez, E. Villar-Luna, y E. Zavaleta-Mejía. 2015c. Expresión de genes de defensa y acumulación de capsidiol en la interacción compatible chile CM-334/*Nacobbus aberrans* e incompatible chile CM-334/*Meloidogyne incognita*. *Nematropica* 45:9-19.
- Villar-Luna, E., R. I. Rojas-Martínez, B. Reyes-Trejo, O. Gómez-Rodríguez, y E. Zavaleta-Mejía. 2017. Mevalonate pathway genes expressed in chilli CM-334 inoculated with *Phytophthora capsici* and infected by *Nacobbus aberrans* and *Meloidogyne enterolobii*. *European Journal of Plant Pathology* 148:867-881.
- Vogt, T. 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant* 3:2-20.
- Vovlas, N., A. I. Nico, F. De Luca, C. De Giorgi, and P. Castillo. 2007. Diagnosis and molecular variability of an Argentinean population of *Nacobbus aberrans* with some observations on histopathology in tomato. *The Journal of Nematology* 39:17-26.
- Ward, E. W. B. 1976. Capsidiol production in pepper leaves in incompatible interactions with fungi. *Phytopathology* 66:175-176.
- Wasson, A. P., K. Ramsay, M. G. K. Jones and U. Mathesius. 2009. Differing requirements for flavonoids during the formation of lateral roots, nodules and root-knot nematode galls in *Medicago truncatula*. *New Phytologist* 183:167-179.
- Xu, X., J. Chao, X. Cheng, R. Wang, B. Sun, H. Wang, S. Luo, X. Xu, T. Wu, Y. Li. 2016. Mapping of a novel race specific resistance gene to *Phytophthora* root rot of pepper (*Capsicum annum*) using bulked segregant

- analysis combined with specific length amplified fragment sequencing strategy. PLoS ONE 11:e0151401.
- Yáñez-Juárez, G. M., E. Zavaleta-Mejía, C. Flores-Revilla, J. J. Chávez-Alfaro, R. Valdivia-Alcalá. 2001. Management of wilting (*Phytophthora capsici* Leo.), Root Gallings (*Nacobbus aberrans* Thorne and Allen), and virosis in Pepper (*Capsicum annuum* L). Revista Mexicana de Fitopatología 19:40-48.
- Zavaleta-Mejía, E. 2002. Rompimiento de resistencia a hongos fitopatógenos por nematodos fitoparásitos, una hipótesis. Revista Mexicana de Fitopatología 20:118-122.

---

*Received:*

13/XI/2019

*Accepted for publication:*

16/IV/2020

*Recibido:*

*Aceptado para publicación:*