

RESPUESTA HIPERSENSITIVA EN EL FOLLAJE DE CHILE CM-334 RESISTENTE A *PHYTOPHTHORA CAPSICI* INFECTADO CON *NACOBBUS ABERRANS*

E. Villar-Luna¹, B. Reyes-Trejo², R. I. Rojas-Martínez¹, O. Gómez-Rodríguez¹,
A. M. Hernández-Anguiano¹, y E. Zavaleta-Mejía^{1*}

¹Programa de Fitopatología, Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, km 36.5 Carretera México-Texcoco, Texcoco, Estado de México, México, CP 56230; ²Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química, Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México, México. *Corresponding author: zavaleta@colpos.mx

ABSTRACT

Villar-Luna, E., B. Reyes-Trejo, R. I. Rojas-Martínez, O. Gómez-Rodríguez, A. M. Hernández-Anguiano, y E. Zavaleta-Mejía. 2009. Hypersensitive response in foliage of chili pepper CM-334 resistant to *Phytophthora capsici* infected by *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 39:143-155.

The objectives of this research were to determine if CM-334 pepper plants resistant to *Phytophthora capsici* and infected with *Nacobbus aberrans*, respond hypersensitively (HR) to foliar inoculations with *Pseudomonas syringae* pv. *tagetis* or *P. capsici*; and to compare the contents of capsidiol in these interactions. The infection of CM-334 by *N. aberrans* did not inhibit the HR in the plant foliage, but it caused a delay in its expression. In the absence of the nematode, the onset of the response was observed at 5 hr and the typical HR was expressed at 7 hr after the bacterial inoculation, while in the presence of nematode by this time there was incipient chlorosis. Even though the nematode delayed the expression of the plant defense, such a delay was not sufficient to allow infection by *P. capsici* in the foliage. In the presence of *N. aberrans*, the accumulation of capsidiol in leaves infiltrated with *P. capsici* or the bacteria was reduced by 23 and 63%, respectively, at 3 days after foliar infiltration.

Key words: Capsidiol, incompatible interactions, defense mechanisms, *Nacobbus aberrans*, *Phytophthora capsici*.

RESUMEN

Villar-Luna, E., B. Reyes-Trejo, R. I. Rojas-Martínez, A. M. Hernández-Anguiano, O. Gómez-Rodríguez, 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.

Los objetivos de la presente investigación fueron determinar si plantas de chile CM-334, resistentes a *Phytophthora capsici* infectadas con *Nacobbus aberrans* responden hipersensitivamente (RH) a inoculaciones foliares con *Pseudomonas syringae* pv. *tagetis* o *P. capsici*; y comparar el contenido de capsidiol en estas interacciones. La infección de CM-334 por *N. aberrans* no inhibió la RH en la parte aérea de la planta, pero sí retrasó su expresión. En ausencia del nematodo, el inicio de la respuesta se observó a las 5 hr y la típica RH se expresó a las 7 hr posteriores a la inoculación con la bacteria, mientras que en presencia del nematodo a este último tiempo, apareció una clorosis incipiente. El retraso en la expresión de la defensa inducido por el nematodo, no fue suficiente para permitir que *P. capsici* fuera capaz de infectar el follaje. En presencia del nematodo la acumulación de capsidiol en hojas infiltradas con *P. capsici* o la bacteria fue reducida 23 y 63%, respectivamente a los 3 días después de la infiltración foliar.

Palabras clave: Capsidiol, interacciones incompatibles, mecanismos de defensa, *Nacobbus aberrans*, *Phytophthora capsici*.

INTRODUCCIÓN

La marchitez inducida por el oomiceto *Phytophthora capsici* Leonian, es una de las enfermedades más destructivas y que afecta la producción de chile (*Capsicum annuum* L.) en todo el mundo (Redondo y Rodríguez, 1987; Ristaino y Johnston, 1999). Una estrategia ambientalmente amigable para el manejo de esta enfermedad la constituye el uso de variedades resistentes. Sin embargo, se ha demostrado que la resistencia de algunos cultivares a ciertos hongos y oomicetos del suelo puede ser inhibida cuando éstos son infectados previamente por nematodos agalladores tales como *Meloidogyne* spp y *Nacobbus* spp. Líneas de chile resistentes a *P. capsici*, desarrolladas por investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-México) a partir de materiales conocidos como criollos de morelos y colectados en el estado de Morelos, México, se han comportado como susceptibles cuando son infectados por *Nacobbus aberrans* (Hernández *et al.*, 1992; Vargas *et al.*, 1996; Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005). Entre éstas, se destaca la línea de chile tipo serrano Criollo de Morelos 334 (CM-334) por su alto grado de resistencia a *P. capsici*, misma que ha sido comprobada en diferentes partes del mundo aún cuando se ha inoculado con las cepas más patogénicas del oomiceto (Redondo y Rodríguez, 1987; Glosier *et al.*, 2008). La evidencia experimental obtenida por Sy y colaboradores (2005), sugiere que en CM-334 existen tres genes de resistencia a *P. capsici* que de manera independiente confieren la resistencia en la raíz, el tallo y el follaje. Se considera que CM-334 también puede ser una excelente fuente de resistencia contra el tizón foliar inducido por este mismo patógeno (Oelke *et al.*, 2003).

Genotipos de chile resistentes a *P. capsici* incluyendo a CM-334 reaccionan de

forma hipersensitiva (Egea *et al.*, 1996b; Fernández-Pavía, 1997; Candela *et al.*, 2000; Requena *et al.*, 2005). Sin embargo, tanto plantas resistentes como susceptibles a enfermedades poseen mecanismos de defensa y la incompatibilidad o compatibilidad patógeno-hospedante está determinada por la prontitud y la magnitud con la que ocurre la expresión de los genes responsables de la manifestación de los mecanismos de defensa y que restringen el desarrollo de un patógeno potencial (Kuc, 1997). Los mecanismos involucrados en la resistencia al oomiceto comprenden diferentes metabolitos cuya síntesis se dispara durante la respuesta hipersensitiva, tal es el caso del capsidiol, la principal fitoalexina sesquiterpénica de *C. annuum* cuya acumulación en cantidades inhibitorias frecuentemente, aunque no siempre, se relaciona con la resistencia. Se ha reportado que durante la interacción incompatible de *P. capsici* con CM-334, se incrementa la síntesis de esta fitoalexina en el sitio de infección; resultados similares han sido observados en otros materiales que exhiben resistencia al oomiceto (Hwang, 1995; Egea *et al.*, 1996a; Candela *et al.*, 2000). Se menciona que concentraciones de 3.5 mM y superiores a 5 mM tienen un efecto fungistático y fungicida, respectivamente, en condiciones *in vitro* (Egea *et al.*, 1996a; Arreola-Cortés *et al.*, 2007). Recientemente, Ueeda y colaboradores (2006) encontraron que los mecanismos de resistencia al oomiceto se expresaron también en la parte aérea de plantas de chile CM-334 y aún cuando macroscópicamente no fue evidente la típica reacción de hipersensibilidad, a nivel microscópico si observaron muerte celular localizada en los sitios donde se depositó una suspensión de 100,000 zoosporas ml⁻¹, tal respuesta hipersensitiva se asoció con un incremento en los niveles de los ácidos jasmónico y salicílico.

A pesar del alto grado de resistencia a *P. capsici* mostrado por CM-334, se ha conseguido que plantas previamente inoculadas con *N. aberrans* se vuelven susceptibles al oomiceto, es decir se rompe su resistencia (Vargas *et al.*, 1996; Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005), probablemente debido a los cambios metabólicos y/o fisiológicos inducidos por el nematodo en la raíz de la planta hospedante (Zavaleta-Mejía, 2002; López-Martínez y Zavaleta-Mejía, 2007; Godínez-Vidal *et al.*, 2008a). Se ha demostrado que durante la interacción CM-334-*N. aberrans*-*P. capsici* la inhibición de la resistencia al oomiceto fue más evidente a partir de los 21 días posteriores a la inoculación con el nematodo, tiempo que coincide con la aparición de hembras inmaduras de *Nacobbus aberrans* responsables de inducir los sitios especializados de alimentación en la raíz del hospedante (Manzanilla-López *et al.*, 2002; Zavaleta-Mejía, 2002; Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005). Aunado a esto, consistentemente se ha observado que las plantas CM-334 infectadas con *N. aberrans* presentan una reducción en la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), así como de peroxidasa (López-Martínez y Zavaleta-Mejía, 2007; Godínez-Vidal *et al.*, 2008a). PAL es una enzima reguladora en la ruta de los fenilpropanoides, a partir de la cual se sintetizan múltiples metabolitos secundarios incluyendo a los fenoles, algunos de estos participan en la lignificación de tejidos infectados, mientras que otros poseen actividad antimicrobiana. Así mismo, el incremento en la actividad de PAL se ha asociado con la respuesta de hipersensibilidad en genotipos de chile resistentes a *P. capsici* (Mozzetti *et al.*, 1995; Gayoso *et al.*, 2004).

En el Laboratorio de la Fisiología de la Interacción Planta-Patógeno del Colegio de Postgraduados los estudios se han enfocado a conocer los cambios inducidos por *N. aberrans* en la expresión de genes y cam-

bios bioquímicos asociados con los mecanismos de defensa en la raíz (López-Martínez y Zavaleta-Mejía, 2007; Godínez-Vidal *et al.*, 2008a). Sin embargo, también es de interés conocer la repercusión de la reprogramación génica inducida por el nematodo en la raíz en la expresión de los mecanismos de defensa en la parte aérea de plantas CM-334.

Con base en estos antecedentes los objetivos de la presente investigación fueron determinar: 1) si plantas de chile CM-334 infectadas con *N. aberrans* responden hipersensitivamente a las inoculaciones foliares con *Pseudomonas syringae* pv. *tagetis* o *P. capsici*; y 2) si la acumulación de capsidiol es modificada en plantas infectadas por *N. aberrans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y producción de inóculo

Plántulas de chile. Semillas de chile CM-334 resistente a *P. capsici*, se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial al 1% por 1 min y se germinaron a $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Las plántulas se transplantaron (una por maceta) en macetas conteniendo 150 cm³ de arena estéril como sustrato. Los riegos se realizaron cada 48 horas, aplicando una solución nutritiva [630 g de Nitrofoska 12-12-12 en 20 L de agua estéril; dilución 1:10 (Nitrofoska:agua)] y agua estéril de forma alterna. Las macetas se mantuvieron en cámaras bioclimáticas a temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, con un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 de obscuridad y una intensidad luminosa de 6768 lux (luz fluorescente). También se incluyeron plantas de chile de la var. Joe E. Parker susceptibles al oomiceto, como referencia de la patogenicidad de *P. capsici* y de la eficacia de la inoculación.

Preparación de inóculo e inoculación con *N. aberrans*. De raíces de jitomate agalladas por *N. aberrans*, se extrajeron masas

de huevos y se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ en cajas Petri con agua destilada estéril conteniendo el fungicida Captan^{MR} y el antibiótico Cloranfenicol^{MR} al 0.1%, y se cuantificó el número de juveniles (J_2) emergidos. La inoculación se realizó cuando la mayoría de las plantas presentaron entre cuatro y cinco hojas verdaderas, aplicando un total de 2000 J_2 por planta en la base del tallo.

Producción de inóculo de *P. capsici* y *P. syringae* pv. *tagetis*. La cepa 6143 de *P. capsici* proporcionada por la Dra. Fernández-Pavía se cultivó en cajas Petri conteniendo medio V8 (jugo V8; CaCO_3 4 g; agar 16 g; en 1000 ml de agua destilada). En el centro de cada caja se colocó un disco de 0.5 cm de diámetro con medio de cultivo conteniendo micelio del oomiceto. Las cajas se incubaron en obscuridad a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ y una vez que el micelio cubrió la superficie del medio, el contenido de la caja se fragmentó en cuatro porciones, cada porción se trató con una solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9% (Abbott®) por 10 min, y posteriormente cada fragmento se transfirió a una caja Petri conteniendo 20 ml de agua destilada estéril. Las cajas se mantuvieron bajo luz fluorescente a temperatura ambiente por 48 horas. Para inducir la liberación de las zoosporas, las cajas se expusieron a -20°C durante 15 min y posteriormente se mantuvieron 20 min a temperatura ambiente de alrededor de $24 \pm 2^\circ\text{C}$. Se cuantificó el número de zoosporas por mililitro de agua utilizando un hematocitómetro (Marienfeld®) y la densidad de inóculo se ajustó a 10^5 zoosporas ml^{-1} .

La bacteria *Pseudomonas syringae* tiene la capacidad de inducir en plantas no hospedantes (interacciones incompatibles) la reacción de hipersensibilidad (RH, muerte celular programada asociada con la defensa de la planta) gracias a la presencia de genes *hrp* (genes de reacción de hipersensibilidad y patogenicidad), responsables de codificar para el sistema de secre-

ción tipo III a través del cual la bacteria inyecta moléculas efectoras en las células con las que interacciona; así en investigaciones sobre la RH, diferentes patovares y cepas de esta bacteria gram negativa son frecuentemente inoculados para garantizar la inducción de la RH en plantas que no son sus hospedantes (Collmer *et al.*, 2000). Por tal motivo, en el presente estudio se utilizó como inductora de la RH a una cepa de *P. syringae* pv. *tagetis* proporcionada por el Dr. Leopoldo Fucikovskiy Zak. La bacteria se transfirió a cajas Petri conteniendo medio B de King (20 g de proteosa peptona, 1.5 g de K_2HPO_4 , 1.5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15 ml de glicerol y 15 g de agar; en 1000 mL de agua destilada) (Schaad *et al.*, 2001), se incubó a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 h y se preparó una suspensión bacteriana (Klement *et al.*, 1990) que se ajustó a 10^8 ufc ml^{-1} mediante espectrofotometría (Perkin Elmer®) a una longitud de onda de 380 nm.

Inoculación. La inoculación foliar de las plantas con la bacteria o el oomiceto se realizó a 21 días después de haber inoculado al nematodo. La suspensión de zoosporas del oomiceto (10^5 zoosporas ml^{-1}) se asperjó sobre la parte aérea de las plantas o se infiltró, con una jeringa desprovista de aguja, en el envés de cinco a seis hojas cercanas al ápice de cada planta; en este último caso cada planta recibió una carga de inóculo de 300 000 zoosporas. Con el fin de evitar el contacto del inóculo con las raíces de las plantas, la parte superior de las macetas se cubrió con un plástico. La suspensión de células bacterianas (10^8 ufc ml^{-1}) se infiltró en el envés de cinco hojas cercanas al ápice de cada planta. Las plantas inoculadas se sometieron a una humedad relativa de $75 \pm 1\%$ durante 12 horas para favorecer la infección y se mantuvieron en una cámara bioclimática en las condiciones anteriormente descritas.

Experimento 1. En un primer experimento, se evaluaron ocho tratamientos: 1) CM-334 con *N. aberrans* y *P. syringae* (R+N+Ps), 2) CM-334 sólo con *P. syringae* (R+Ps), 3) CM334 sólo infiltrado con agua destilada estéril (R s/N s/Ps), 4) CM-334 con *Nacobbus aberrans* y *P. capsici* asperjado (R+N+Oa), 5) CM-334 sólo con *P. capsici* asperjado (R+Oa), 6) CM-334 sin nematodo ni oomiceto (R s/N s/O), 7) Susceptible sólo con *P. capsici* asperjado (S+Oa), y 8) Susceptible sólo con *P. syringae* (S+Ps). En seis plantas de los tratamientos R+N+Ps, R+Ps, R s/N s/Ps, y S+Ps se realizaron observaciones durante 7 días para darle seguimiento a la aparición de los síntomas típicos de la reacción de hipersensibilidad inducidos por la bacteria. Además, para determinar el contenido de capsidiol, de cada tratamiento con CM-334 inoculado con el oomiceto o la bacteria se establecieron otras 20 plantas y a los 3 y 6 días posteriores a la inoculación (pi) con el patógeno se tomaron 10 plantas por tiempo de cada tratamiento. Se separó el follaje de las plantas y se mezcló formando una muestra compuesta por tratamiento, la cual se congeló con Nitrógeno (N₂) líquido y se almacenó a -80°C.

Experimento 2. En este ensayo se optó por utilizar el método de infiltración para inocular al oomiceto debido a que la inoculación con zoosporas mediante aspersión induce una RH visible sólo a nivel microscópico, en cambio la infiltración si permite visualizar macroscópicamente la reacción. Se evaluaron los siguientes tratamientos: 1) CM-334 con *N. aberrans* y *P. capsici* infiltrado (R+N+Oi), 2) CM334 sólo con *P. capsici* infiltrado (R+Oi), 3) CM-334 sólo infiltrado con agua destilada estéril (R s/N s/O), y 4) Susceptible infiltrado con *P. capsici* y sin nematodo (S+Oi). Los tratamientos que involucraron al material resistente CM-334 constaron de seis plantas y aquellos correspondientes a plantas sus-

ceptibles constaron sólo de tres. Se realizaron observaciones durante 30 días para darle seguimiento a la aparición de los síntomas de tizón foliar o de la reacción de hipersensibilidad inducidos por el oomiceto.

Extracción, determinación y cuantificación del contenido de capsidiol

Obtención de capsidiol. La extracción del compuesto utilizado como estándar, se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Zhao y colaboradores (2004), con algunas modificaciones. En un lote de 50 frutos de chile poblano, en el área cercana al pedúnculo de cada fruto se hicieron dos aberturas por las que se infiltró una solución de celulasa (*Trichoderma viride*) (Sigma-Aldrich^{MR}), 1.1 mg L⁻¹ de agua desionizada; los frutos se incubaron por 72 hr a temperatura ambiente y posteriormente la solución acuosa recuperada se filtró; por cada 250 ml de esta solución se efectuaron tres extracciones con CH₂Cl₂ (60 ml por extracción). El extracto de CH₂Cl₂ se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad, obteniendo 328 mg de una pasta aceitosa café oscuro, misma que se preadsorbió en 500 mg de silica gel 60 (70-230 mesh ASTM).

El extracto preadsorbido fue aplicado a una columna de vidrio empacada con 10 g de silica gel 60, eluyendo primero con hexano y con mezclas a diferentes relaciones de hexano:acetato de etilo en orden creciente de polaridad; y de las fracciones correspondientes a la relación 3:2 (hexano:acetato de etilo) se obtuvo una sustancia blanca cristalina. La identidad del compuesto obtenido fue corroborada por su punto de fusión en un aparato Fischer Johns, y por análisis de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C a 500 y 125 MHz, respectivamente, en un espectrómetro Bruker modelo DMX 500, utilizando

CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia interna.

Determinación del contenido de capsidiol en plantas CM-334. La extracción de capsidiol de las muestras de follaje de los tratamientos R+N+Ps, R+Ps, R s/N s/Ps, R+N+Oa, R+Oa, y R s/N s/O, se realizó siguiendo la metodología descrita por Egea y colaboradores (1996b), con algunas modificaciones. Se hicieron tres extracciones por cada tratamiento a partir de 1 g de tejido por extracción. El tejido se maceró utilizando una mezcla de CH_2Cl_2 :MeOH (2:1) en un mortero conteniendo N_2 líquido. Cada extracto se filtró y evaporó a sequedad a temperatura ambiente, redisolviéndolos posteriormente con CH_2Cl_2 para su análisis por cromatografía en capa fina la cual se desarrolló con una mezcla de hexano:acetato de etilo (1:6) utilizando placas cromatográficas de silica gel 60 F_{254} (Merck®). Para cada tratamiento, las muestras fueron cromatografiadas en banda y eluidas conjuntamente con una muestra de capsidiol puro. Se recortó la porción correspondiente al estándar, la cual se reveló con una disolución de sulfato cérico amoniacal 2N en H_2SO_4 y se confrontó físicamente con la porción eluida y no revelada de cada tratamiento, las regiones correspondientes al $R_f = 0.28$ característico del capsidiol se rasparon, se lavaron con CH_2Cl_2 , filtraron y evaporaron a sequedad.

Detección y cuantificación de capsidiol. Las determinaciones del contenido de capsidiol, se realizaron espectrofotométricamente, siguiendo la metodología descrita por Chávez-Moctezuma y Lozoya-Gloria (1996). Se utilizó una curva de calibración previamente elaborada con el capsidiol puro extraído de chiles poblanos. Los resultados obtenidos de concentración de capsidiol ($\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido) se sometieron a un Análisis de varianza (ANOVA) y a un análisis de comparación de medias con el

método de Tukey ($P \leq 0.05$), mediante el programa computacional SAS para Windows 6.12 (SAS Institute, 1996).

RESULTADOS

*Respuesta hipersensitiva de chile CM-334 a *P. syringae* pv. *tagetis**

En las plantas de la variedad Joe E. Parker susceptible a *P. capsici*, la respuesta de hipersensibilidad (RH) a *P. syringae* pv. *tagetis* se desarrolló muy lentamente en comparación con la observada en las resistentes y comenzó a ser evidente hasta las 24 hr pi con la bacteria. El 100% de las plantas CM-334 inoculadas foliarmente con la bacteria en presencia o ausencia de *N. aberrans* exhibieron la RH; sin embargo, entre tratamientos se observaron diferencias importantes con respecto al tiempo en que empezaron a aparecer los síntomas típicos de la misma. En plantas que sólo fueron inoculadas con la bacteria (R+Ps) la reacción comenzó a evidenciarse a las 5 hr pi, observándose pequeñas manchas de color verde pálido en el sitio de infiltración; en contraste, en las plantas inoculadas con el nematodo e infiltradas con la bacteria (R+N+Ps) tales síntomas se empezaron a detectar hasta las 7 hr pi, (Figs. 1 A y B). En las plantas resistentes infiltradas solamente con agua (R s/N s/Ps), no se desarrolló ningún síntoma foliar (Fig. 1C).

El síntoma de "deshidratación" típico de la RH fue clara en CM-334 sin el nematodo (R+Ps) a las 7 hr pi, mientras que en las inoculadas con *Nacobbus aberrans* (R+N+Ps), fué hasta después de las 10 hr en que tal síntoma se hizo evidente. A las 24 hr pi ya no se observaron diferencias en la respuesta disparada en las plantas de ambos tratamientos (Figs. 1 D y E). Después de 10 días, en las plantas de los dos tratamientos las hojas infiltradas con la bacteria mostraron flacidez y se fueron

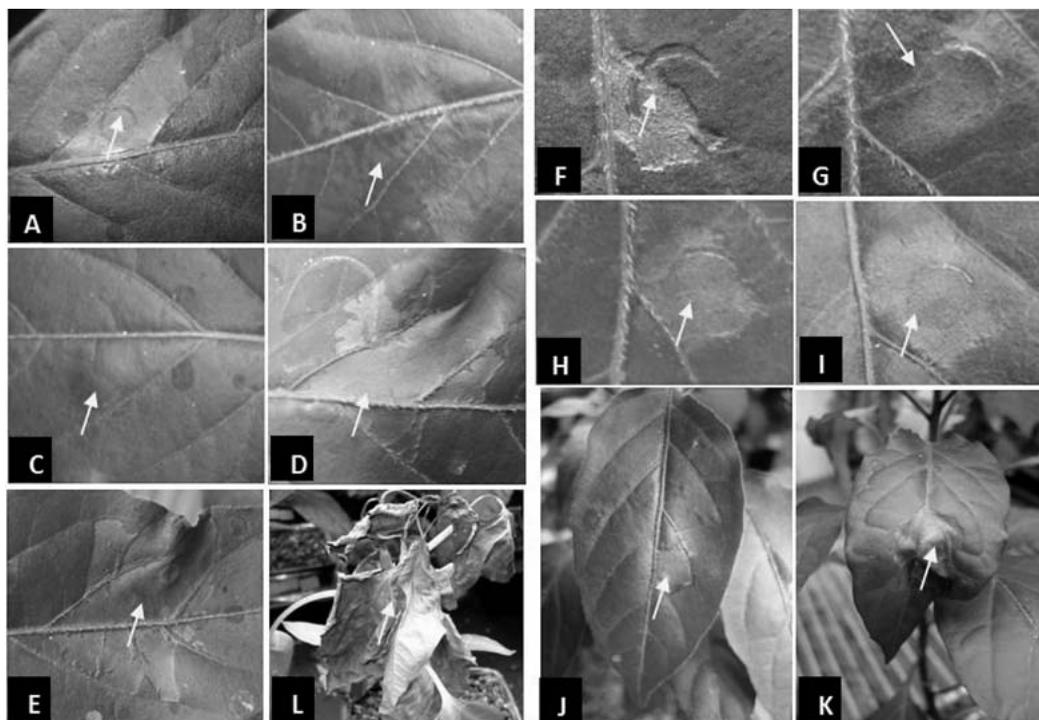


Fig. 1. (A-E) Respuesta hipersensitiva (RH) en hojas de chile resistente CM-334 (R) inoculadas con *P. syringae* pv. *tagetis* (Ps): (A) inoculada únicamente con la bacteria (R+Ps) y (B) con ambos patógenos (R+N+Ps) a las 7 hr post-inoculación, nótese la deshidratación del tejido en (A) mientras que en (B) sólo se aprecia un área clorótica; (C) infiltrada únicamente con agua destilada estéril (R s/N s/Ps), (D) R+Ps y (E) R+N+Ps a las 24 hr post-inoculación. (F-I) RH en hojas de chile resistente CM-334 (R) inoculadas por infiltración con zoosporas de *P. capsici* (O): (F) inoculada únicamente con el oomiceto (R+Oi), y (G) con ambos patógenos (R+N+Oi) a las 16 h post-inoculación, nótese la deshidratación del tejido en (F) mientras que en (G) sólo se aprecia un área clorótica; (H) R+Oi e (I) R+N+Oi a las 24 hr post-inoculación. (J y K) R+Oi y R+N+Oi 120 hr post-inoculación, respectivamente; obsérvese que la RH limitó el avance del patógeno, en contraste en la var J. E. Parker susceptible a *P. capsici*, a este mismo tiempo se presentó en la mayor parte de la planta el típico síntoma de tizón foliar, indicando que la diseminación del patógeno no fue restringida al sitio de inoculación (L). N= *N. aberrans*.

colapsando paulatinamente; pero la abscisión de hojas inoculadas fue más rápida en ausencia del nematodo (R+Ps) que en su presencia (R+N+Ps).

Respuesta hipersensitiva de chile CM-334 a P. capsici

En el segundo experimento, las plantas de CM-334 cuyas hojas fueron inoculadas por infiltración (R+Oi y R+N+Oi) exhibieron la RH (Fig. 1 F-I); fue evidente que el desarrollo del síntoma se dio con mayor

rapidez en las plantas sin nematodo, de manera similar como ocurrió con la inoculación con la bacteria; así, en las plantas que no fueron previamente inoculadas con el nematodo dicha reacción comenzó a ser evidente alrededor de las 12 hr pi con el oomiceto, en contraste con aquellas que involucraban al nematodo donde la respuesta se presentó horas más tarde; sin embargo, a las 24 hr pi las respuestas en ambos tratamientos se tornaron similares (Fig. 1 H e I). En las plantas Joe E. Parker susceptibles a *P. capsici* los síntomas de tizón

foliar fueron evidentes a las 120 hr pi con el oomiceto (Fig. 1 L), y al cabo de 10 días el 100% de ellas perecieron; en contraste, con las resistentes (R+Oi y R+N+Oi, Fig. 1 J y K, respectivamente). La mayoría de las hojas infiltradas en plantas de estos últimos tratamientos se fueron colapsando paulatinamente y finalmente se desprendieron de la planta; sin embargo, al igual que en el ensayo con la bacteria, también aquí la abscesión fue mucho más rápida en plantas que no fueron inoculadas con el nematodo. Ninguna de las plantas resistentes infiltradas con el oomiceto con o sin nematodo, desarrolló el síntoma típico de tizón foliar inducido por *P. capsici*, durante el periodo de 30 días de observación.

Contenido de capsidiol en plantas de CM-334 inoculadas con P. capsici y con P. syringae pv. tagetis

La cromatografía en capa fina de las fracciones eluidas (3:2 hexano/acetato de etilo) obtenidas a partir del extracto de frutos de chile tratados con celulasa, indicó la presencia de una banda que presentó un Rf de 0.28; además, el compuesto purificado en forma de polvo blanco cristalino (106.4 mg) presentó un punto de fusión de 149-152°C. Ambos valores corresponden a los reportados en la literatura para el capsidiol (Zhao *et al.*, 2004). Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C (datos no mostrados) coincidieron con los reportados en la literatura antes mencionada; permitiendo así confirmar la identidad de este metabolito.

La concentración del capsidiol fue generalmente de 94 a 280% mayor en plantas asperjadas con zoosporas del oomiceto en comparación con las infiltradas con la bacteria; asimismo, altos niveles de capsidiol se mantuvieron hasta el sexto día después de la inoculación con *P. capsici*, mientras que la acumulación bajó drásticamente en hojas

infiltradas con *P. syringae*. A los 3 días pi con uno u otro patógeno, en las plantas que habían sido previamente inoculadas con el nematodo hubo consistentemente una menor acumulación del capsidiol en comparación con aquellas sin nematodo ($P \leq 0.05$).

A los 3 y 6 días pi con el oomiceto se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el contenido de capsidiol entre tratamientos (Fig. 2 A). En los dos tiempos de evaluación la menor acumulación de la fitoalexina ocurrió en plantas testigo (29.17 y 31.16 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido a los 3 y 6 dpi, respectivamente) en comparación con aquellas inoculadas con el oomiceto (R+Oa y R+N+Oa). Fue también evidente que al tercer día la acumulación de la fitoalexina fue menor en aquellas plantas pre-

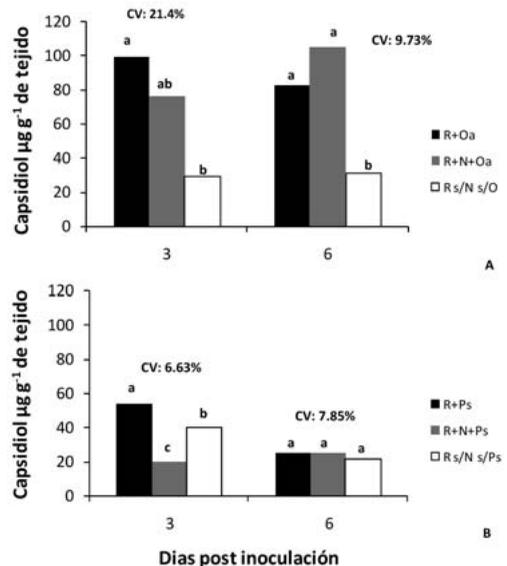


Fig. 2. Concentración de capsidiol a los 3 y 6 días post inoculación en chile resistente CM-334 (R): A) Hojas asperjadas con zoosporas de *P. capsici* (O); inoculadas únicamente con el oomiceto (R+Oa), con ambos patógenos (R+N+Oa), y sin nematodo ni oomiceto (R s/N s/O); B) Hojas infiltradas con *P. syringae* pv. *tagetis* (Ps); inoculadas únicamente con la bacteria (R+Ps), con ambos patógenos (R+N+Ps), e infiltradas únicamente con agua destilada estéril (R s/N s/Ps). N = *N. aberrans*.

viamente inoculadas con el nematodo. En el sexto día, los tratamientos R+Oa y R+N+Oa fueron estadísticamente similares entre ellos pero diferentes con respecto al testigo ($P \leq 0.05$) (Fig. 2 A) y los niveles de fitoalexina acumulada fueron parecidos a los encontrados en el primer tiempo de evaluación.

En las plantas infiltradas con la bacteria, se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el contenido de capsidiol entre los tres tratamientos a los 3 dpi pero no a los 6 dpi cuando el nivel acumulado disminuyó alrededor de 37% y fue similar en todos los tratamientos (Fig. 2 B). Al tercer día, la acumulación fue significativamente menor (20.03 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido) en aquellas plantas previamente inoculadas con el nematodo (R+N+Ps) en comparación con R+Ps (53.89 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido); asimismo, las plantas testigo infiltradas solamente con agua acumularon el doble de la fitoalexina en comparación con las del tratamiento con bacteria y nematodo (R+N+Ps). Al sexto día la acumulación de capsidiol fue estadísticamente igual en todos los tratamientos.

DISCUSIÓN

CM-334 es altamente resistente a *P. capsici* (Ueeda *et al.*, 2006; Glosier *et al.*, 2008), a los nematodos *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* (Pegard *et al.*, 2005), y a los virus Y de la papa (PVY) y del moteado del chile (PeMV) (Arnedo-Andrés *et al.*, 2006; Palloix y Kyle, 1995). La resistencia a dichos patógenos se ha asociado con una respuesta hipersensitiva dada por el hospedante. En el presente estudio la rápida respuesta observada a las 5 hr pi con la bacteria *P. syringae* pv. *tagetis* utilizada como elicitador, confirma que CM-334 posee defensas bioquímicas eficientes, que de acuerdo con lo reportado podrían incluir: incrementos en la acumulación de

la fitoalexina sesquiterpénica capsidiol y en la actividad de peroxidases ácidas, cambios cuantitativos y cualitativos de fenoles con propiedades fungitóxicas (Fernández-Pavía, 1997; Candela *et al.*, 2000), y producción de óxido nítrico que actúa como molécula señal conjuntamente con las fitohormonas ácidos jasmónico y salicílico, implicados en las respuestas de defensa a nivel sistémico (Requena *et al.*, 2005; Ueeda *et al.*, 2006). La activación temprana de estas estrategias podría imposibilitar el establecimiento exitoso del patógeno en CM-334, en comparación con la lentitud de la respuesta (24 hr post-inoculación) observada en las plantas Joe E. Parker susceptibles a *P. capsici*. Existe suficiente evidencia experimental que demuestra que tanto las plantas resistentes como las susceptibles a enfermedades poseen mecanismos de defensa, y que la incompatibilidad o compatibilidad patógeno-hospedante está determinada por la velocidad y la magnitud con la que ocurre la expresión de los genes responsables de la manifestación de dichas defensas que restringen el desarrollo de un patógeno potencial (Kuc, 1997; Whalen, 2005).

En hojas de CM-334 infiltradas con una suspensión de 100 000 zoosporas ml^{-1} se observó una RH, tanto en las plantas inoculadas como en las no inoculadas previamente con el nematodo; sin embargo, el desarrollo de la reacción se dio con mayor rapidez en las plantas sin nematodo, de manera similar como ocurrió con la inoculación con la bacteria. Tanto las plantas inoculadas solamente por infiltración con *P. capsici*, como aquellas inoculadas con los dos patógenos no desarrollaron los síntomas de tizón inducidos por el oomiceto indicando que este fue incapaz de establecerse. Lo anterior sugiere que la infección de las raíces por *N. aberrans* no modificó la resistencia de CM-334 al oomiceto en el follaje, a pesar de que el nematodo

retrasó las respuestas de defensa de la planta.

La defensa hipersensitiva es un mecanismo de resistencia eficiente que frecuentemente se dispara en una interacción planta-patógeno incompatible, la cual tiene lugar durante las primeras 72 horas en que se da el reconocimiento (Goodman y Novacky, 1994). Así, en suspensiones de células de tres cultivares de Chile con diferente grado de susceptibilidad (Yolo Wonder susceptible, Americano parcialmente resistente y Smith-5 muy resistente), tratadas con elicitores de *P. capsici*, la RH fue más rápida e intensa en el material más resistente (Smith-5) en comparación con los otros dos genotipos (García-Pérez *et al.*, 1998).

En interacciones compatibles nematodo agallador-hospedante, el patógeno induce una reprogramación de la expresión génica de células de la planta que se constituyen en el sitio especializado de alimentación (células gigantes o sincitio), que provee al nematodo de los metabolitos necesarios para completar su ciclo de vida (Williamson y Gleason, 2003). En la interacción compatible *N. aberrans*-chile CM-334 se encontró que el contenido de fenoles solubles totales, y del ácido clorogénico en particular, se redujo con respecto a plantas no inoculadas con el nematodo (López, 2007); lo opuesto fue reportado en la interacción incompatible *Meloidogyne* spp-CM334 (Pegard *et al.*, 2005). Similarmente, en raíces de plantas CM-334 inoculadas con *N. aberrans* en combinación con *P. capsici*, hubo una reducción en la actividad de las enzimas PAL y peroxidasas (López-Martínez y Zavaleta-Mejía, 2007; Godínez-Vidal *et al.*, 2008a). Todo lo anterior sugiere que en presencia del nematodo los mecanismos de defensa de CM-334 son reducidos, lo cual podría favorecer el establecimiento del oomiceto en la raíz y dar lugar al rompimiento de la resistencia.

Los resultados de la presente investigación indican que la infección de raíces por *N. aberrans* también retrasó la expresión de los mecanismos de defensa en el estrato aéreo de la planta, pero tal retardo aparentemente no fue suficiente para crear un ambiente favorable que permitiera el establecimiento de *P. capsici* en el follaje.

El compuesto isoprenoide capsidiol es la principal fitoalexina de plantas de Chile y la rapidez de su acumulación en cantidades inhibitorias en tejidos infectados por *P. capsici*, con frecuencia se relaciona estrechamente con la resistencia al oomiceto; tal asociación ha sido demostrada en varios genotipos de Chile incluyendo a CM-334 (Hwang, 1995; Egea *et al.*, 1996a; Candela *et al.*, 2000). La mayor acumulación del capsidiol en plantas inoculadas solo con *P. capsici* (R+Oa) al tercer día pi, contrastó con la menor acumulación observada en la interacción compleja *N. aberrans*-CM-334-*P. capsici*; tal resultado sugiere que los cambios metabólicos y fisiológicos inducidos por este nematodo en la raíz, reducen la velocidad de acumulación de la fitoalexina en el estrato aéreo. En hojas de CM-334 infiltradas con la bacteria *P. syringae* pv. *tage-tis*, no patógena a Chile, la RH también estuvo asociada con un incremento en la acumulación de capsidiol; sin embargo, la cantidad acumulada fue menor en comparación con *P. capsici*, y los niveles de acumulación bajaron considerablemente al sexto día, mientras que en las plantas infiltradas con el oomiceto se mantuvieron concentraciones similares a las registradas a los 3 días pi. Üstün y colaboradores (1996), también encontraron mayores concentraciones de capsidiol en frutos de Chile inoculados con *P. capsici*, en comparación con aquellas obtenidas cuando se inocularon con *P. syringae* pv. *tomato* y otras bacterias no patógenas para el Chile.

La reducción de metabolitos antimicrobianos como fitoalexinas (Marley y

Hillocks, 1994) y fenoles (López-Martínez y Zavaleta-Mejía *et al.*, 2007) en interacciones planta-nematodo compatibles, ha sido documentada. Marley y Hillocks (1994) encontraron que la pérdida de resistencia a la marchitez causada por *Fusarium udum* en el cultivar ICP 9145 de *Cajanus cajan* inducida por *Meloidogyne incognita* y *M. javanica*, se asoció con un decremento en la acumulación de la fitoalexina cajanol, principal metabolito responsable de la resistencia. Godínez-Vidal y colaboradores (2008b), mencionan que durante la interacción compatible *N. aberrans*-CM-334 hubo un decremento en la acumulación de transcritos del gen *hmg2* (asociado con la biosíntesis de capsidiol), miembro de la familia multigénica de *hmg* (*hmg1*, *hmg2*, *hmg3*), que codifica para la enzima hidroximetil-glutaril-CoA reductasa, clave en la ruta de isoprenoides (Ha *et al.*, 2003). Lo anterior permite especular que la represión del gen *hmg2* puede estar relacionada con la reducción en la acumulación del capsidiol en las plantas CM-334 infectadas por *N. aberrans*.

Es interesante destacar que en las plantas CM-334 infectadas con el nematodo no se inhibió la RH y solo hubo un retraso en la respuesta, a pesar de que el contenido de la fitoalexina capsidiol fue menor en comparación con las plantas no inoculadas con *N. aberrans*; es decir, que a diferencia de lo que se ha observado con inoculaciones de *P. capsici* a la raíz, la resistencia de CM-334 en el follaje no se rompió y las células foliares respondieron hipersensitivamente para detener el avance de *P. capsici*. Estos resultados contrastan con lo reportado por Marley y Hillocks (1994) en la interacción *Meloidogyne* spp.- *F. udum* en *C. cajan*, pues el efecto sistémico de reducción del capsidiol inducido por *N. aberrans* en el follaje del chile pudo no haber sido de la magnitud suficiente para permitir el establecimiento del oomiceto. Aunque también

habrá que considerar que en la RH están involucrados varios eventos como la acumulación de especies reactivas de oxígeno, la pérdida de permeabilidad de las membranas celulares, la acumulación y oxidación de compuestos fenólicos, la síntesis de proteínas relacionadas con patogénesis y la producción de fitoalexinas; por consiguiente una disminución en la acumulación de fitoalexina pudo no ser determinante para reprimir la RH. Así mismo, el nivel de abatimiento de los mecanismos de defensa en el follaje de CM-334 por *N. aberrans* podría ser insuficiente para impedir el establecimiento del oomiceto en ese estrato de la planta. Otra posible explicación a la falta de rompimiento de resistencia en el estrato aéreo, se sustenta en los resultados reportados por Sy y colaboradores (2005), respecto a que en CM-334 existen tres genes de resistencia que de manera independiente confieren resistencia a *P. capsici* en raíz, tallo y follaje; de ahí que el rompimiento de resistencia al oomiceto en la raíz por el nematodo no tendría necesariamente repercusión en la resistencia foliar, aparentemente conferida por genes diferentes.

Los resultados obtenidos en la presente investigación indicaron que la infección de CM-334 por el nematodo agallador *N. aberrans* causó un retraso importante en la respuesta de hipersensibilidad y una reducción en la acumulación de la fitoalexina capsidiol en el follaje; no obstante, *P. capsici* no se estableció y no indujo tizón foliar.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología el financiamiento otorgado al primer autor para realizar sus estudios de maestría y para el desarrollo de esta investigación que forma parte del Proyecto 28594 B-CONACYT.

LITERATURA CITADA

- Arnedo-Andrés, A. M. S., M. L. Arteaga, and R. G. Ortega. 2006. New inheritance studies related to *Potato Virus Y* (PVY) resistance in *Capsicum annuum* L. "Serrano Criollo de Morelos-334". *Euphytica* 151:95-101.
- Arreola-Cortés, A., E. L. Soriano-Bello, E. Lozoya-Gloria, A. Barriga-Guzmán, and E. García-Pineda. 2007. The effect of acetylation of capsidiol phytoalexin on fungitoxic activity. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 40:69-73.
- Candela, M. E., C. Egea, M. D. García-Pérez, J. Costa, and M. Candela. 2000. Breeding paprika type peppers resistant to *Phytophthora capsici*. *Acta Horticulturae* 522:79-86.
- Chávez-Moctezuma, M. P., and E. Lozoya-Gloria. 1996. Biosynthesis of the sesquiterpenic phytoalexin capsidiol in elicited root cultures of chili pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Cell Reports* 15:360-366.
- Collmer A., J. L. Badel, A. O. Charkowski, D. Wenling, D. E. Fouts, A. R. Ramos, A. H. Rehm, D. M. Anderson, O. Schneewind, K. van Dijk, and J. R. Alfano. 2000. *Pseudomonas syringae* Hrp type III secretion system and effector proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:8770-8777.
- Egea, C. M. D. Alcazar, y M. E. Candela. 1996a. Capsidiol: Its role in the resistance of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum* 98:737-742.
- Egea, C., M. D. García P., and M. E. Candela. 1996b. Capsidiol accumulation in *Capsicum annuum* stems during the hypersensitive reaction to *Phytophthora capsici*. *Journal of Plant Physiology* 149:762-764.
- Fernandez-Pavía, S. 1997. Host-Pathogen interactions in the root rot *Phytophthora capsici* / *Capsicum annuum* resistant CM-334 pathosystem. Ph. D. Dissertation. New Mexico State University. 109 p.
- García- Pérez, M. D., C. Egea, y M. E. Candela. 1998. Defense response of pepper (*Capsicum annuum*) suspension cells to *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum* 103:527-533.
- Gayoso, C. F. Pomar, F. Merino, and M.A. Bernal. 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in *Capsicum annuum* L. var. *annuum* infected by *Phytophthora capsici* Leon. *Scientia Horticulturae* 102:1-13.
- Glosier, B. R., E. A. Ogundiwin, G. S. Sidhu, D. R. Sicho, and J. P. Prince. 2008. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Physiologica races of P. capsici* in pepper. *Euphytica* 162:23-30.
- Godínez-Vidal, D., M. Rocha-Sosa, E. B. Sepúlveda-García, J. Lara-Reyna, R. Rojas-Martínez, and E. Zavaleta-Mejía. 2008a. 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. E. Zavaleta-Mejía, M. Rocha-Sosa, P. León-Mejía, R. I. Rojas-Martínez, y L. Guevara-Olvera. 2008b. Expression of *Hmg* genes in chilli CM-334 infected by *Nacobbus aberrans* and its relationship with the breakdown of resistance to *Phytophthora capsici*. In: *Memorias del X Congreso Internacional/XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*, A. C. Julio 20-24. Monterrey, Nuevo León, México. Resumen C-95.
- Goodman, R. N., and A. J. Novacky. 1994. The hypersensitive reaction in plants to pathogens. A Resistance Phenomenon. APS Press, The American Phytopathological Society St. Paul Minnesota, USA. 244p.
- Ha, S. H., J. B. Kim, Y. S. Hwang, and S. W. Lee. 2003. Molecular characterization of three 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase genes including pathogen-induced *Hmg2* from pepper (*Capsicum annuum*). *Biochimica et Biophysica Acta* 1625:253-260.
- Hernández, A. A. M., E. Zavaleta-Mejía, y G. Carrillo C. 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.
- Hwang, B. K. 1995. Effects of age-related resistance and metalaxyl on capsidiol production in pepper plants infected with *Phytophthora capsici*. Pp. 503-523 in *Handbook of phytoalexins of metabolism and action*. M. Daniel, and R. P. Purkayastha (Eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, NY.
- Klement, Z., K. Rudolph, and D.C. Sands (Eds.). 1990. *Methods in phytobacteriology*. Akadémiai Kiadó, Budapest. 568 p.
- Kuc, J. 1997. Molecular aspects of plant responses to pathogens. *Acta Physiologiae Plantarum* 19:551-559.
- López, M. N. 2007. Actividad enzimática y fenoles solubles en Chile (*Capsicum annuum* L.) "CM-334" durante la pérdida de resistencia a *Phytophthora capsici* inducida por *Nacobbus aberrans*. Tesis de Maestría Colegio de Postgraduados Montecillo, Edo. de México. 68 p.
- López-Martínez, N., y E. Zavaleta-Mejía. 2007. Respuestas de defensa en Chile CM-334 inoculado con *Phytophthora capsici* y *Nacobbus aberrans*. In: *XXXIX Reunión anual. Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos (ONTA)*.

- 29 de octubre-2 de noviembre. Córdoba, Argentina. Resumen O6.
- 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, y K.Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, Distribution, Biology and Management. *Nematropica* 32:149-227.
- Marley, P. S., and R. J. Hillocks. 1994. Effect of root-knot nematodes on cajanol accumulation in the vascular tissues of pigeonpea after stem inoculation with *Fusarium udum*. *Plant Pathology* 43:172-176.
- Mozzetti, C., L. Ferraris, G. Tamiotti, and A. Matta. 1995. Variation in enzyme activities in leaves and cell suspensions as markers of incompatibility in different *Phytophthora*-pepper interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46:95-107.
- Oelke, L. M., P. W. Bosland, and R. Steiner. 2003. Differentiation of race specific resistance to phytophthora root and foliar blight in *Capsicum annuum*. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences* 128:213-218.
- Palloix, A., and M. Kyle. 1995. Proposal revision of gene nomenclature for potyvirus resistance genes in *Capsicum* sp. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 14:26-29.
- Pegard, A., G. Brizzard, A. Fazari, O. Soucaze, P. Abad, and Djian-Caporalino. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. *Nematology* 95:158-165.
- Redondo, E. J., y R. Rodríguez M. 1987. Mecanismos de infección y patología de las plantas de chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici*. *Agrociencia* 77:123-137.
- Requena, M. E., C. Egea-Gilabert, and M. E. Candela. 2005. Nitric oxide generation during the interaction with *Phytophthora capsici* of two *Capsicum annuum* varieties showing different degrees of sensitivity. *Physiologia Plantarum* 124:50-60
- Ristaino, J. B., and S. B. Johnston. 1999. Ecologically based approaches to management of Phytophthora blight on bell pepper. *Plant Disease* 83:1080-1089.
- SAS Institute. 1996. User's guide. The SAS System software for windows realease 6.12. SAS Institute, Cary, N. C. USA.
- Schaad, N. W., J. B. Jones, and W. Chun (Eds). 2001. *Plant Pathogenic Bacteria*. Third Edition, APS Press. St. Paul Minnesota. 373 p.
- Sy, O., P. W. Bosland, and R. Steiner. 2005. Inheritance of phytophthora stem blight resistance as compared to phytophthora root rot and phytophthora foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences* 130:75-78.
- Trujillo-Viramontes, F., E. Zavaleta-Mejía, R. I. Rojas-Martínez, y J. Lara R. 2005. Tiempo de inoculación y nivel de inóculo, factores determinantes para el rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* inducido por *Nacobbus aberrans* en Chile. *Nematropica* 35:37-44.
- Ueeda, M., M. Kubota, and K. Nishi. 2006. Contribution of jasmonic acid to resistance against *Phytophthora* blight in *Capsicum annuum* cv. SCM334. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67:149-154
- Üstün, A. S., C. Çökmüş, and S. C. Saçılık. 1996. Accumulation of capsidiol in the pepper fruits (*Capsicum annuum* L.) inoculated with some biotic elicitors. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 20:431-438.
- Vargas, E. M. T., E. Zavaleta-Mejía, y A. M. Hernández A. 1996. Rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* Leo en chile serrano CM-334 por *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. *Nematropica* 26:159-166.
- Whalen, M. C. 2005. Host defence in a developmental context. *Molecular Plant Pathology* 6:347-360.
- Williamson, V. M., and C. A. Gleason. 2003. Plant-nematode interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 6:327-333.
- Zavaleta-Mejía, E. 2002. Rompimiento de resistencia a hongos fitopatógenos por nematodos fitoparásitos, una hipótesis. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:118-122.
- Zhao, Y. D. J. Schenk, S. Takahashi, J. Chappell, and R. M. Coates. 2004. Eremophilane sesquiterpenes from Capsidiol. *Journal of Organical Chemistry*. 69:7428-7435.

Received:

25/II/2009

Accepted for publication:

25/IV/2009

Recibido:

Aceptado para publicación: