



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE FITOSANIDAD**

**FITOPATOLOGÍA**

**CONTENIDO DE FENOLES LIBRES EN CHILE  
(*Capsicum annum* L.) CM - 334 INOCULADO  
CON *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita***

**ANGELICA HERNÁNDEZ NAVARRO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2008**

La presente tesis titulada: **CONTENIDO DE FENOLES LIBRES EN CHILE (*Capsicum annum* L.) CM - 334 INOCULADO CON *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*** realizada por el alumno: Angelica Hernández Navarro, Bajo la dirección del Consejo Particular indicando, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGIA**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO

---

Dra. Reyna Rojas Martínez

ASESOR

---

Dra. Emma Zavaleta Mejía

ASESOR

---

Dra. Yolanda Salinas Moreno

ASESOR

---

Dr. Marcos Soto Hernández

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2008

## CONTENIDO DE FENOLES LIBRES EN CHILE (*Capsicum annum* L.) CM - 334 INOCULADO CON *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*

Angelica Hernández Navarro, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2008

Con la finalidad de contribuir al entendimiento del fenómeno de rompimiento de resistencia por nemátodos fitoparásitos, en el presente estudio se comparó el contenido de ácidos fenólicos libres en plantas inoculadas y no inoculadas con *Nacobbus aberrans* o *Meloidogyne incognita*. Plantas de Chile CM-334 resistentes a *Phytophthora capsici* y *M. incognita*, pero susceptibles a *N. aberrans*, y plantas de la var J. E. Parker, susceptibles a los tres patógenos, fueron o no inoculadas con 10,000 J<sub>2</sub> de *M. incognita* o *N. aberrans*. La determinación de los fenoles se realizó mediante espectrofotometría a los 5 días posteriores a la inoculación con los nemátodos. El contenido de fenoles libres en raíces (6.0%) y follaje (21.7%) de plantas resistentes fue significativamente mayor en comparación con las susceptibles. Asimismo, el contenido fue significativamente más alto (68.7% y 78%, respectivamente) en ambos estratos de aquellas plantas que fueron inoculadas con los nemátodos en comparación con las no inoculadas. *M. incognita* se asoció con una mayor acumulación de ácidos fenólicos en raíces (8.8%) y follaje (15.1%), en comparación con plantas inoculadas con *N. aberrans*. El contenido de fenoles en raíces y follaje se incrementó significativamente cuando las plantas fueron inoculadas con *M. incognita* en comparación con las inoculadas con *N. aberrans* (2.7% y 12%, y 15.4% y 18.9%, en resistentes y susceptibles, respectivamente); aunque, en la resistente sólo el incremento en follaje fue significativo.

**Palabras clave:** Rompimiento de resistencia, fenoles antimicrobianos, interacciones compatibles, interacciones incompatibles.

**Free phenols contain in chilli (*Capsicum annum* L.) CM - 334 Inoculate with  
*Nacobbus aberrans* and *Meloidogyne incognita***

Angélica Hernández Navarro  
Colegio de Postgraduados, 2008

With the purpose of contributing to the understanding of the phenomenon of breaking of resistance by plant parasitic nematodes, in the present study the free phenolic acids content in plants inoculated and not inoculated with *Nacobbus aberrans* or *Meloidogyne incognita* was compared. Chilli plants of CM-334 resistant to *Phytophthora capsici* and *M. incognita* but susceptible to *N. aberrans* and plants of the cv J. A. Parker, susceptible to the three pathogens, were or not inoculated with 10,000 J<sub>2</sub> of *M. incognita* or *N. aberrans*. The determination of phenols was made by spectrophotometry 5 days after nematode inoculation. The content of free phenols in roots (6.0%) and foliage (21.7%) of resistant plants was significantly greater in comparison with the susceptible ones. Also, the content was significantly higher (68.7% and 78%, respectively) in both strata of those plants which were inoculated with the nematode in comparison with the non inoculated ones. *M. incognita* was associated with a greater accumulation of phenolic acids in roots (8.8%) and foliage (15.1%), in comparison with plants inoculated with *N. aberrans*. The content of phenols in roots and foliage was increased significantly when the plants were inoculated with *M. incognita* in comparison with those inoculated with *N. aberrans* (2.7% and 12%, and 15.4% and 18.9%, in resistant and susceptible plants, respectively); although, in the resistant plants only the increase in foliage was significant.

Key words: Breaking of resistance, antimicrobial metabolites, compatible interactions, incompatible interactions.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al pueblo de México por su apoyo a través del consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) que hicieron posible mis estudios de Maestría.

Al CONACYT, quien institucionalmente financió más mis estudios de postgrado.

A la Dra. Emma Zavaleta Mejía, por su enorme apoyo, asesoría, sugerencias brindadas, colaboración en el desarrollo de mi vida profesional, por ofrecerme su confianza y libertad para experimentar y en quien he encontrado un gran ejemplo de trabajo, profesionalismo en el campo de la fitopatología y además por haberme brindado su amistad.

A la Dra. Reyna Rojas Martínez, por ofrecerme toda su confianza y libertad, por su amable disposición, por su entusiasmo, por enseñarme a tener siempre otra perspectiva y visión de las cosas y por permitirme formar parte de su grupo de investigación.

A la Dra. Yolanda Salinas Moreno, por su gran apoyo durante el transcurso de mi investigación no hubiese sido el mismo y quien me permitió conocer otra forma de trabajo y de ver la vida, muchas gracias.

Al Dr. Marcos Soto Hernández, mi más sincero agradecimiento, por su gran calidad profesional, así como su valioso apoyo y las facilidades brindadas durante la revisión del trabajo de investigación.

Al personal de Laboratorio de INIFAP de maíz, por todo el apoyo brindado en la investigación.

A todos y cada uno de los Doctores y Maestros que esmeran en compartir su tiempo, sus conocimientos y sus experiencias.

Este trabajo de investigación fue realizado como parte del proyecto "Implicación de los genes *pal* y *hmg* en el Fenómeno de Rompimiento de Resistencia a *Phytophthora capsici* por *Nacobbus aberrans* en Chile CM - 334" financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Proyecto 46331-Z).

A los buenos amigos y compañeros que me apoyaron en cada etapa de mi vida, que me brindaron su amistad, su cariño y su confianza, quisiera nombrarlos a todos y de esta forma agradecer cada momento que compartimos juntos pero unas cuantas líneas no bastan. Lo más importante es que ustedes saben que son mis amigos y yo sé que puedo seguir contando con ustedes.

## DEDICATORIAS

Después de terminar un ciclo más, me es difícil entender que haría sin todas aquellas personas que intervinieron de una u otra manera para poder llevar a cabo el objetivo que se tiene el de terminar algo que uno comienza. Es por ello que les doy las GRACIAS.

A Dios Nuestro señor:

Por concederme el don de la vida y mantenerse junto a mí, por guiar mis pasos e iluminar mis pensamientos, por los momentos de dicha y amor que me has permitido compartir con mis seres queridos, y ahora por un motivo más, por el privilegio de llegar a este feliz momento y por darme la oportunidad que día a día ser mejor.

A Mi Mama: Francisca Navarro Silva

Por haber sembrado una semilla, a la cual fue cultivando con mucho cariño y amor mediante un alto sentido de responsabilidad, y honestidad en el trabajo y sencillez como ser humano, forjando buenos principios mediante sus consejos en todo momento y como un pequeño reconocimiento a tus esfuerzos, por iluminarme con tu cariño y pacientemente suavizas el dolor, impulsándome a seguir siempre adelante mostrándome que es posible continuar y que cualquier dificultad se puede resolver. Por tu fortaleza por estar siempre allí conmigo cuando más te he necesitado, apoyándome en todo momento hacia el camino que yo tomara; A quien admiro mucho porque nunca ha demostrado debilidad, dolor o tristeza a pesar de tener el trabajo más difícil que pueda existir, ser madre.

A Mi Papa: Juan Hernández Garfías.

Por todo su amor, ese amor que nunca me ha faltado y que nunca me ha fallado; gracias por su ejemplo, su esfuerzo, dedicación, por su apoyo incondicional. Por

haberme dado la oportunidad de estudiar, por haber hecho de mí una persona honesta, trabajadora y profesionista.

Es por ello que deseo dedicarles este trabajo como un pequeño reconocimiento a todas sus enseñanzas. Ustedes son parte de mi vida, son la fuerza que me impulsa a seguir día a día tratando de ser mejor por todo su amor y apoyo, mi devoción y respecto por siempre, son lo primero y lo más importante gracias por todo.

A Mis Hermanos:

Yolanda, Maricela, Alejandra, Maribel, Lucía y Mi hermano Juan Fernando Hernández Navarro. Quienes me han demostrado que no existen obstáculos para tener lo que uno desea, por brindarme su cariño, apoyo, comprensión, por su ejemplo, tranquilidad, por creer en mí dándome su apoyo en todo momento, haciendo duro menos el camino a seguir, por estar siempre a mi lado, por contagiarme de ese espíritu creativo y tenaz, por todos sus detalles por ser ese rayito de luz y amor que es necesario para vivir cada día con plenitud y por lo que nos une.

Considero que los logros del ser humano son producto de la enseñanza que han obtenido durante su vida, en el hogar, en las aulas, en el trabajo, todas las personas que llenan estos espacios, son quienes transmiten su amor su experiencia, su filosofía de la vida moldeando así un carácter y alentando el espíritu.



<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>RESUMEN GENERAL</b> .....	I
<b>GENERAL SUMMARY</b> .....	II
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
El cultivo del chile ( <i>C. annuum L.</i> ).....	5
Origen e importancia.....	5
Siembra y producción.....	5
Comercio.....	6
Situación internacional del chile.....	7
Marchites del Chile.....	8
Compuestos fenólicos y de defensa de las plantas al ataque por patógenos.....	9
Resistencia a <i>P. capsici</i> .....	11
Nematodos fitoparasitos involucrados en el rompimiento de la resistencia.....	12

Hipótesis para explicar el rompimiento de resistencia a <i>Phytophthora capsici</i> .....	13
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b> .....	14
Establecimiento de plantas.....	14
Inóculo e inoculación.....	14
Obtención y procesamiento de muestras.....	15
Extracción de fenoles libres e identificación de ácidos fenólicos.....	15
<b>IV. RESULTADOS</b> .....	17
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	19
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	22
<b>VII. LITERATURA CITADA</b> .....	23
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	32

## LISTA DE CUADROS

CUADRO	TÍTULO	PÁGINA
1	Comparación del contenido de fenoles libres en raíces (R) y follaje (F) de plantas de chile CM - 334 (resistentes a <i>Phytophthora capsici</i> y <i>Meloidogyne incognita</i> , pero susceptibles a <i>Nacobbus aberrans</i> ) y J. E. Parker (susceptibles a los tres patógenos) inoculadas y no inoculadas con <i>N. aberrans</i> o <i>M. incognita</i> . .....	18

## INTRODUCCIÓN

Una de las hortalizas más importantes que se cultivan y se consumen en México es el Chile (*Capsicum annuum* L.), debido tanto a la superficie sembrada, como a sus beneficios económicos (Claridades Agropecuarias, 1998). Es de importancia social por la cantidad de mano de obra que se requiere durante el ciclo del cultivo y de importancia económica por generar divisas al país (Valadez, 1990). La producción de Chile es limitada, entre otros factores, por la presencia de las enfermedades causadas por los fitopatógenos con origen en el suelo; entre ellos diferentes especies de *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* y nemátodos agalladores (*Meloidogyne* y *Nacobbus aberrans*) que causan severos daños al sistema radical de la planta, al interferir con la absorción de nutrientes y agua, ocasionando debilitamiento, marchites y muerte de la planta (Ristaino *et al.*, 1997). El control de estos patógenos se ha intentado por medios químicos, biológicos y prácticas culturales como el uso de acolchados, rotación de cultivos, incorporación al suelo de residuos de cosechas y excrementos de animales. Otra estrategia ambientalmente sana para el manejo de las enfermedades la constituye el uso de variedades resistentes. Sin embargo, éstas pueden mostrarse susceptibles, al ser infectadas por nemátodos agalladores de raíces como *Meloidogyne spp* y *N. aberrans*, o por formadores de quistes como *Heterodera spp.* y *Globodera spp* (Pérez y Pérez, 1988, Hernández *et al.*, 1992; Goddijn *et al.*, 1993; Vargas, 1998). Tal es el caso del material de Chile CM - 334, altamente resistente a *Phytophthora capsici* (Fernández - Pavia., 1997), pero que se comporta como susceptible al oomiceto cuando la planta es previamente infectada con *N. aberrans* (Trujillo *et al.*, 2005). La resistencia a enfermedades se basa en las barreras estructurales y químicas que poseen las plantas para defenderse del ataque de patógenos (Davis *et al.*, 1988). Dentro de las barreras químicas destacan los compuestos fenólicos, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Hachiro, 1994). En la interacción planta - patógeno, la acumulación de compuestos fenólicos antimicrobiales se debe a la actividad de la enzima fenilalanina - amonio - liasa (PAL) que es clave para su síntesis. (Huang y Rhode 1973). La actividad de PAL y el subsiguiente incremento en la síntesis de

compuestos antimicrobiales es una respuesta general asociada con defensa de las plantas a patógenos (Klessing y Malamy, 1994; Piñol y Palazón, 1996). Por otro lado, la acumulación de fenoles se ha relacionado con la resistencia a la infección por nemátodos noduladores de la raíz; recientemente Pegard *et al.*, (2005) encontraron que CM - 334 responde de manera hipersensitiva al ataque por *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. Javanica*; estos autores sugieren que los compuestos fenólicos, particularmente el ácido clorogénico podría estar relacionado con la resistencia, ya que al analizar mediante HPLC el contenido de estos compuestos, encontraron que las raíces inoculadas con las tres especies de *Meloidogyne* contenían 59 veces más ácido clorogénico por gramo de tejido que el tejido no inoculado y siete veces más que el tejido del cultivar susceptible inoculado. Ya con anterioridad Huang y Rhode (1973), habían señalado que el ácido clorogénico en su forma oxidada puede inhibir la actividad de *M. incognita* afectando probablemente su respiración.

Con base en estos antecedentes y con la finalidad de contribuir al entendimiento del fenómeno de rompimiento de resistencia, el objetivo de esta investigación fue: Comparar el contenido de ácidos fenólicos libres en plantas de Chile resistentes a *Phytophthora capsici* y *M. incognita* (CM- 334) y susceptibles a los tres patógenos (var J. E. Parker) inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans* o *M. incognita*.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### EL CULTIVO DE CHILE (*C. annuum*)

#### Origen e importancia

El género *Capsicum*, es originario de América del Sur, de los Andes y la Cuenca Alta del Amazonas, que actualmente son parte de Perú, Bolivia, una zona de Argentina y Brasil, se conocen alrededor de 30 especies y en el ámbito mundial casi la totalidad de la producción está dada por una sola especie, *C. annuum* (Guerrero *et al.*, 1984; Long *et al.*, 1998).

El chile es un cultivo de gran tradición, junto con el maíz y el frijol ha sido elemento importante en la dieta básica de los mexicanos. Tiene gran importancia en la actividad agrícola en general, tanto en el plano social, por la elevada cantidad de mano de obra que requiere, mismo que genera 29 millones de jornales al campo y más de 125 mil fletes, además de que forma parte de un proceso agroindustrial de enlatados y envasados y genera también la captación de divisas debido a la exportación a los Estados Unidos de Norteamérica y Canadá (Long *et al.*, 1998; Valadez, 1990).

#### Siembra y producción

En México existen más de 40 variedades de chiles, destaca a nivel mundial por tener la mayor variabilidad genética de *C. annuum*, se tiene un gran número de variedades o tipos de chiles, entre los que destacan el serrano, jalapeño, ancho, pasilla, guajillo y de árbol. La producción de estos representa del 70 al 80% de la producción nacional (Claridades agropecuarias, 1998).

La producción de chiles dulces se destina principalmente al mercado de exportación, predominando el morrón y en menor grado el Anaheim, Caribe, Fresno y Cherry (Pozo *et al.*, 1991). Se consume tanto en fresco como deshidratado, entero o en polvo y procesado en salsas o encurtidos en una infinidad de presentaciones. Es el

producto agrícola en donde mayor número de empresas participan en su industrialización, desde las regionales con tecnología artesanal, hasta grandes empresas que elaboran productos de exportación (Redondo, 1990). En algunos estados del país se destinan superficies al cultivo del chile para deshidratado, principalmente, y en otros para producto fresco y encurtido. México se mantiene como el principal consumidor de chile fresco en el mundo y su consumo per-cápita alcanza los 8 kg por año. Durante los últimos 5 años se ha registrado un crecimiento del 20% de la producción nacional, que hoy alcanza una cifra estimada de un millón 800 mil toneladas, principalmente de chile verde y, en menor medida chile seco, con un valor de producción de hasta 10 mil 900 millones de pesos. México se mantiene como el segundo productor de la hortaliza en el mundo y el tercero en la superficie cosechada con 140, 693 has y 1' 853,610 toneladas participando con el 8% del área y el 7% de la producción mundial en toneladas (Consejo Nacional de productores de chiles, S.C. 2007).

Los principales estados productores de chiles secos son: Zacatecas, San Luis Potosí, Durango y Jalisco, mientras que en el caso de los chiles verdes destacan: Chihuahua, Sinaloa, Guanajuato y Veracruz. Las variedades de chiles secos sembradas son: Guajillo, Puya y de Árbol, mientras que de los frescos destacan los serranos, jalapeños, habanero y manzano. Otras especies de chiles que tienen demanda son: costeño, chile de agua, loco, skatic, cora, rayado, mirador y otros silvestres. Por la variedad de chiles que existen en México, la producción se registra prácticamente durante todo el año y se cultiva en áreas desde a nivel del mar hasta 2500 msnm (Consejo Nacional de Productores de Chiles, S.C. 2007).

## **Comercio**

El 80% del chile producido en México se consume internamente. La cantidad que se exporta se ha mantenido relativamente constante desde 1998, y el chile que se exporta es el que se produce durante el invierno en regiones con tecnología de riego y regularmente localizadas cerca de la frontera estadounidense. En 2004 se exportaron 432,960 toneladas, el 85% se destinó a Estados y el resto a Canadá.

Durante el periodo comprendido de diciembre a abril se exporta más del 95% del total que se exporta durante el año, debido a que en esa época las producciones en Estados Unidos y Canadá son bajas y los chiles mexicanos compiten con ventaja. Los productos frescos más exportados son chiles tipo bell y jalapeños. En el en 2004 las exportaciones de chile verde representaron una aportación de 424'930,000 de dólares. La exportación de productos deshidratados está limitada por la alta exigencia y severas sanciones con relación a las condiciones de inocuidad y seguridad alimentaria, tanto en chiles enteros como molidos, ya que con frecuencia presentan residuos de pesticidas, fragmentos de insectos o roedores, como resultado del uso de sistemas artesanales y tradicionales en el secado y empaçado de los chiles (Consejo Nacional de Productores de Chiles, S. C. 2007).

### **Situación internacional del chile**

En el siglo XVI, el chile pasó a formar parte esencial en la cocina y costumbres de todo el mundo. Los datos más recientes de FAOSTAT (2007) la superficie mundial sembrada de chiles asciende a 1'696,891 hectáreas, con una producción de 25'015,498 toneladas. China es el país que presenta una mayor participación en la producción de chiles; su superficie sembrada actual es de 612,800 hectáreas, con lo que representan un 36% de la superficie sembrada mundial, con una producción de 12'531,000 toneladas. México ocupa el segundo lugar en volumen de producción y el tercero en superficie cosechada, con 140,693 has y 1'853,610 toneladas, participando con el 8% del área y el 7% de la producción mundial en toneladas. De acuerdo a la producción obtenida en tonelada les siguen, Turquía, Estados Unidos, España e Indonesia, representando juntos el 25% del volumen mundial de producción (Consejo Nacional de Productores de Chiles, S.C. 2007).



## Marchites del chile

Los rendimientos y calidad del producto son reducidos por plagas y enfermedades de origen viral y la marchites del chile ocasionada por el oomiceto *Phytophthora capsici* es considerada la principal enfermedad que limita su producción en México. La población de plantas cultivadas puede reducirse hasta en un 50% en diversas zonas productoras y en algunas regiones se registran pérdidas totales del cultivo cuando las condiciones climáticas son favorables para el desarrollo del patógeno (Redondo y Rodríguez, 1987). La marchites del chile está ampliamente distribuida y constituye una de las principales enfermedades de muchas áreas productoras, especialmente en zonas de riego; su rango de hospedantes es amplio, afecta tomate, berenjena y curcubitáceas, entre otras hortalizas. *Phytophthora capsici* es capaz de sobrevivir en el suelo por largos periodos en ausencia de plantas hospedantes cuando las condiciones climáticas no son favorables para iniciar y desarrollar la enfermedad (Coelho *et al.*, 1999). La enfermedad es más frecuente en la etapa de fructificación y madurez del fruto de chile; su principal característica es la pudrición del cuello de la raíz o base del tallo y la marchites general, que es lo más común. El salpicado por el agua contribuye a diseminar el inóculo del suelo en los tallos, hojas y frutos (Tlapal, 1988). Inicialmente se observan manchones de plantas afectadas y en pocos días, si hay condiciones favorables, se puede afectar el 100% de la superficie (Chávez - Alfaro *et al.*, 1995).

El manejo de la enfermedad por lo general se realiza mediante diversos métodos, entre los más comúnmente están las prácticas culturales y la aplicación de fungicidas (Ristaino, 1997). Se ha intentado a través de los años controlar a *P. capsici* por diferentes medios como son fungicidas a base de cobre (Nieto, 1968; Ponce, 1972) o, en combinación con algunos carbonatos (Granada, 1972). Los fungicidas Metalaxil y Ridomil han sido los más comúnmente utilizados pero se ha reportado resistencia por *P. capsici* (Goodwin *et al.*, 1996, Parra y Ristaino, 2001). Otras alternativas que se han evaluado son la solarización y el acolchado (Chávez - Alfaro *et al.*, 1995; Yáñez - Juárez *et al.*, 2001) y la elevación de los surcos. Una estrategia

ambientalmente sana la constituye el uso de variedades resistentes (Walter y Bosland, 1999).

### **Compuestos fenólicos y defensa de las plantas al ataque por patógenos**

En general, las plantas contrarrestan el ataque de los patógenos ya sea mediante características estructurales que actúan como barreras físicas e impiden que el patógeno penetre y se propague en ellas, o por medio de reacciones bioquímicas que tienen lugar en sus células y tejidos, éstos producen sustancias tóxicas para el patógeno o crean condiciones que inhiben sus desarrollo (Davis *et al.*, 1988). Entre estos están los “compuestos fenólicos”, término aplicable a una gran variedad de compuestos orgánicos (Gross, 1981). Los fenoles son sustancias que poseen uno o más grupos hidroxilo (OH) o algún derivado funcional unidos a un anillo aromático; sin embargo, no se reconoce que todos los compuestos con grupo hidroxilo sean fenoles (Métraux y Raskin, 1993; Waterman y Mole, 1994). Los fenoles son fundamentales en la composición de la lignina, componente estructural importante de la pared celular de las plantas (Métraux y Raskin, 1993).

Se considera que los fenoles, en general, pueden formarse por la  $\beta$  - oxidación de  $C_6$  -  $C_3$  ácidos hidroxicinámicos, o más directamente por la aromatización del ácido shikímico, a través del cual prácticamente se forman todos los polifenoles de las plantas superiores. En la ruta de síntesis un intermediario importante es la fenilalanina que mediante la actividad de la enzima fenilalanina amonio - liasa la convierte en ácido cinámico. Entre los metabolitos secundarios producidos a través de esta ruta se encuentran los flavonoides y catequinas que se asocian con la resistencia a enfermedades (Misirli *et al.*, 1995). Tales compuestos intervienen en la protección del tejido dañado, en la inhibición de las enzimas que degradan a la pared celular y como sustrato de compuestos antifúngicos que eliminan la infección (Gradziel *et al.*, 1988). Proveen resistencia química contra herbívoros, insectos, hongos, bacterias y virus (Harborne, 1997; Métraux y Raskin, 1993; Nicholson y Hammerschmidt, 1992).

Los fenoles son productos químicos muy reactivos, sujetos a fácil sustitución y oxidación formando quinonas (Ayers *et al.*, 1985). Se considera que los diferentes niveles de compuestos fenólicos en las plantas son el resultado de una modulación por factores externos y de la variación genética acompañada por cambios en la tasa de desarrollo de la enfermedad (Schlosser, 1994).

Guedes *et al.*, (1994) establecieron que un incremento en el contenido de fenoles totales y una acumulación de fitoalexinas estimulan la resistencia en plantas de café inoculadas con *Hemileia vastatrix* y *Pseudomonas syringae*.

En durazno altos niveles de resistencia a *Monilinia fructicola* se asociaron con altos niveles de compuestos fenólicos y los autores mencionan que el ácido clorogénico y el ácido caféico podrían ser los implicados (Gradziel *et al.*, 1998); tales compuestos inhiben la producción de cutinasa, enzima que los patógenos pueden secretar para facilitar su penetración a los frutos.

Estudios de resistencia han enfatizado el aislamiento y caracterización química de compuestos formados durante la reacción incompatible de la enfermedad en las que el patógeno es inhibido, tales compuestos normalmente están ausentes o en muy bajas cantidades en los tejidos sin infectar (Daly, 1975). Estudios histoquímicos de células necróticas muestran que la acumulación de los compuestos fenólicos, taninos y otros derivados de la oxidación son característicos de las reacciones hipersensitivas (Fuschs, 1975).

La acumulación de fenoles se ha relacionado con la resistencia a la infección de plantas de tomate nematodos fitoparásitos, así en la variedad Nemared y Hawaii 7153, resistente y moderadamente resistente, a nematodos agalladores se encontró un mayor contenido de ácido clorogénico en comparación con la variedad susceptible B - 5 (Huang y Rohde, 1973) y las pruebas histoquímicas revelaron que el ácido clorogénico y sus productos de oxidación se acumularon en las células infectadas.

Al probar el efecto nematicida de algunos compuestos fenólicos Mahajan y colaboradores (1985); encontraron que la máxima actividad nematicida fue exhibida por el ácido transcinámico seguido por pirogalol, ácido 2 - OH naftoico y el ácido etilengálico. Algunos ácidos fenólicos mostraron mayor toxicidad después de su

autooxidación ( $\alpha$  - resorcilico, 3,4 dihidroxibenzoico, ferúlico y cafeico), mientras que en su forma no oxidada mostraron poco efecto nematocida. El ácido transcinámico y el ácido 2 - OH naftoico inhibieron casi el 100 % de la eclosión de huevecillos de *Meloidogyne incognita*.

La acumulación de fenoles se ha relacionado con la resistencia a la infección de plantas de tomate a nematodos noduladores de la raíz. Recientemente Pegard *et al.*, (2005) encontraron que CM - 334 responde de manera hipersensitiva al ataque por *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. Javanica*; estos autores sugieren que los compuestos fenólicos, particularmente el ácido clorogénico podría estar relacionado con la resistencia, ya que al analizar mediante HPLC el contenido de estos compuestos, encontraron que las raíces inoculadas con las tres especies de *Meloidogyne* contenían 59 veces más ácido clorogénico por gramo de tejido que el tejido no inoculado y siete veces más que el tejido del cultivar susceptible inoculado. Ya con anterioridad Huang y Rhode (1973), habían señalado que el ácido clorogénico en su forma oxidada puede inhibir la actividad de *M. incognita* afectando probablemente su respiración.

### **Resistencia a *P. capsici***

La resistencia a *P. capsici* en algunos materiales de Chile se asocia con: incrementos en la actividad de la enzima Fenilalanina - amonio - liasa (PAL) (Mozzetti *et al.*, 1997; Fernández - Pavia, 1997; Fernández - Pavia y Liddell, 1997); cambios cuantitativos y cualitativos en fenoles con propiedades tóxicas al oomiceto (Candela *et al.*, 1995; Fernández - Pavia y Liddell, 1997); y también el contenido de capsidiol en los tejidos de la planta frecuentemente se ha relacionado con el grado de resistencia al ataque por hongos (Egea *et al.*, 1999). De los materiales de Chile resistentes a *P. capsici*, desarrollados por el Centro Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias del Bajío en México, destaca el conocido como CM - 334 que ha demostrado un alto grado de resistencia a *P. capsici* en diferentes partes del mundo aún cuando se ha inoculado con las cepas más patogénicas del oomiceto.

Fernández - Pavía (1997) reporta que *P. capsici* es capaz de penetrar en las raíces de plantas CM - 334, pero su desarrollo es mucho más lento y la colonización del tejido por el micelio es finalmente detenido presentándose solo leves necrosis en las puntas de las raíces, en cambio las plantas susceptibles que mueren al cabo de 7 a 10 días. Al comparar el RNA mensajero responsable de codificar para la síntesis de PAL, encontró una expresión más rápida en CM - 334 en comparación con el chile susceptible, esto se asoció con diferencias cuantitativas y cualitativas en los fenoles extraídos de ambos materiales y únicamente los fenoles extraídos del chile resistente inhibieron el crecimiento de *P. capsici* *in vitro*. Finalmente, también se comparó la actividad de la enzima hidroximetil glutaril coenzima A reductasa (HMGCAR) y la expresión del gen que codifica para su síntesis y encontró que estas eran mayores en plantas susceptibles. Esto último le resultó un tanto sorprendente ya que al ser HMGCAR una enzima clave para la síntesis de fitoalexinas isoprenoides como el capsidol, esperaba encontrar mayor actividad en las plantas susceptibles.

Las plantas CM - 334 altamente resistentes a la marchitez, se vuelven susceptibles cuando son infectadas por el nematodo agallador *N. aberrans* (Vargas, 1998; Trujillo *et al.*, 2005); este fenómeno es conocido como “rompimiento de resistencia”; mismo que ésta ampliamente documentado.

### **Nemátodos fitoparásitos involucrados en el rompimiento de resistencia**

Los nematodos que se han asociado con el fenómeno de rompimiento de resistencia a fitopatógenos con origen en el suelo, corresponden a géneros sedentarios endo o semiendoparásitos, que se caracterizan por inducir en sus hospedantes la formación de estructuras especializadas para su alimentación (células gigantes o sincitios), como los agalladores de raíces *Nacobbus* spp y *Meloidogyne* spp. La formación de estos sitios de alimentación resulta de una interacción compleja entre el patógeno y el hospedante, en la que el nematodo altera los patrones de expresión génica de las células de la planta (Sijmons, 1993; Atkinson, 1994; Opperman *et al.*, 1994; Niebel *et al.*, 1993). Se sabe que la infección por el nematodo agallador *M. incognita* resulta en una represión y una estimulación en sus hospedantes de los genes PAL

(Fenilalanina-amonioliasa, PAL) (Goddijn *et al.*, 1993) y *hmg* (Hidroximetil-glutaril-CoA reductasa, HMGC<sub>o</sub>A-r), respectivamente (Cramer *et al.*, 1989 *et*; Cramer *et al.*, 1993).

El nematodo agallador *N. aberrans*, se ha encontrado en diversas partes del mundo (CABI/EPPO, 1998); en México, su distribución, se limita a 10 estados siendo el tomate el más afectado y el de mayor importancia económica, seguido por el chile y el frijol (CABI/EPPO, 1999). *N. aberrans* tiene un rango de hospedantes que incluye 17 familias y 69 especies de plantas (PROINPA, 1991).

### **Hipótesis para explicar el rompimiento de resistencia a *P.capsici* en Chile CM - 334**

Con base en el conocimiento que en la actualidad se tiene respecto a que: la infección *M. incognita* resulta en una represión y una estimulación de los genes PAL y *hmg*, respectivamente, en sus hospedantes; que la actividad de PAL fue reducida en plantas de Chile CM - 334 resistentes a *P. capsici* inoculadas con el nematodo *N. aberrans* (Vargas, 1998; Godínez - Vidal *et al.*, 2008); y que la resistencia a *P. capsici* en Chile CM - 334 se ha asociado con un incremento en la expresión de los genes PAL y peroxidasas (Pox) y, con una menor expresión del gen *hmg* (Fernández - Pavía, 1997); Zavaleta - Mejía (2002), propuso que el rompimiento de la resistencia a *P. capsici* por el nematodo agallador *N. aberrans* en Chile CM - 334, se asocia en parte con una estimulación del gen *hmg*, y una represión de los genes Pox y PAL, y el consecuente incremento y reducción en la actividad enzimática de Hidroximetil Glutaril CoA reductasa y de Peroxidasas, y de la Fenilalanina Amonio Liasa, respectivamente.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### Establecimiento de plantas

Semillas de chile serrano Criollo de Morelos (CM - 334) resistente a *Phytophthora capsici* y Joe E. Parker (JEP) susceptible se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.5% por 5 min. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada estéril para quitar los residuos de cloro. Las semillas se colocaron en cajas Petri conteniendo papel sanita estéril embebido con agua destilada estéril, y se incubaron a  $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Cuando las semillas germinaron y su radícula alcanzó aproximadamente 2 cm de longitud, se transplantó una plántula en cada maceta de plástico conteniendo  $75 \text{ cm}^3$  de arena esterilizada como sustrato. De cada genotipo de chile se prepararon 18 macetas, de las cuales seis se inocularon con *M. incognita* y seis con *N. aberrans*, las seis restantes constituyeron el testigo no inoculado. Los riegos se aplicaron periódicamente, utilizando agua estéril y se fertilizaron semanalmente con solución nutritiva preparada con el fertilizante Nitrofoska (12 N - 12 P- 12 K - 17 Mg) en proporción de  $8.6 \text{ g L}^{-1}$ . Las plantas que se mantuvieron en cámaras de crecimiento a temperatura de  $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , con un fotoperíodo de 14 horas luz y 10 de oscuridad y una intensidad luminosa de 6768 lux (lux fluorescente). Cuando las plantas alcanzaron la etapa en que presentaron cuatro hojas verdaderas se inocularon con *N. aberrans* o *M. incognita*.

#### Inóculo e inoculación

De raíces agalladas de plantas de chile y jitomate crecidas en suelo infestado con uno u otro nematodo se obtuvieron las masas de huevecillos. Estas se colocaron sobre una malla de acero inoxidable revestida con papel filtro y mantenida sobre una caja Petri que contenía 20 ml de agua destilada estéril. Las cajas conteniendo los huevecillos se incubaron a  $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , cuando los juveniles de segundo estadio ( $J_2$ )

emergieron se cuantificó el número de larvas mL<sup>-1</sup> de agua. Se inocularon 10,000 J<sub>2</sub> de *N. aberrans* o *M. incognita* por planta en la base del tallo.

### **Obtención y procesamiento de muestras**

A los 5 días posteriores a la inoculación se tomaron de cada variedad dos plantas inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans* o *M. incognita*. Se lavaron las raíces y se separó el follaje y raíz, e inmediatamente cada estrato de cada planta se congeló con nitrógeno líquido y se almacenaron en un ultracongelador a -80°C hasta su utilización. Las muestras congeladas se transfirieron a frascos de la liofilizadora, los cuales previamente se habían enfriado durante 15 min en un ultracongelador a -20°C. Las muestras inmediatamente se sometieron a liofilización a una temperatura de -40°C y un vacío de 50 -133 X 10<sup>-3</sup> mBar durante 24 h. El tejido liofilizado se molió en un mortero y se secó a temperatura de 60°C durante 24 h, las muestras secas se colocaron en un desecador hasta su utilización.

### **Extracción de fenoles libres e identificación de ácidos fenólicos**

La extracción de fenoles libres se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Vinson *et al.* (2001). De cada estrato de cada planta correspondiente a cada tratamiento se pesaron en tres ocasiones 0.04 mg de tejido. Este se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y a continuación se agregaron 15 mL de una solución metanol: agua (1:1 v/v), se cubrieron los matraces con papel parafilm y se agitaron durante 90 min. Al cabo de este tiempo cada muestra se transfirió a un tubo y se centrifugó a 45 000 rpm durante 15 min. Se separó el sobrenadante y al residuo se le añadieron 15 mL de la solución metanol: agua (1:1 v/v), se agitó nuevamente durante 90 min, se separó el sobrenadante y se mezcló con el extraído con anterioridad. El sobrenadante obtenido se filtró a través de papel filtro No. 40 (Sartorius®). Se evaporó a sequedad en un rotavapor a una temperatura de 42°C y a 120 rpm y se resuspendió con agua destilada y se aforó a 10 mL en un matraz aforado.



La determinación de los fenoles libres se realizó mediante un ensayo colorimétrico utilizando el reactivo Folin - Ciocalteu. Este consiste en una mezcla de ácido fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_{10}$ ) y de ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) que se reduce por la presencia de fenoles, a una mezcla de óxidos azules de tungsteno ( $W_8O_{10}$ ) y de molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), en un medio líquido alcalino.

A 500  $\mu$ L del extracto de cada muestra y a los blancos se le añadieron 125  $\mu$ L de la mezcla reactivo Folin: agua; (1:1; v/v). Se dejó reposar durante 6 min y en seguida se agregaron 1.25 mL de carbonato de sodio al 19% (p/v). La formación del complejo de los óxidos de tungsteno y molibdeno, por la presencia de fenoles cambia el color de la solución a un tono azul. A continuación se añadió agua destilada hasta completar un volumen de 3 mL, se agitó y se dejó reposar durante 90 min. Transcurrido este tiempo, las muestras se leyeron a 760 nm en un espectrofotómetro Perkin - Elmer® con el programa UV WINLAB LAMBDA 25. De cada muestra procesada de 0.04 g se realizaron dos lecturas. Con las lecturas obtenidas se estimaron las concentraciones de fenoles libres utilizando una curva patrón elaborada para ácido gálico (Apéndice 1). Las concentraciones se expresaron en  $\mu$ g de ácido gálico por gramo de muestra seca.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos mediante el análisis de contrastes ortogonales (Cuadro 1) indicaron que el contenido de fenoles libres en raíces y follaje de plantas resistentes fue significativamente mayor (6.0% y 21.7%, respectivamente) en comparación con las susceptibles (Cuadro 1). Asimismo, el contenido de estos compuestos fue significativamente más alto (68.7% y 78%, respectivamente) en ambos estratos de plantas que fueron inoculadas con los nematodos en comparación con las no inoculadas. La infección de plantas por *M. incognita* se asoció con una mayor acumulación de ácidos fenólicos en raíces y follaje (8.8% y 15.1%, respectivamente) en comparación con aquellas inoculadas con *N. aberrans*. En las plantas resistentes se incrementó el contenido de fenoles en raíces y follaje (2.7% y 12%, respectivamente) cuando fueron inoculadas con *M. incognita* en comparación con las inoculadas con *N. aberrans*, aunque solamente el incremento en follaje fue significativo. También en las plantas susceptibles en presencia de *M. incognita* hubo incrementos significativos en el contenido de ácidos fenólicos en raíces y follaje (15.4% y 18.9%, respectivamente) en comparación con las susceptibles inoculadas con *N. aberrans*.

**Cuadro 1.** Comparación del contenido de fenoles libres en raíces (R) y follaje (F) de plantas de chile CM - 334 (resistentes a *Phytophthora capsici* y *Meloidogyne incognita*, pero susceptibles a *Nacobbus aberrans*) y J. E. Parker (susceptibles a los tres patógenos) inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans* o *M. incognita*.

Fenoles libres		( $\mu\text{M}$ de ácido gálico $\text{eqg}^{-1}$ de muestra seca)
Contrastes ortogonales		
Resistente vs Susceptible <sup>a</sup>	R	12.61 vs 11.89 ****
	F	51.45 vs 42.26 ****
Con nemátodo vs Sin nemátodo <sup>b</sup>	R	14.17 vs 8.40 ****
	F	54.87 vs 30.82 ****
<i>M. incognita</i> vs <i>N. aberrans</i> <sup>c</sup>	R	14.77 vs 13.57 ****
	F	58.74 vs 51.01 ****
Resistente <i>M. incognita</i> vs Resistente <i>N. aberrans</i> <sup>d</sup>	R	14.83 vs 14.44 ns
	F	62.43 vs 55.73 ****
Susceptible <i>M. incognita</i> vs Susceptible <i>N. aberrans</i> <sup>e</sup>	R	14.72 vs 12.75 ****
	F	55.05 vs 46.30 ****

<sup>a</sup> Se compararon los tratamientos RSN, RNA y RM vs los tratamientos SSN, SNA y SM. <sup>b</sup> Se compararon los tratamientos RNA, RM, SNA y SM vs RSN y SSN. <sup>c</sup> Se compararon los tratamientos RM y SM, vs RNA y SNA. <sup>d</sup> Se comparó RM vs RNA. <sup>e</sup> Se comparó SM vs SNA. SSN = J. E. Parker sin nematodo. SNA = J. E. Parker inoculado con *Nacobbus aberrans*. SM = J. E. Parker inoculado con *Meloidogyne incognita*. RSN = CM - 334 sin nematodo. RNA = CM - 334 inoculado con *Nacobbus aberrans*. RM = CM - 334 inoculado con *Meloidogyne incognita*; \*\*\*\*P $\leq$  0.0001; ns= no significativo.

## DISCUSIÓN

Los compuestos fenólicos y otros metabolitos de la ruta de los fenilpropanoides se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y son un componente importante de los mecanismos de defensa en la planta (Nicholson y Hammerschmidt, 1992; Dixon *et al.*, 2002). La acumulación de estos metabolitos y otras respuestas de defensa generalmente se disparan cuando la planta es atacada por un patógeno y la respuesta es más rápida y de mayor magnitud cuando la interacción es de tipo incompatible (Keen, 1992; Edens *et al.*, 1995). Tales compuestos protegen el tejido infectado por su actividad antimicrobial (Gogoi *et al.*, 2000) y engrosando las paredes celulares por procesos de lignificación y suberización (Keen, 1992).

Pegard *et al.* (2005), encontraron que tanto plantas de Chile susceptibles (cv. Doux Long des Landes) como resistentes (genotipo CM - 334) *Meloidogyne* hubo un mayor contenido de fenoles cuando fueron inoculadas con diferentes especies de *Meloidogyne* (*M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria*) en comparación con las no inoculadas.

El contenido de fenoles libres en plantas resistentes a *P. capsici* fue significativamente mayor en comparación con las susceptibles al oomiceto. Es conocido que en plantas resistentes los mecanismos de defensa se disparan con mayor rapidez y con mayor intensidad; así Pegard *et al.* (2005), encontraron una asociación entre el contenido de fenoles y el grado de resistencia mostrado por CM - 334 a tres especies de *Meloidogyne*, observando que estos metabolitos se acumularon temprana y localmente dentro de las células cercanas a la larva de *Meloidogyne* sólo en las plantas resistentes.

Nuestros resultados indican que el contenido de fenoles libres fue mayor en raíces y follaje de plantas resistentes al oomiceto y al nematodo agallador *M. incognita*; tales resultados son opuestos a los reportados por Pegard *et al.* (2005) quienes encontraron que las plantas de Chile no inoculadas del cv. Doux Long des Landes susceptible a *Meloidogyne* spp mostraron mayor contenido de fenoles que las plantas de CM - 334 resistente a este nematodo agallador.

Cuando se compararon los contenidos de fenoles libres en follaje y raíz de plantas inoculadas con los nematodos se encontró un mayor contenido de estos metabolitos en las plantas inoculadas, lo cual fue consistente con los resultados de Pegard y colaboradores (2005) que también reportan incrementos en estos metabolitos, tanto en plantas susceptibles como resistentes. Sin embargo, estos resultados son opuestos a los consignados por López (2007), quien menciona que en las plantas de Chile CM - 334 inoculadas con *N. aberrans* hubo un contenido de ácido clorogénico significativamente menor en comparación con las plantas no inoculadas. Este mismo investigador también reporta que la actividad de la enzima PAL, clave en la ruta de síntesis de fenoles, y el contenido de fenoles solubles totales y la actividad de peroxidasas fueron generalmente más bajos en presencia del nemátodo, concluyendo que *N. aberrans* interfiere con los mecanismos de defensa de las plantas CM - 334 resistentes a *P. capsici*.

Es conocido que en plantas resistentes los mecanismos de defensa se disparan con mayor rapidez y con mayor intensidad; sin embargo, existe también suficiente evidencia experimental que indica que en interacciones nematodo-planta compatibles, los mecanismos de defensa, en particular la acumulación de metabolitos tóxicos y/o la actividad de enzimas relacionadas tales respuestas son inhibidos o su expresión es retardada y/o se da con menor intensidad. Al respecto, Huang y Rhode (1973), encontraron que en jitomate susceptible (cv B-5) a *Meloidogyne incognita* hubo poca o nula acumulación de compuestos fenólicos, en cambio en las raíces de plantas resistentes (cv Nemared) se acumularon altas concentraciones de fenoles en las áreas necróticas desarrolladas alrededor de la larva del nematodos. De los compuesto fenólicos detectados, el ácido clorogénico fue el más abundante en raíces no inoculadas de los dos cultivares y la mayor concentración estuvo presente en el cultivar resistente; después de la infección por el nemátodo, en el cultivar resistente se incrementó la acumulación de ácido clorogénico y la actividad de polifenoloxidasas.

La inoculación de las plantas con *M. incognita* se asoció con una mayor acumulación de ácidos fenólicos en raíces y follaje en comparación con plantas inoculadas con *N. aberrans*.

Tanto en plantas resistentes (a *P. capsici* y *Meloidogyne* spp.) como susceptibles (a *P. capsici*) se incrementó de manera significativa el contenido de fenoles cuando fueron inoculadas con *M. incognita* en comparación con los contenidos de aquellas inoculadas con *N. aberrans*.

## CONCLUSIONES

Las plantas CM - 334 resistentes a *P. capsici* presentaron un contenido de ácidos fenólicos significativamente mayor en comparación con las susceptibles.

El contenido de fenoles fue significativamente más alto en plantas inoculadas con los nematodos en comparación con las no inoculadas.

La infección por *M. incognita* tanto en plantas resistentes como en susceptibles se asoció con una mayor acumulación de ácidos fenólicos en comparación con aquellas inoculadas con *N. aberrans*.

## VII. LITERATURA CITADA

Atkinson, H.J. 1994. Plant-nematode interactions: Molecular and genetic basis pp. 355 - 369. In: K. Kohmoto; U.S. Singh; R.P. Singh (eds). Pathogenesis and host parasite specificity in plant diseases: histological, biochemical, genetic and molecular bases. Pergamon Press. Oxford U.K. 436 p.

Ayers, A. R, Goodell, J.J., and Angelis, P.L. D. 1985. Plant detection of pathogens. pp. 1 - 20. In: G. A. Cooper - Driver, T. Swain and E.E. Conn (eds). Chemically Mediated Interactions Between Plants and Other Organisms. Vol. 19. Plenum Press, New York, U.S.A. 289 p.

Bowman, P, and Bloom., J.R. 1996. Breaking the resistance of tomato varieties to fusarium wilt by *Meloidogyne incognita*. Phytopathology 56:871

CABI/EPPO. 1998. *Nacobbus aberrans*. Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe No. 165. Wallingford, UK CAB International.

CABI/EPPO. 1999. Distribuyion Maps of Planta Diseaseaes. Map No. 779. Wallingford, UK CAB Internacional.

Candela.M.D., Alcanzar A., Espin. C., Almela, L, 1995. Soluble phenolic acid in *Capsicum annum* stems infected with *Phytophthora capsici*. Department of Plant Biology. Department of Agricultural Chemistry. University of Murcia Campus Espinardo E - 30100 Murcia. Spain. 44: 116 - 123.

Claridades Agropecuarias. 1998. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (ed).Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (Consultado en febrero 2007). Número 56. <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revista/056/ca056.pdf>.



Cramer, C., K. Edwards, M. Dron, X. Liang, S. Dildine, G. Bolwell, R. Dixon, C. Lamb and Schuch W. 1989. Phenylalanine ammonia-lyase gene organization and structure. *Plant Molecular Biology* 12: 367 - 383.

Cramer, C., D. Weissenborn, C. Cottingham, C. Denbow, J. Elsenback, D. Radin and Xu X. 1993. Regulation of defense-related gene expression during plant - pathogen interactions. *Journal of Nematology* 25: 507 - 518.

Consejo Nacional de Productores de Chiles, S.C. 2007. Situación de los Chiles en México. [http:// www. Conaproch. Org/ch\\_situación\\_nacional.htm](http://www.Conaproch.Org/ch_situación_nacional.htm) (Consultado 15 de enero 2007).

Coelho, L., Chellemi, D.O., and Mitchell D.J. 1999. Efficacy of solarization and cabbage amendment for the control of *Phytophthora* ssp. in North Florida. *Plant Disease* 83: 293 - 299.

Chávez - Alfaro, J.J., Zavaleta - Mejia, E. y Teliz - Ortiz, D. 1995. Control integrado de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum*), Ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo., en la Región de Valsequillo, Puebla, México. *Revista Latinoamericana de Fitopatología* 30: 47 - 55.

Daly, J.M. 1975. Some aspects of host - pathogen interactions. p.p. 27 - 50. In: R. Heitefuss and P.h, Williams. *Encyclopedia of plant physiology*. Vol. 8. *Physiology Plant pathology*. Springer - Verlag Berlin Heidelberg. Germany.156 p.

Davis, D, A., Low, P.S., and Heinstejn P. 1988. Purification of a glycoprotein elicitor of phytoalexin formation from *Verticillium albo-atrum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 52: 259 - 273.

Dixon, R.A., Achnine, L., Kota, P. Liu, C.J., Reddy, M.S.S., and Wang, L. 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defence: a genomics perspective. *Molecular Plant Pathology* 3: 371 - 390.

Edens, R.M., Anand S. C., Bolla R. I. 1995. Enzymes of the Phenylpropanoid Pathway in Soybean Infected with *Meloidogyne Incognita* or *Heterodera Glycines*. *Journal of Nematology*. 27 (3): 292-303.

Egea, C., Dickinson, J., Candela, M., and Candela, E. 1999.  $\beta$  - 1, 3 - glucanase isoenzymes and genes in resistant and susceptible pepper (*Capsicum annuum*) cultivars infected with *Phytophthora capsici*. *Physiologia Plantarum* 98:737 - 742.

FAOSTAT (En línea) Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y Alimentación (Consultado en Abril de 2007). Disponible en Internet: [http:// faostat.fao.org/](http://faostat.fao.org/)

Fernández - Pavia, S. and Liddell, C. 1997. Resistance of *Capsicum annum* CM - 334 to *Phytophthora* root and phenol biosynthesis. *Phytopathology* 87: 529.

Fernández - Pavia, S. 1997. Host-Pathogen interactions in the root rot resistant *Phytophthora capsici* / *Capsicum annum* resistant CM - 334 pathosystem. Ph.D. Dissertation. New Mexico State University.

Fuschs, W. H. 1975. History of physiological plant pathology. pp. 1 - 26. In: R. Heitefeuss and P.H. Williams. Springer - Verlag Berlin Heidelberg (eds). Enciclopedia of plant physiology. Vol 8. Physiology plant pathology. Springer - Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 145 p.

Gogoi, R., Singh, D.V., and Srivastava, K.D. 2000. Phenols as a biochemical basis of resistance in wheat against Karnal bunt. *Plant Pathology* 50:470-476.

Godinez - Vidal, D., Rocha - Sosa, M. Sepúlveda-García E. B. Lara - Reyna, J., Rojas - Martínez R. and Zavaleta – Mejía, E. 2008. Phenylalanine ammonia lyase activity in chilli cm - 334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. European Journal of Plant Pathology. 120: 299 - 303.

Goddijn, M., k. Lindsey, F., Van der Lee, Klap J. and Sijmons, P. 1993. Differential gene expression in nematode - induced feeding structures of transgenic plants harboring promoter - gus A fusion constructs. Plant Journal 4:863 - 873.

Goodwin, S. B., Sujkowski S, L., and Estockier, W. 1996. Widespread distribution of probable origin of resistance to metalaxyl in clonal genotype of *Phytophthora infestans* in the United States and Western Canada. Phytopathology 86: 793 - 800.

Guedes M. E., Guerra - Guimaraes, A.M., Silva, S. and Calvalerio, J.A.S. 1994. Total phenols and phytoalexins accumulation in coffee leaves infected with *Hemileia vastatrix* Berk et Br. And *Pseudomonas syringae*. Acta Horticulture. 381:561 - 564.

Gradziel, T. M., Thorpe, A.M.A., Bostock, R. M., and Wilcox, S. 1988. Breeding for brown rot *Monilinia Fructicola* resistance in clingstone peach with emphasis on the role of fruit phenolics. Acta Horticulture 465: 161 -169.

Granada, CH.G.S. 1972. Muerte de plántulas y de Injertos Cítricos por *Phytophthora parasítica*. Revista Latinoamericana de Fitopatología 5:21 -24.

Gross, G.G. 1981. Phenolic acids. pp. 301 - 316. In: The biochemistry of plants comprehensive treatise. P.K. Stumpf and E.E. Conn (eds). Volumen 7.USA 350 p.

Guerrero, M.A., Rendón., E. P., Laborde, J.A., Garzón, T.J.A. 1984. Tópicos específicos y factores limitantes de la producción. pp: 61 - 77 In. Presente y pasado del chile en México. Laborde C., J. A. y O. Pozo C. (eds). Secretaría de Agricultura y

Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de investigaciones Agrícolas, publicación especial 85. 238 p.

Hachiro. O. 1994. Plant pathogenesis and disease control. Ed. CRC Press. Estados Unidos de Norte America. USA, 139 p.

Harbone, J.B. 1997, Plant phenolics. pp.355 - 385 In: Heitefuse G. A. R and Williams P.H. Enciclopedia of plant physiology. Vol. 8. Secondary plant products In: E. A. Bell and B.V. Charlwood Springer - Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 457 p.

Hernández, A. A. M., Zavaleta - Mejía. E. y Carrillo, C. G. 1992. Efecto de *Nacobbus aberrans* (Thorne y Allen) en la infección de *Phytophthora capsici* Leo. en Chile. Revista Mexicana de Fitopatología 10: 166 - 174.

Huang, C.L., and Rhode, R.A. 1973. Phenol accumulation related to resistance in tomato to infection by root-knot and lesion nematodes. Journal of Nematology 5: 253 - 258

Keen, N.T. 1992. The molecular biology of disease resistance. Plant Molecular Biology 19:109 -122.

Klessing, D. and Malamy, J. 1994. The salicylic acid signal in plants. Plant Molecular Biology 26:1439 - 1458

López , M.N. 2007. Actividad enzimática y fenoles solubles en Chile (*Capsicum annum* 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. 76 p

Long, S.J., Alvarez, M. y Camarena, A. 1998. El placer del Chile. Ed. Clío, libros y videos, S.A. de C.V. México, D.F. 93 p.

Mahajan, R., Prabhsharan, S., Krishan, L.B. 1985. Nematicidal activity of some phenolic compounds against *Meloidogyne incognita*. Review Nematology 8: 161 - 164.

Métraux, J. P., and Raskin, I. 1993. Role of phenolics in plant disease resistance. pp. 191 - 209. In: I. Chet (ed). Biotechnology in plant disease control. Ed. Wiley - Liss. USA. 307 p.

Misirli, A., Gulcan, R. and Tanrisever, A. 1995. A relationship between the phenolic compounds and the resistance to *Sclerotinia (monilinia) laxa* (Aderh etruhl.) in some apricot varieties. Acta Horticulture. 384: 209 - 213.

Mozzetti, C., Amateis, N. and Matta, A. 1997. Differential responses of cell suspensions of pepper (*Capsicum annum*) lines susceptible and resistant to *Phytophthora capsici* Leon. To cell wall and filtrate elicitors of *Phytophthora spp.* Journal of Plant Pathology 78: 27 - 34.

Nieto, P.L.E. 1968. Estudio sobre el control químico de la marchitez del chile causada por *Phytophthora capsici* L. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 41 p.

Nicholson, R.L. and Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. Annual Review of Phytopathology. 30: 69 - 389.

Niebel, A. J. Almeida, C. Tiré, G. Engler, M. Montagu, Van and Gheysen G. 1993. Induction patterns of an extensin gene in tobacco upon nematode infection. Plant Cell 1697 - 1710.

Opperman, H. Taylor, G. and Conkling, M. 1994. Root - Knot nematode - directed expression of a plant root - specific gene. Science 263: 221-223.

Parra, G, and Ristaino, J. 2001. Resistance to Mefenoxam and Metalaxyl among field isolates of *Phytophthora capsici* causing Phytophthora Blight of bell pepper. Plant Disease 85:1069 – 1075.

Pegard, A. Brizzard A., Fazari O., Soucaze P., Djian-Caporalino, C. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. Phytopathology 95, 2: 158-165.

Perez, L. M y Perez, .J.J. 1988. Interacción *Phytophthora capsici* - *Nacobbus aberrans* en cuatro materiales de chile *Capsicum annuum* resistente al hongo, bajo condiciones de invernadero. Memorias XV Congreso Nacional de Fitopatología. Xalapa, Veracruz 65 p.

Huang, C.L., and Rhode, R.A. 1973. Phenol accumulation related to resistance in tomato to infection by root-knot and lesion nematodes. Journal of Nematology 5: 253 - 258

Piñol, T. y Palazon, J. 1996. Metabolismo secundario. pp. 237 - 238 In: J. Azcon - Bieto y M. Talon, eds. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Mc Graw Hill - Interamericana de España. Madrid. 581 p.

Ponce, R.J.F. 1972. Informe de investigación del departamento de Fitopatología. CIAB. INIA. México. número 7. 87p.

Pozo, O., Montes, S. y Redondo, E. 1991. Chile (*Capsicum spp*) In: Avances en el estudio de los recursos filogenéticos de México. Ortega, R., G. Palomino, F. Castillo, V. González, y M. Linera (Eds.) Sociedad Mexicana de citogenética A.C. Chapingo, Méx. Pp: 217 - 238.

PROINPA. 1991. Proyecto de investigación de la papa. Annual Report 1990 - 1991. Compendium, Cochabamba, Bolivia. Pp. 47 - 56.

Redondo, E. y Rodríguez, R. 1987. Mecanismos de infección y patología de las plantas de Chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici*. Agrociencia 77:123 - 137.

Redondo, J.E. 1990. Resistencia genética a la marchitez de *Phytophthora capsici* Leo. En Chile. pp. 76. In: Memoria Simposio. Resistencia genética a enfermedades en cultivos de importancia en México. Delgadillo S., F. (ed) INIFAP, SARH, CONACYT. 257 p.

Ristaino, J.B., Parra G. and Cambell, C.L. 1997. Supression of *Phytophthora blinht* in bell pepper by a no - till wheat cover crop. Phytopathology 87: 242 - 249.

Schlosser, E. 1994. Preformed phenols as resistance factors. Acta Horticulture. 381: 651 - 630.

Sijmons, P.C. 1993. Plant - nematode interactions. Plant Molecular Biology 23:917 - 931.

Trujillo - Viramontes, F., Zavaleta – Mejía. E. Rojas-Martínez, R.I. y Lara J. 2005. Tiempo de inoculación y nivel de inóculo, factores determinantes para el rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* inducido por *Nacobbus aberrans* en Chile. Nematrópica. 35: 37 - 44.

Tlapal - Bolaños, Hwang, B. K. 1988. Comparative efficacy and in Vitro acticity of metalaxyl- copper oxychloride mixture for control of *Phytophthora* blight of pepper plants. Korean. Journal of Plant Pathology 4:1985 - 196.

Walter, J.S, and y Bosland P.W. 1999. Inheritance of *Phytophthora* root rot and foliar blight resistance in pepper. Journal of the American Society for Horticultural Science 124: 14 - 18.

Waterman, P.G. and Mole S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. 1<sup>st</sup> ed. Osney Mead, Oxford, England. 239 p.

Vinson, A.J., Zubik X., SU, L., and Bose, P. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. Journal Agriculture Food and Chemistry. 49:5315-5321.

Valadez. L. A. 1990. Producción de Hortalizas. Ed. Limusa. México. 298 p.

Vargas, M. 1998. Cambios inducidos por *Nacobbus aberrans* Thorne y allen en la actividad de fenilalanina amonio - liasa (PAL) en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) serrano CM - 334 resistente a *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. De México. 41 p.

Yañez - Juarez, G. M. Zavaleta – Mejía, E., Flores - Revilla C., Chávez -Alfaro J, J., y Valdivia – Alcalá, R. 2001. Manejo de la marchitez (*Phytophthora capsici* Leo). agallamiento de las Raíces (*Nacobbus aberrans* Thorne and Allen), y virosis en chile (*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.



## APENDICE

Fenoles libres en plantas de Chile susceptibles Joe E. Parker (JEP) y resistentes CM - 334 inoculadas con *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita* en follaje y raíz.

Para la elaboración de una curva patrón que permitiera realizar los cálculos de concentración de fenoles libres se empleo ácido gálico, donde los resultados se expresan en (M de ácido gálico eqg-1 de muestra seca).

Curva patrón

Cuadro1. Curva estándar para fenoles empleando ácido gálico.

No. De Tubo	Solución patrón de ácido gálico ((g)	Agua destilada (mL)	Folin-Ciocalteu: agua ((L)	Carbonato sodio al 19% (mL)	Absorbancia
0	0	0.5	125	1.25	0
1	10	0.490	125	1.25	0.3244
2	20	0.480	125	1.25	0.6694
3	30	0.470	125	1.25	0.981
4	40	0.460	125	1.25	1.2811

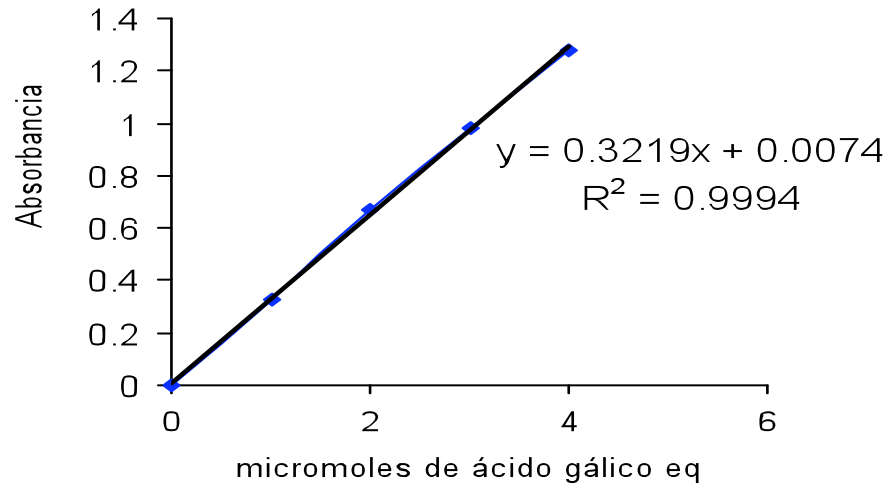


Figura 1. Curva estándar para el cálculo de la concentración de fenoles libres. Una vez que se determinó la curva para el cálculo de la concentración de fenoles. Se obtiene la siguiente ecuación:

$$y = 0.3219x + 0.0047$$

$$R^2 = 0.9994$$

Donde:

y = absorbancia

x = concentración

La concentración de fenoles se obtiene mediante la siguiente fórmula:

Donde:

$$X = \left( \frac{\left( \frac{abs - 0.0074 * FD}{0.03219} \right)}{PM} \right) * 170.12$$

X = concentración de fenoles

Abs = absorbancia

FD = Factor de dilución

PM = Peso muestra

170.12 = equivalente de ácido gálico

Obs	treat	rep	fenolr	fenolf
1	SSN	1	8.2468	25.8261
2	SSN	2	8.3862	25.5527
3	SSN	3	8.2709	25.6632
4	SSN	4	8.1457	25.1032
5	SSN	5	8.0348	25.0121
6	SSN	6	8.1543	.
7	SNA	1	12.0675	46.4137
8	SNA	2	12.1203	46.4965
9	SNA	3	12.0290	45.9871
10	SNA	4	12.0368	46.3413
11	SNA	5	14.2637	46.3472
12	SNA	6	14.0387	46.2314
13	SM	1	14.3416	55.9062
14	SM	2	14.2175	54.6521
15	SM	3	14.1175	54.8058
16	SM	4	15.4321	55.0301
17	SM	5	14.7321	54.9321
18	SM	6	15.5321	55.0158
19	RSN	1	12.4808	37.0812
20	RSN	2	12.5384	37.0146
21	RSN	3	13.3554	36.8320
22	RSN	4	13.2271	36.4501
23	RSN	5	0.0000	35.7832
24	RSN	6	0.0000	34.1235
25	RNA	1	14.4416	55.8914
26	RNA	2	14.4319	55.9064
27	RNA	3	14.5175	56.2140
28	RNA	4	14.5191	55.8124
29	RNA	5	14.2191	55.3102
30	RNA	6	14.3191	55.2979
31	RM	1	14.4464	62.2363
32	RM	2	14.9990	62.1203
33	RM	3	14.9750	61.8512
34	RM	4	14.8636	61.4387
35	RM	5	14.7736	63.4211
36	RM	6	14.9736	63.5317

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
-------	--------	--------

treat	6	RM	RNA	RSN	SM	SNA	SSN
rep	6	1	2	3	4	5	6

Number of observations 36

Dependent Variables With  
Equivalent Missing Value Patterns

Pattern	Obs	Dependent Variables
1	36	fenolr
2	35	fenolf

NOTE: Variables in each group are consistent with respect to the presence or absence of missing values.

The GLM Procedure

Dependent Variable: fenolr

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F
Model	10	309.7568010	30.9756801	
Error	25	205.4852219	8.2194089	
Corrected Total	35	515.2420229		

R-Square	0.601187	Coeff Var	23.39046	Root MSE	2.866951	fenolr Mean	12.25692
----------	----------	-----------	----------	----------	----------	-------------	----------

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F
treat	5	284.5937381	56.9187476	
rep	5	25.1630629	5.0326126	

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for fenolr

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher

Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	25
Error Mean Square	8.219409
Critical Value of Studentized Range	4.35831
Minimum Significant Difference	5.1011

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	treat
A	14.839	6	RM
A			
A	14.729	6	SM
A			
A	14.408	6	RNA
A			
B	12.759	6	SNA
B			
B	8.600	6	RSN
B			
B	8.206	6	SSN

The GLM Procedure

Dependent Variable: fenolf

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F
Model	10	5297.357875	529.735788	
Error	24	10.793453	0.449727	
Corrected Total	34	5308.151329		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	fenolf Mean
0.997967	1.412562	0.670617	47.47523

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F
treat	5	5230.352687	1046.070537	

	rep	5	1.532484	0.306497
0.68	0.6418			

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for fenolf

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher

Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	24
Error Mean Square	0.449727
Critical Value of Studentized Range	4.37265
Minimum Significant Difference	1.2169
Harmonic Mean of Cell Sizes	5.806452

NOTE: Cell sizes are not equal.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	treat
A	62.4332	6	RM
B	55.7387	6	RNA
B	55.0570	6	SM
C	46.3029	6	SNA
D	36.2141	6	RSN
E	25.4315	5	SSN

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
treat	6	RM RNA RSN SM SNA SSN
rep	6	1 2 3 4 5 6

Number of observations 36

The GLM Procedure

Dependent Variable: fenolr

Value	Source Pr > F	DF	Sum of Squares	Mean Square	F
3.77	Model 0.0034	10	309.7568010	30.9756801	
	Error	25	205.4852219	8.2194089	
	Corrected Total	35	515.2420229		

R-Square      Coeff Var      Root MSE      fenolr Mean  
0.601187      23.39046      2.866951      12.25692

Value	Source Pr > F	DF	Type I SS	Mean Square	F
6.92	treat 0.0004	5	284.5937381	56.9187476	
0.61	rep 0.6914	5	25.1630629	5.0326126	

Value	Source Pr > F	DF	Type III SS	Mean Square	F
6.92	treat 0.0004	5	284.5937381	56.9187476	
0.61	rep 0.6914	5	25.1630629	5.0326126	

Contrast	Mean Square	F Value	DF	Contrast SS
resistente vs suceptible	4.6324203	0.56	1	4.6324203
con nematodo vs sin nematodo	267.2977177	32.52	1	267.2977177
meloidogyne vs nacobbus	8.6397176	1.05	1	8.6397176
resistente+meloidogyne vs resistente+nacobbus	0.5559605	0.07	1	0.5559605
susceptible+meloidogyne vs susceptible+nacobbus	11.6364656	1.42	1	11.6364656

F	Contrast	Pr >
0.4598	resistente vs suceptible	
<.0001	con nematodo vs sin nematodo	

0.3151 meloidogyne vs nacobbus  
 0.7969 resistente+meloidogyne vs resistente+nacobbus  
 0.2453 susceptible+meloidogyne vs susceptible+nacobbus

The SAS System 10:00 Sunday,  
 October 20, 2002 9

The GLM Procedure  
 Class Level Information

Class	Levels	Values
treat	6	RM RNA RSN SM SNA SSN
rep	6	1 2 3 4 5 6

Number of observations 36

NOTE: Due to missing values, only 35 observations can be used in this analysis.

The GLM Procedure

Dependent Variable: fenolf

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F
Model	10	5297.357875	529.735788	
Error	24	10.793453	0.449727	
Corrected Total	34	5308.151329		

R-Square 0.997967  
 Coeff Var 1.412562  
 Root MSE 0.670617  
 fenolf Mean 47.47523

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F
treat	5	5295.825392	1059.165078	
rep	5	1.532484	0.306497	

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F
treat	5	5295.825392	1059.165078	
rep	5	1.532484	0.306497	



treat	5	5230.352687	1046.070537
2326.01 <.0001			
rep	5	1.532484	0.306497
0.68 0.6418			

Contrast	DF	Contrast SS
Mean Square	F Value	
resistente vs suceptible	1	735.462901
735.462901 1635.35		
con nematodo vs sin nematodo	1	4299.115608
4299.115608 9559.38		
meloidogyne vs nacobbus	1	357.992366
357.992366 796.02		
resistente+meloidogyne vs resistente+nacobbus	1	134.449833
134.449833 298.96		
susceptible+meloidogyne vs susceptible+nacobbus	1	229.905670
229.905670 511.21		

F	Contrast	Pr >
<.0001	resistente vs suceptible	
<.0001	con nematodo vs sin nematodo	
<.0001	meloidogyne vs nacobbus	
<.0001	resistente+meloidogyne vs resistente+nacobbus	
<.0001	susceptible+meloidogyne vs susceptible+nacobbus	

