



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE FITOSANIDAD**

**FITOPATOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE LA LÍNEA 35-3 DE  
CHILE TIPO HUACLE (*Capsicum annuum*) CON DOS  
POBLACIONES DE *Nacobbus aberrans***

**EDGAR ANDRÉS CHAVARRO CARRERO**

**T E S I S**

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

**MAESTRO EN CIENCIAS**

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

**2016**

La presente tesis titulada: **"EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE LA LÍNEA 35-3 DE CHILE TIPO HUACLE (*Capsicum annuum*) CON DOS POBLACIONES DE *Nacobbus aberrans*** realizada por el alumno: EDGAR ANDRÉS CHAVARRO CARRERO bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

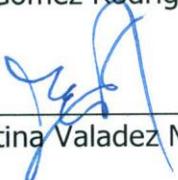
CONSEJERA

  
Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce

ASESORA

  
Dra. Olga Gómez Rodríguez

ASESORA

  
Dra. Ernestina Valadez Moctezuma

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Octubre de 2016

# **EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE LA LINEA 35-3 DE CHILE TIPO HUACLE (*Capsicum annuum*) CON DOS POBLACIONES DE *Nacobbus aberrans***

Chavarro Carrero Edgar Andrés, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2016

## **RESUMEN**

A nivel mundial, *Nacobbus aberrans* se encuentra dentro de las 10 especies de fitopatógenos de mayor importancia e impacto económico en la producción de algunos cultivos. Sus hábitos parasíticos y pérdidas potenciales en la producción lo ubican como un patógeno cuarentenario en Europa y en Estados Unidos de América. La aplicación de nematicidas destaca como la principal opción para el control de este patógeno; sin embargo, su uso irracional ha dificultado el control, incremento en los costos de producción y mayor riesgo de contaminación, por lo que la búsqueda, caracterización y validación de materiales resistentes y/o tolerantes a este nematodo constituyen una línea de investigación para contribuir en la propuesta y establecimiento de medidas de manejo y control de éste y otros nematodos fitopatógenos. Con base en estos antecedentes, los objetivos principales de esta investigación fueron caracterizar la respuesta de la línea 35-3 de chile tipo huacle a dos poblaciones de *N. aberrans* y determinar su nivel de resistencia a este nematodo. Plantas de la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3), Criollo de Morelos 334 (CM334) y California Wonder (CW) con dos a tres pares de hojas verdaderas se trasplantaron a sustrato previamente infestado con 2000 J2 de *N. aberrans* población T85 o CMon. Los ensayos se montaron en invernadero en un arreglo factorial en bloques completos al azar. Para cada variedad de chile se establecieron tres tratamientos con 10 repeticiones cada uno, en donde se evaluaron periodo de incubación, índice de agallamiento, índice de masa de huevecillos, número de huevecillos e índice de reproducción, y siete variables agronómicas, entre ellas número de frutos y rendimiento.

T85 o CMon penetraron y se establecieron en la raíces de todas las plantas, pero su desarrollo y reproducción se afectaron significativamente ( $p = <0.0001$ ) en función del genotipo del hospedante. En general, el porcentaje de agallamiento, el número de masas de huevecillos y el número de huevecillos fueron significativamente menores en la línea ChTH35-3 y mayores en el chile CW. Es posible que en ChTH35-3 se estén llevando a cabo cambios moleculares, bioquímicos y estructurales que generan un ambiente

desfavorable que inhibe o limita el ingreso, movimiento, alimentación y/o reproducción de *N. aberrans*. El índice de reproducción del nematodo en las raíces de la línea ChTH35-3 la ubicó como muy resistente a las dos poblaciones evaluadas. En todos los materiales de Chile el rendimiento se redujo significativamente cuando las plantas se confrontaron con el nematodo; sin embargo, la pérdida global fue menor en las plantas de ChTH35-3. Estos resultados nos permiten considerarla como un material con potencial para su posible incorporación a un programa de mejoramiento genético. De no ser así, ChTH35-3 podría utilizarse como portainjerto de materiales cultivados susceptibles a *N. aberrans*, pero con características fenotípicas favorables para su comercialización.

**Palabras clave:** Mejoramiento genético, *Nacobbus aberrans*, resistencia o tolerancia a fitonematodos, Solanaceae.

**EVALUATION OF THE INTERACTION OF 35-3 HUACLE CHILI PEPPER  
(*Capsicum annuum*) WITH TWO POPULATIONS OF *Nacobbus aberrans***

Chavarro Carrero Edgar Andrés, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2016

**ABSTRACT**

Globally, *Nacobbus aberrans* is within the 10 plant pathogen species of greatest importance and economic impact on some crops production. Its parasitic habits and potential production losses place it as a quarantine pathogen in Europe and the United States of America. Application of nematicides is the principal option to control this pathogen; however, its irrational use has hampered control, and increased production costs and risks of contamination. Therefore, characterization and validation of plant materials that are resistant or tolerant to this nematode constitute a research line to contribute and develop measures of management and control of this and other plant pathogenic nematodes. Based on this information, the main objectives of this study were to characterize the response of the line 35-3 of Huacle chili pepper (ChTH35-3) to two populations of *N. aberrans*, and to determine their level of resistance to this nematode. Plants of ChTH35-3, Criollo de Morelos 334 (CM334) and California Wonder (CW) with two to three pairs of leaves, were transplanted into plastic bags with soil previously infested with 2000 J2 of *N. aberrans* T85 or CMon population. Bags were arranged in a factorial randomized complete block design under greenhouse conditions. For each chili genotype, three treatments with 10 repetitions each one were established. Incubation period, gall index, egg mass index, number of eggs, and reproduction index, as well as seven agronomic variables were evaluated, including number of fruits and yield.

T85 or CMon penetrated and established in all the roots plants, but their development and reproduction were significantly affected ( $p = <0.0001$ ) by the host genotype. Overall, gall percentage, number of egg masses and the number of eggs were significantly lower in ChTH35-3 and higher in CW. It is possible that in ChTH35-3 are taken place molecular, biochemical and structural changes that create an unfavorable environment that inhibits or restricts penetration, movement, feeding and reproduction of *N. aberrans*. Nematode reproduction index in ChTH35-3 roots ranked it as highly resistant to the two *N. aberrans*

populations that were evaluated. Yield was significantly reduced in all chili plants when challenged with the nematode; however, the overall loss was lower in ChTH35-3. These results allow us to consider it as a potential source of resistance for its possible incorporation into a breeding program for genetic improvement. Otherwise, ChTH35-3 could be used as a rootstock for growing susceptible *N. aberrans* varieties that have favorable phenotypic characteristics for marketing.

**Keywords:** Genetic improvement, *Nacobbus aberrans*, resistance or tolerance to plant parasitic nematodes, Solanaceae.

## **DEDICATORIAS**

A Dios por guiarme y permitirme culminar una etapa más de mi vida.

A mis padres Omaira Carrero y Pedro Chavarro por su apoyo incondicional, por la educación que me dieron para ser quien soy hoy en día, por todos los consejos y enseñanzas que me brindaron.

A mi hermano Carlos Chavarro que es para mí un ejemplo de tenacidad y fortaleza, con quien siempre he contado y siempre contaré, aunque estemos lejos, la distancia nunca ha sido un obstáculo para ser los mejores hermanos, siempre contará con mi profunda admiración y mi más grande respeto, espero que siga volando alto, muy alto!

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por su financiamiento a través de la beca que me permitió realizar mis estudios de postgrado.

Al Colegio de Postgraduados en especial al Instituto de Fitosanidad – Fitopatología por todas las facilidades otorgadas para la obtención del grado.

A la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce por todo su apoyo, por su valiosa guía durante todos mis estudios de maestría y en especial en la realización del presente trabajo. Siempre estaré agradecido por todo lo aprendido a su lado.

A la Dra. Olga Gómez Rodríguez por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo y por todos los consejos que me dio durante mi maestría.

A la Dra. Ernestina Valadez Moctezuma por sus valiosos aportes para la realización de este trabajo.

Al Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón por su apoyo con la donación de las semillas de ChTH35-3 y sus valiosos aportes para la realización del presente trabajo.

Al Dr. Cristian Nava Díaz por su apoyo con el análisis estadístico del presente trabajo y al M. C. Jorge Manuel Valdez Carrasco por su apoyo con la toma de las fotografías del presente trabajo.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	iii
ABSTRACT .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE CUADROS .....	xiii
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1 Cultivo de chile .....	3
2.2 <i>Nacobbus aberrans</i> .....	4
Morfología.....	5
Ciclo de vida .....	5
Formación de los sitios de alimentación .....	6
Síntomas .....	6
Manejo y control .....	7
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>9</b>
3.1 Caracterización de la respuesta de la línea 35-3 de chile tipo huacle a T85 y CMon .....	9
3.1.1 Material vegetal.....	9
3.1.2 Preparación de inóculo .....	9
3.1.3 Inoculación.....	10
3.1.4 Diseño experimental.....	10
3.1.5 Variables evaluadas y análisis estadístico .....	10
3.2 Análisis histológico de las raíces de CW, CM334 y ChTH35-3 infectadas con T85 o CMon	13
3.2.1 Establecimiento del material vegetal e inoculación .....	13
3.2.2 Diseño experimental.....	13
3.2.3 Muestreo.....	14
3.2.3.1 Número de nematodos establecidos en el sistema radical .....	14
3.2.3.2 Microscopía óptica .....	14
3.3 Viabilidad de las generaciones de las poblaciones T85 y CMon .....	15
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>16</b>
Caracterización de la respuesta de la línea 35-3 de chile tipo huacle a T85 y CMon. ....	16
Análisis histológico: número de nematodos establecidos en el sistema radical.....	25

Análisis histológico: microscopía óptica.....	26
Viabilidad de las generaciones de las poblaciones T85 y CMon. ....	29
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	32
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	36
<b>VII. LITERATURA CITADA</b> .....	38

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Producción nacional de chile verde (SIAP, 2015). ..... 3
- Figura 2.** Superficie sembrada y producción anual de chile verde en México de 1990 a 2014 (SIAP). Exportación en el periodo 1990 - 2013 (FAOSTAT)..... 4
- Figura 3.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon) sobre la altura del chile California Wonder (CW) inoculado en condiciones de invernadero.. 19
- Figura 4.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon) sobre la altura del chile Criollo de Morelos (CM334) inoculado en condiciones de invernadero. .... 20
- Figura 5.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon) sobre la altura de la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculado en condiciones de invernadero. .... 20
- Figura 6.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre la altura de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. .... 21
- Figura 7.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre el peso fresco aéreo de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero.. ..... 22
- Figura 8.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre el peso fresco de raíz de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero.. ..... 22

<b>Figura 9.</b> Efecto de dos poblaciones de <i>Nacobbus aberrans</i> (CMon o T85) sobre el peso seco aéreo de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero.....	23
<b>Figura 10.</b> Efecto de dos poblaciones de <i>Nacobbus aberrans</i> (CMon o T85) sobre el peso seco de raíz de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. ....	23
<b>Figura 11.</b> Efecto de dos poblaciones de <i>Nacobbus aberrans</i> (CMon o T85) sobre el rendimiento en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero.. ....	24
<b>Figura 12.</b> Cortes transversales de raíces de California Wonder, Criollo de Morelos 334 y Chile tipo huacle 35-3 a los 14 días después de haberse infectado artificialmente con <i>Nacobbus aberrans</i> población T85 (A, D y G) o con la población CMon (B, E y H).....	27
<b>Figura 13.</b> Cortes transversales de raíces de California Wonder, Criollo de Morelos 334 y Chile tipo huacle 35-3 a los 20 días después de haberse infectado artificialmente con <i>Nacobbus aberrans</i> población CMon (A, D y G) o con la población T85 (B, E y H). ....	28

## LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Número de agallas (NA), índice de agallamiento (IA) y porcentaje de agallamiento (PA) en plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon). ..... 17
- Cuadro 2.** Número de masas de huevecillos (NMH), índice de masas de huevecillos (IMH), número de huevecillos por gramo de raíz (NH) e índice de reproducción (IR) en plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon)..... 18
- Cuadro 3.** Número de nematodos por centímetro de raíz en plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon)..... 25
- Cuadro 4.** Peso fresco de raíz (PFR), número de agallas (NA), índice de agallamiento (IA) y porcentaje de agallamiento (PA) en plantas de jitomate (variedad Río Grande) cultivadas en sustratos en donde previamente se desarrollaron plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon). ..... 30
- Cuadro 5.** Número de masas de huevecillos (NMH), índice de masas de huevecillos (IMH), número de huevecillos por gramo de raíz (NH) e índice de reproducción (IR) en plantas de jitomate (variedad Río Grande) cultivadas en sustratos en donde previamente se desarrollaron plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon)..... 31

## I. INTRODUCCIÓN

El chile es uno de los cultivos agrícolas más importantes en México. Uno de los problemas fitosanitarios que se presenta en esta hortaliza es el causado por *Nacobbus aberrans*. El síntoma característico que induce este patógeno es el agallamiento de la raíz debido a la formación de sitios de alimentación. Como consecuencia, ocurre la desorganización estructural y fisiológica del sistema vascular (Davis *et. al.*, 2000), de tal manera que se reduce la producción del cultivo. El control de este patógeno se basa principalmente en el uso de nematicidas, los cuales tienen un impacto ambiental negativo (Zavaleta, 2011), por lo que la búsqueda y caracterización de materiales resistentes o tolerantes son una opción importante en el control de este patógeno.

En un estudio preliminar realizado en el 2013-2014 (datos no publicados), Gómez-Rodríguez y colaboradores evaluaron la respuesta de seis líneas de chile tipo huacle (33-1, 33-3, 34-2, 34-3, 35-3, 35-5) infectadas artificialmente con una población de *N. aberrans* recolectada en los campos experimentales del Colegio de Postgraduados, en el Campus Montecillo. De acuerdo con sus resultados, las líneas 35-3 y 35-5 fueron resistentes no solo a este nematodo, sino también a *Meloidogyne incognita* y a al menos seis de 10 aislamientos de *Phytophthora capsici*.

La línea 35-3 mostró un nivel de resistencia alta y moderada a *M. incognita* y *N. aberrans*, respectivamente. Dicha resistencia se determinó en función del número de agallas, número de huevos e índice de reproducción, pero no se consideraron alteraciones en variables de tipo agronómico. Tampoco se determinó la viabilidad de las nuevas poblaciones originadas a partir del inóculo inicial.

Cabrera *et al* (2014), reportaron la presencia de *N. aberrans* en diferentes especies hortícolas cultivadas en varios municipios del estado de Michoacán. En el municipio de Tanhuato encontraron una población (referida como T85) coinfectando la raíz de jitomate con *M. incognita*. El sistema radical de las plantas presentó el 100% de agallamiento y en el suelo en donde estaban cultivadas se encontraron los niveles poblacionales más altos de juveniles J2 de T85. Posteriormente, inocularon independientemente plantas de jitomate de la variedad Rio Grande con ésta y otras poblaciones del nematodo recolectadas en Tanhuato. Las plantas manifestaron una respuesta similar a lo observado en campo (datos

no publicados), por lo que se hipotetizó que la población T85 era más agresiva que las demás.

El nivel de resistencia o susceptibilidad a un patógeno, y el nivel de agresividad del patógeno están en función de diferentes factores, entre ellos su genética y las condiciones climáticas que se presentan durante la interacción. De esta manera, la caracterización de plantas potencialmente resistentes a un patógeno debe evaluarse en condiciones óptimas no solo para el desarrollo de la planta y del patógeno, sino también para el desarrollo de la interacción (patosistema) misma. En este contexto, las plantas que muestren cierto nivel de resistencia o tolerancia a uno o más patógenos podrían incorporarse a programas de mejoramiento genético y liberarse posteriormente para formar parte de las estrategias de manejo y control de patógenos; lo que ayudaría a reducir los costos de producción y los riesgos de contaminación ambiental al eliminar o disminuir la aplicación de productos químicos. Además, se reduciría la posibilidad de que estos productos generen resistencia en los patógenos y/o afecten negativamente las poblaciones de organismos benéficos.

Con base en estos antecedentes, los objetivos de la presente investigación fueron:

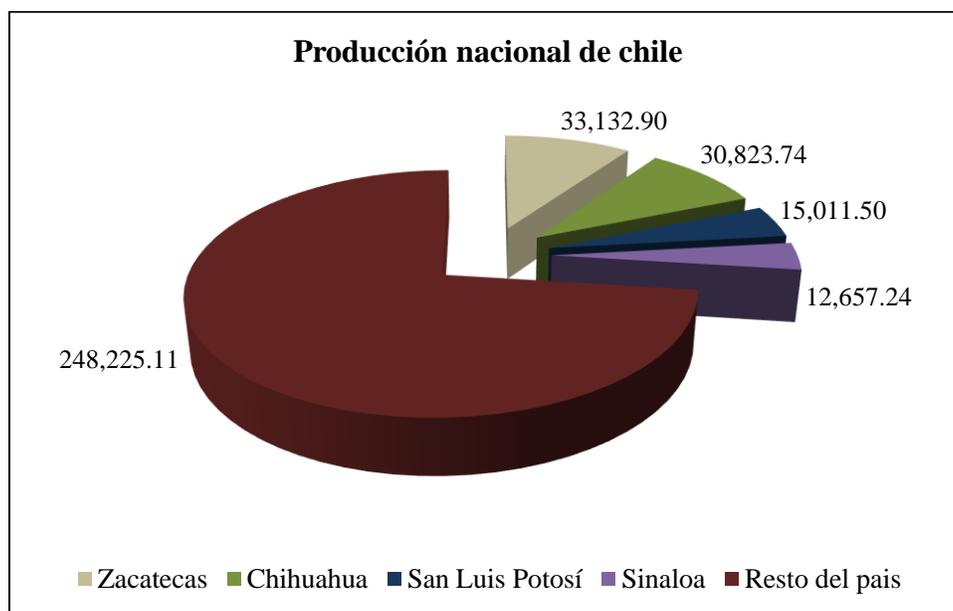
1. Caracterizar la respuesta de la línea 35-3 de chile tipo huacle a las poblaciones T85 y CMon de *N. aberrans*.
2. Determinar el nivel de resistencia de la línea 35-3 de chile tipo huacle a las poblaciones T85 y CMon de *N. aberrans*
3. Describir las alteraciones histológicas que inducen las poblaciones T85 y CMon en las raíces de la línea 35-3 de chile tipo huacle, Criollo de Morelos 334 y California Wonder.
4. Determinar si la población T85 de *N. aberrans* es más agresiva que la población CMon.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Cultivo de chile

El chile (*Capsicum annuum* L.) es uno de los cultivos agrícolas más importantes en México. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2015) en el año 2014 el chile verde ocupó una superficie de 148,968.51 ha, de la cual se derivó una producción de 2,732,635.07 ton con una derrama económica de 17,896 millones de pesos.

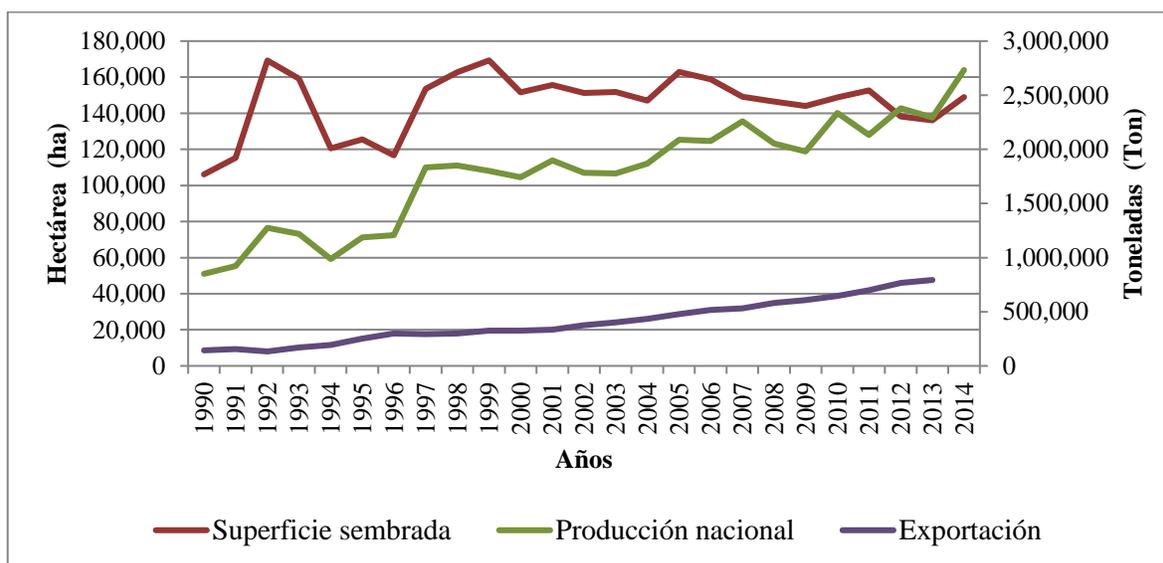
Esta hortaliza se cultiva en todo el país, siendo el estado de Zacatecas la entidad con mayor producción, seguido de Chihuahua y San Luis Potosí (SIAP, 2015) (Figura 1). Desde los años 90 ha aumentado la superficie de cultivo debido principalmente a las condiciones edafoclimáticas favorables para su desarrollo, alto consumo interno y demanda internacional (Figura 2) (Castañón-Najera *et. al.*, 2008).



**Figura 1.** Producción nacional de chile verde (SIAP, 2015).

La rentabilidad del cultivo depende de factores como nutrición, sistema de cultivo y riego, características edáficas y potencial genético de la planta. Además, la presencia plagas como bacterias, virus, hongos, oomicetos y nematodos juegan un papel importante en el establecimiento, desarrollo y producción de esta hortaliza (Chew *et al.*, 2008).

Las especies más importantes de nematodos que infectan al chile son *Nacobbus aberrans*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne arenaria* y *Meloidogyne hapla* (Khan *et al.*, 2003; Robertson *et al.*, 2005; Villar-Luna, 2013; Lax *et al.*, 2016).



**Figura 2.** Superficie sembrada y producción anual de chile verde en México de 1990 a 2014 (SIAP). Exportación en el periodo 1990 - 2013 (FAOSTAT).

## 2.2 *Nacobbus aberrans*

En el 2006 se reportaron más de 4000 especies de nematodos fitopatógenos (Decraemer y Hunt, 2006 En: Jones *et al.*, 2013) que juegan un papel importante en la seguridad alimentaria mundial. Dentro de estas especies, las formadoras de quistes y las agalladoras, como *N. aberrans* y *Meloidogyne*, se consideran como parte de los 10 nematodos de mayor importancia e impacto económico en la producción de cultivos (Jones *et al.*, 2013).

*N. aberrans*, conocido como el nematodo falso agallador, es una especie endémica de Estados Unidos de América, México, Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador y Perú.

(Manzanilla-López *et al.*, 2002). Debido a su distribución, amplio rango de hospedantes, pérdidas potenciales en la producción y a su “etapa parasítica latente” está registrada en la lista A1 de la EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) como una especie que debe regularse como plaga cuarentenaria (Eves van den Akker *et al.*, 2014; <https://epo.int/QUARANTINE/listaA1.htm>). También es un patógeno cuarentenario en Estados Unidos de América (Lehman, 2004 En: Eves van den Akker *et al.*, 2014).

### **Morfología**

*N. aberrans* presenta dimorfismo sexual. El macho es vermiforme con bursa terminal, campo lateral con cuatro incisuras irregularmente aeroleadas, y sin deiridios. El área labial es redondeada y las glándulas esofágicas están sobrepuestas al intestino. La hembra inmadura es vermiforme y la madura globosa, con un solo ovario y vulva terminal (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

### **Ciclo de vida**

El ciclo de vida inicia con los huevecillos, los cuales oviposita la hembra en una masa gelatinosa fuera del cuerpo. El primer estadio juvenil (J1) se desarrolla en el huevecillo después de una semana de la primera división celular. La primera muda ocurre también en el huevo, y puede durar de una hora a varios días, dependiendo de la temperatura.

Después de la incubación eclosiona el estadio J2, el cual penetra la raíz en donde puede permanecer o salir para volver a ingresar (Clark, 1967). En la raíz, los J2 se mueven causando cavidades adyacentes a la hipodermis. Las células radicales se hipertrofian y muestran con frecuencia citoplasma denso, vacuolas y almidón. La muda de los juveniles J2, J3 y J4 ocurre en la raíz o en suelo. Es en la etapa J4 cuando se hace evidente el dimorfismo sexual (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Las hembras inmaduras son vermiformes y migran hacia el sistema vascular; cambian sus hábitos parasíticos al convertirse en sedentarias y formar los sitios de alimentación, a partir de los cuales obtendrán los nutrientes necesarios para continuar con su ciclo de vida.

El ciclo se puede completar en un periodo de 28 a 95 días, dependiendo de la temperatura. Una vez que la hembra pone la masa gelatinosa, el macho puede fecundarla y producir de 37 hasta 833 huevecillos (Costilla, 1985; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

## **Formación de los sitios de alimentación**

El ciclo de vida de *N. aberrans* depende de la exitosa inducción y mantenimiento de los sitios de alimentación, para lo cual las secreciones de las glándula esofágica juegan un papel importante (Davis et al., 2000). El sitio de alimentación de este nematodo es un sincitio en forma de huso o corazón que se origina por la fusión de varias células, dando lugar a una masa citoplasmática multinucleada de 2 a 8 mm de tamaño. Esta masa causa alteraciones en la citología y morfología de la raíz, pero se mantiene la continuidad con las células del tejido vascular. Los núcleos del sincitio son grandes e irregulares, presentan numerosas mitocondrias y aparatos de Golgi, y las paredes se engrosan debido a la deposición de polisacáridos, a excepción de la células adyacentes al xilema y floema. La formación de cristales y gránulos de almidón se pueden observar dentro y fuera del sincitio (Manzanilla-López et al., 2002).

En varios cultivos hospedantes y malezas se han estudiado las alteraciones celulares e histológicas de la raíz inducidas por este nematodo. Las alteraciones dependen de la etapa de desarrollo del cultivo y del nematodo (Jones y Payne, 1977; Tordable et al., 2010; Tovar-Soto et al., 2012).

## **Síntomas**

En México, *N. aberrans* infecta, además del chile, al jitomate (*Solanum lycopersicum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), zucchini (*Cucurbita pepo*), papa (*Solanum tuberosum*), chícharo (*Pisum sativum*) y betabel (*Beta vulgaris*) (Manzanilla-López et al., 2002; Scurrah et al., 2005, Tovar-Soto et al., 2012).

El nematodo induce agallamiento radical. Las agallas son pequeñas y están separadas una de otra a manera de cuenta de rosario (Franco-Navarro, 2005). La formación de las agallas se asocia con disminución en el tamaño de la raíz, achaparramiento y clorosis (Manzanilla-López et al., 2002).

De acuerdo con Manzanilla-López et al. (2002), no se tienen datos oficiales sobre las pérdidas que causa este patógeno en la mayoría de sus hospedantes; sin embargo, se han reportado pérdidas del 65% en la producción de papa en América Latina, del 55 y 36% en

tomate y frijol en México, respectivamente, y del 10 al 20% en betabel en Estados Unidos de América.

### **Manejo y control**

Aunque existen alternativas para el manejo integrado de este patógeno, el uso de nematicidas destaca como la principal opción. Sin embargo, el uso irracional de estos productos, aunado con la práctica del monocultivo, ha ocasionado dificultad en su control, incremento en los costos de producción, y un mayor riesgo de contaminación ambiental y daños a la salud humana (Zavaleta, 2011).

Una de las alternativas para el control de este patógeno es el uso de materiales resistentes y/o tolerantes, por lo que búsqueda, caracterización y validación de estos materiales constituyen una línea de investigación de gran importancia para contribuir en la propuesta y establecimiento de medidas de manejo y control de nematodos y otros fitopatógenos.

México es el centro de domesticación de *Capsicum* spp. Actualmente, se cultivan las especies *C. annuum* var. *annuum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. baccatum*, var. *pendulum* y *C. frutescens* (Morán *et al.*, 2004; Milla, 2006). Además, se tienen especies silvestres con gran variabilidad genética y morfológica (Hernández *et al.*, 1999), por lo que representan un gran potencial para incluirse en programas de mejoramiento genético para resistencia a patógenos.

Uno de los materiales más ampliamente estudiado es la línea de chile serrano Criollo de Morelos 334 (CM-334), la cual se usa como fuente de resistencia contra *P. capsici* (Pegard *et al.*, 2005; Glosier *et al.*, 2007; Lamour *et al.*, 2012) y Potyvirus (Pegard *et al.*, 2005). Además, es altamente resistente a *M. incognita*, *M. arenaria* y *M. javanica* (Pegard *et al.*, 2005), pero susceptible a *N. aberrans*. Cuando el nematodo infecta previamente a CM-334, su resistencia a *P. capsici* se ve comprometida (Godínez-Vidal *et al.*, 2008).

Gómez-Rodríguez y colaboradores (datos no publicados) evaluaron seis líneas de chile tipo huacle (33-1, 33-3, 34-2, 34-3, 35-3, 35-5) infectadas bajo condiciones controladas y de

manera independiente con diez aislamientos de *P. capsici* y una población de *M. incognita* o *N. aberrans*.

Todas la líneas fueron resistentes a al menos seis de los 10 aislamientos de *P. capsici*, destacando la línea 35-3. Cuando las plantas se inocularon con *M. incognita*, esta misma línea se comportó como muy resistente y con moderada resistencia en dos ensayos realizados de manera independiente en el 2013 y 2014, respectivamente.

En el ensayo de inoculación con *N. aberrans*, solo dos de las seis líneas de chile tipo huacle fueron resistentes a este patógeno. La línea 35-5 fue muy resistente al presentar en promedio 3.4 agallas por planta, 108 huevecillos por gramo de raíz y un índice de reproducción de 7.8. La línea 35-3 presentó 5.6 agallas por planta, 367.3 huevecillos por gramo de raíz y un índice de reproducción de 28.5, ubicándola con una resistencia moderada.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Caracterización de la respuesta de la línea 35-3 de chile tipo huacle a T85 y CMon

##### 3.1.1 Material vegetal

Semillas de la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) (resistencia intermedia) (proporcionadas por el Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón, del Posgrado de Recursos Genéticos y productividad - Genética del Colegio de Postgraduados), Criollo de Morelos 334 (CM334) (susceptible) y California Wonder (CW) (altamente susceptible), se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.5% y se enjuagaron con agua destilada estéril. Posteriormente, se colocaron en recipientes de plástico oscuro sobre toallas de papel estéril humedecidas con agua destilada y se incubaron a 27°C. Dos semanas después de la germinación, las plántulas se trasplantaron a charolas de unicel con una mezcla estéril de Peat-Moss y agrolita en proporción 1:1 y se mantuvieron en condiciones de invernadero hasta que desarrollaron de dos a tres pares de hojas verdaderas para realizar los ensayos de inoculación.

##### 3.1.2 Preparación de inóculo

Como inóculo se utilizaron juveniles del segundo estadio (J2) de las poblaciones de *N. aberrans* T85 y CMon. T85 se obtuvo a partir de la población inicial que se recolectó en el municipio de Tanhuato en el estado de Michoacán (Cabrera *et. al.*, 2014). La población CMon se obtuvo de los terrenos experimentales del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

Las dos poblaciones se mantuvieron e incrementaron independientemente en plántulas de jitomate de la variedad Rio Grande (altamente susceptible a *N. aberrans*) de cuatro a seis semanas de edad. Las plántulas se cultivaron en condiciones de invernadero en contenedores de plástico (sin drenaje) con suelo estéril y se regaron diariamente.

Para evitar contaminación entre las poblaciones de nematodos, las plántulas infectadas con T85 o CMon que se mantuvieron en invernaderos diferentes durante todo el desarrollo de la investigación.

Las masas de huevos de cada población de nematodos se extrajeron independientemente según la metodología de Vrain (1977). Brevemente, las raíces de las plantas de jitomate se cortaron en pequeños trozos, se colocaron en un frasco de vidrio y se cubrieron con una

solución de hipoclorito de sodio al 0.53%. Posteriormente, los frascos se agitaron vigorosamente por 2 minutos y los fragmentos del tejido radical se separaron en tamices de 60, 100, 200, 325 y 500 mallas con agua de la llave. Los huevecillos se recolectaron de la malla 500 y se incubaron a 28°C en cajas Petri con agua destilada estéril. Después de la eclosión se ajustó la concentración del inóculo a 2000 juveniles.

### **3.1.3 Inoculación**

La inoculación se hizo de manera independiente en plántulas de ChTH35-3, CM334 y CW que habían desarrollado dos a tres pares de hojas verdaderas. El inóculo se aplicó directamente al sustrato con una jeringa hipodérmica y se regó para mantener la humedad.

Treinta días después de la inoculación (ddi), las plántulas se trasplantaron a bolsas negras de plástico de 15 L con una mezcla de Peat Moss y agrolita estéril en relación 1:1, se mantuvieron en condiciones de invernadero con riego diario y se fertilizaron semanalmente con Ultrasol 18-18-18 Mg + M.E.<sup>®</sup> a una dosis de 1 g L<sup>-1</sup>.

La inoculación se hizo en 2015 entre los meses de abril a julio.

### **3.1.4 Diseño experimental**

El ensayo se montó en un arreglo factorial en bloques completos al azar. Para cada variedad se establecieron tres tratamientos con 10 repeticiones cada uno. El tratamiento 1 consistió de plántulas inoculadas con la población T85; el tratamiento 2 de plántulas inoculadas con la población CMon; y el tratamiento 3 de plántulas no inoculadas (control). La unidad experimental fue una planta.

### **3.1.5 Variables evaluadas y análisis estadístico**

Se evaluaron periodo de incubación, índice de agallamiento, índice de masa de huevecillos, número de huevecillos e índice de reproducción, altura de planta, peso fresco aéreo (follaje y tallos), peso fresco de raíz, peso seco aéreo (follaje y tallos), peso seco de raíz, número de frutos y rendimiento,

Los datos obtenidos de cada variable se sometieron a análisis de varianza y a la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) ( $p=0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (2002).

**Periodo de incubación (PI).** Para determinar el tiempo transcurrido desde la inoculación hasta la aparición de los primeros síntomas, para cada tratamiento cada tercer día se sacaron dos plantas del sustrato para buscar en las raíces las primeras agallas visiblemente formadas. Los resultados se registraron en número de días.

**Índice de agallamiento (IA) e índice de masas de huevecillos (IMH).** Se contaron las agallas y el número de masas de huevecillos en la raíz de cada una de las plantas inoculadas con T85 o CMon. Para facilitar el conteo de las masas, éstas se tiñeron de color rojo después de sumergir las raíces en una solución de Floxina B (0.15 g L<sup>-1</sup> de agua) durante 20 minutos. El registro fotográfico de las masas de huevecillos se hizo con un microscopio Carl Zeiss Tessoar con cámara para microscopía Pax Cam3.

El IA e IMH se determinaron con base en la escala de Taylor y Sasser (1978):

<b>Escala</b>	<b>Número de agallas o masas de huevecillos</b>
<b>0</b>	Plantas sin agallas o sin masas de huevecillos
<b>1</b>	Plantas con 1 o 2 agallas o masas de huevecillos
<b>2</b>	Plantas con 3 a 10 agallas o masas de huevecillos
<b>3</b>	Plantas con 11 a 30 agallas o masas de huevecillos
<b>4</b>	Plantas con 31 a 100 agallas o masas de huevecillos
<b>5</b>	Plantas con más de 100 agallas o masas de huevecillos

El IA se transformó en porcentaje de agallamiento (PA) con la fórmula de Townsed y Heuberger (1943):

$$PA = \frac{\sum_{i=1}^{n=10} (n * V)}{\text{Categoría mayor} * N} * 100$$

En donde n es el número de raíces evaluadas en cada categoría, V el valor numérico de cada categoría y N el número total de raíces evaluadas.

**Numero de huevecillos (NH) e índice de reproducción (IR).** Para cada tratamiento y de manera independiente, se hizo la extracción de huevecillos como se describió anteriormente. Los resultados se expresaron en número de huevecillos por gramo de raíz (número de huevecillos/g raíz).

El IR se determinó como el porcentaje de huevecillos en CM334 o ChTH35-3 con respecto al número de huevecillos que se formaron en el material altamente susceptible CW.

La respuesta (grado de resistencia o susceptibilidad) de CM334 y ChTH35-3 ante la infección por las poblaciones de *N. aberrans*, T85 o CMon, se determinó con base en la escala de Taylor (1971):

<b>Índice de reproducción (IR) (%)</b>	<b>Respuesta</b>
> 50	Susceptible
25 - 50	Poco resistente
10 - 25	Moderadamente resistente
1 - 10	Muy resistente
< 1	Altamente resistente
0	Inmune

**Altura de planta (AP).** Se midió la altura de las plantas con una cinta métrica un mes después de haber iniciado la fructificación. La medida se tomó desde la base hasta el ápice del tallo principal. Los resultados se registraron en centímetros (cm).

**Peso fresco aéreo (PFA) y peso fresco de raíz (PFR).** El peso fresco aéreo se evaluó a partir de los tallos y hojas que se cortaron desde la base hasta el ápice del tallo de todas las plantas. El peso fresco de raíz se obtuvo de todo el sistema radical al que previamente se le removió el sustrato.

El material vegetal se pesó en una balanza mecánica de triple brazo Ohaus 700. Los resultados se expresaron en gramos.

**Peso seco aéreo (PSA) y peso seco de raíz (PSR).** De manera independiente, se cortaron hojas, tallos y raíces, se colocaron en bolsas de papel y se secaron en una estufa Felisa 143 a 55-60°C. Cuando los pesos fueron constantes se registró el peso seco final con una balanza mecánica de triple brazo (Ohaus 700). El peso de follaje y tallos se obtuvo simultáneamente y se expresó en gramos.

**Número de frutos (NF) y rendimiento (R).** Una vez que las plantas iniciaron la etapa de producción, los frutos se cortaron, contaron y pesaron diariamente durante un mes. Con los datos obtenidos se calculó el rendimiento por hectárea. Los resultados se registraron en toneladas por hectárea (Ton ha<sup>-1</sup>).

### **3.2 Análisis histológico de las raíces de CW, CM334 y ChTH35-3 infectadas con T85 o CMon**

#### **3.2.1 Establecimiento del material vegetal e inoculación**

Las semillas de cada uno de los materiales de chile se desinfectaron con hipoclorito de sodio, se colocaron para germinar en recipientes de plástico oscuro sobre toallas húmedas de papel estéril y se incubaron a 27°C. Dos semanas después de la germinación, las plántulas se trasplantaron a vasos de plástico de 29.6 mL de capacidad con una mezcla estéril de Peat-Moss y agrolita (1:1) y se colocaron en una cámara de crecimiento controlado a 27°C y 12 horas luz.

Cuando las plántulas desarrollaron de dos a tres pares de hojas verdaderas, se inocularon con una suspensión de 2000 J2 de la población T85 o CMon. Las plántulas se mantuvieron en la cámara de crecimiento controlado con riego diario y bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad.

#### **3.2.2 Diseño experimental**

El ensayo también se estableció en un arreglo completamente al azar. Para cada variedad de chile se establecieron los tratamientos descritos en el apartado 3.1.4. Cada tratamiento constó de tres repeticiones con una planta como unidad experimental.

### **3.2.3 Muestreo**

Para describir las alteraciones histológicas que induce el nematodo hasta que establece el sitio de alimentación, se tomaron muestras de raíz a las 2, 7, 14 y 20 ddi de cada tratamiento. Los tiempos de muestreo se hicieron considerando que *N. aberrans* se establece en el sistema radical de CM334 a los 21 ddi (García, 2011; Godínez-Vidal *et al.*, 2013).

Las raíces se lavaron con agua corriente para eliminar el sustrato y se dividieron longitudinalmente en dos partes iguales.

La primera parte de las raíces se tiñó con fucsina ácida para determinar el número de nematodos que se establecieron en el tejido vascular, y la segunda para el análisis histológico.

La tinción con fucsina ácida permitió corroborar el tiempo de establecimiento del nematodo y los tiempos de muestreo para el análisis histológico de las raíces.

#### **3.2.3.1 Número de nematodos establecidos en el sistema radical**

La primera parte de la raíz de todas las plantas se tiñó con fucsina acida al 0.2% en ácido acético. Después de 48 h, las raíces se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso de colorante, y al azar se observaron cinco fragmentos de raíz de 1.0 cm de longitud en un microscopio óptico Velab VE-B6 para contar los nematodos.

Los datos obtenidos (número de nematodos por cm de raíz) se sometieron a un análisis de varianza y prueba de DMS ( $p=0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (2002).

#### **3.2.3.2 Microscopía óptica**

De la segunda parte de la raíz de todas las plantas se tomaron fragmentos de 1 a 3 cm de longitud y se fijaron al menos 24 h en una mezcla de formaldehido, ácido acético glacial, etanol al 96% y agua (10:50:5:35). Posteriormente, las raíces se lavaron con agua corriente durante 20 minutos y se deshidrataron gradualmente en etanol durante 3 h (30, 50, 70, 85, 96 y 100%). Las muestras se colocaron en xilol puro por 3 h y se incluyeron en Paraplast regular (SIGMA<sup>®</sup>) en un horno para secado (RiosSA-EC<sup>®</sup>) a 55-60°C durante 48 h (López *et al.*, 2005).

Las muestras se cortaron transversalmente a 10  $\mu\text{m}$  de grosor con microtomo rotatorio marca Leica RM2125.

Las secciones obtenidas se tiñeron con safranina-verde rápido de acuerdo con el protocolo de López *et al.* (2005). Las laminillas se montaron en resina sintética y se observaron en un microscopio óptico marca Velab VE-B6. El registro fotográfico de las imágenes se hizo en un microscopio compuesto Rossbach MG-11T con cámara digital Canon EOS 50D.

Se observaron 80 secciones histológicas obtenidas de las raíces de cada una de las repeticiones por tratamiento y por tiempo de muestreo (2, 7, 14 y 20 ddi), analizándose un total de 8640 secciones.

### **3.3 Viabilidad de las generaciones de las poblaciones T85 y CMon**

Para determinar la viabilidad de las generaciones de T85 y CMon, el sustrato de cada uno de los tratamientos que se establecieron para caracterizar la respuesta de la línea ChTH35-3 se colocó en bolsas negras de plástico de 15 L de capacidad. Posteriormente, en cada bolsa se trasplantó una plántula de jitomate var. Rio Grande de cuatro a seis 6 semanas de edad. Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero, se regaron diariamente y se fertilizaron cada semana con Ultrasol 18-18-18 Mg + M.E.<sup>®</sup> (1 g L<sup>-1</sup>).

A los 60 días después del trasplante, se evaluaron el peso fresco de raíz (PFR), número de agallas (NA), índice de agallamiento (IA), porcentaje de agallamiento (PA), número de masas de huevecillos (NMH), índice de masas de huevecillos (IMH), número de huevecillos (NH) e índice de reproducción (IR). El IA, PA, IMH y el IR se establecieron como se describe en el apartado 3.1.5.

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza y prueba de DMS ( $p=0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (2002).

#### IV. RESULTADOS

##### **Caracterización de la respuesta de la línea 35-3 de chile tipo huacle a T85 y CMon.**

**Periodo de incubación (PI).** En general e independientemente de la población de nematodo que se haya inoculado, el tiempo de aparición de las agallas (PI) fue más corto en el chile CW. Cuando las plantas se inocularon con T85 o CMon, el PI fue de 38 y 32 días, respectivamente.

El PI en CM334 y ChTH35-3 fue el mismo cuando se inocularon con T85 (42 ddi) o con CMon (39 ddi). No obstante, las agallas aparecieron tres días antes cuando las plantas se confrontaron con la población CMon.

**Número de agallas (NA), índice de agallamiento (IA) y porcentaje de agallamiento (PA).** T85 o CMon indujeron la formación de agallas en las raíces de todas las plantas de las variedades inoculadas. En promedio, el número de agallas fue significativamente mayor en la variedad CW (37.3 y 82.5 agallas inducidas por T85 o CMon, respectivamente) y menor en ChTH35-3 (3.3 y 3.8 cuando las plantas se inocularon con T85 o CMon, respectivamente) ( $p = <0.0001$ ). Cabe destacar que el NA en CW fue mayor cuando las plantas se confrontaron con la población CMon (Cuadro 1).

El IA en CW, CM334 y ChTH35-3 fue de 4, 3 y 2, respectivamente, independientemente de la población de *N. aberrans* que se haya inoculado. En consecuencia, el PA en CW fue estadísticamente mayor cuando las plantas se inocularon con CMon (86%) (Cuadro 1). En CM334 y ChTH35-3, el PA fue el mismo cuando las plantas se inocularon con T85 o CMon, pero fue significativamente menor en la línea ChTH35-3 ( $p = <0.0001$ ) (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Número de agallas (NA), índice de agallamiento (IA) y porcentaje de agallamiento (PA) en plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de Chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon).

Población de <i>Nacobbus aberrans</i>	Chile								
	CW			CM334			ChTH35-3		
	NA	IA <sup>y</sup>	PA <sup>z</sup>	NA	IA	PA	NA	IA	PA
T85	37.3 b <sup>x</sup>	4	74 b	15.1 c	3	52 c	3.3 d	2	28 d
CMon	82.5 a	4	86 a	19.8 c	3	58 c	3.8 d	2	34 d
Control	0 e	0	0 e	0 e	0	0 e	0 e	0	0 e

<sup>x</sup> Para las variables NA y PA, los valores con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p < 0.0001$ ).

<sup>y</sup> Determinado con base en la escala de Taylor y Sasser (1978): 0= plantas sin agallas; 1= plantas con 1 o 2 agallas; 2= plantas con 3 a 10 agallas; 3= plantas con 11 a 30 agallas; 4= plantas con 31 a 100 agallas; 5= plantas con más de 100 agallas.

<sup>z</sup> Calculado con la fórmula de Townsed y Heuberger (1943) a partir del IA.

**Número de masas de huevecillos (NMH), índice de masas de huevecillos (IMH), número de huevecillos por gramo de raíz (NH) e índice de reproducción (IR).** En las raíces de cada material de Chile, el NMH fue el mismo independientemente del nematodo que se haya inoculado, pero fue significativamente mayor en CW ( $p = < 0.0001$ ). El IMH fue de 4 en CW y CM334, y de 3 en la línea ChTH35-3 (Cuadro 2).

Al igual que el NMH, el NH para cada tipo de Chile fue el mismo cuando se inoculó con T85 o CMon ( $p = < 0.0001$ ), aunque en el Chile CW se produjeron la mayor cantidad de huevecillos (Cuadro 2).

En el Chile CM334, las poblaciones T85 y CMon se reprodujeron la cuarta parte de lo que lo hicieron en CW (Cuadro 2); mientras que en ChTH35-3 se reprodujeron menos del 10% (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Número de masas de huevecillos (NMH), índice de masas de huevecillos (IMH), número de huevecillos por gramo de raíz (NH) e índice de reproducción (IR) en plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon).

Población de <i>Nacobbus aberrans</i>	Chile											
	CW				CM334				ChTH35-3			
	NMH	IMH <sup>y</sup>	NH	IR <sup>z</sup>	NMH	IMH	NH	IR	NMH	IMH	NH	IR
T85	86 a <sup>x</sup>	4	667.5 a	100	51 b	4	163.1 b	24.4	14 c	3	59 c	8.8
CMon	90 a	4	717.4 a	100	49 b	4	179.5 b	25.02	16 c	3	66.7 c	9.2
Control	0 d	0	0 d	0	0 d	0	0 d	0	0 d	0	0 d	0

<sup>x</sup> Para las variables NMH y NH, los valores con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p < 0.0001$ ).

<sup>y</sup> Determinado con base en la escala de Taylor y Sasser (1978): 0= plantas sin masas de huevecillos; 1= plantas con 1 o 2 masas de huevecillos; 2= plantas con 3 a 10 masas de huevecillos; 3= plantas con 11 a 30 masas de huevecillos; 4= plantas con 31 a 100 masas de huevecillos; 5= plantas con más de 100 masas de huevecillos.

<sup>z</sup> Población final en CM334 y ChTH35-3, expresado como el porcentaje de la población final en el chile susceptible CW.

Con base en el IR y la escala de Taylor (1971), el chile CM334 fue moderadamente resistente a la población T85 y poco resistente a la población CMon, mientras que la línea ChTH35-3 fue muy resistente a las dos poblaciones de *N. aberrans*.

**Altura de planta (AP).** En las condiciones evaluadas, las variedades susceptibles (CW y CM334) sin inocular presentaron una AP mayor (superior a los 90 cm) que la línea ChTH35-3, la cual no se afectó cuando se inoculó con T85 o CMon (Figuras 3-6). Sin embargo, en CW y CM334 esta variable se redujo significativamente ( $p < 0.0001$ ) cuando las plantas se inocularon con los nematodos, principalmente con CMon (Figura 6).



**Figura 3.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon) sobre la altura del chile California Wonder (CW) inoculado en condiciones de invernadero.

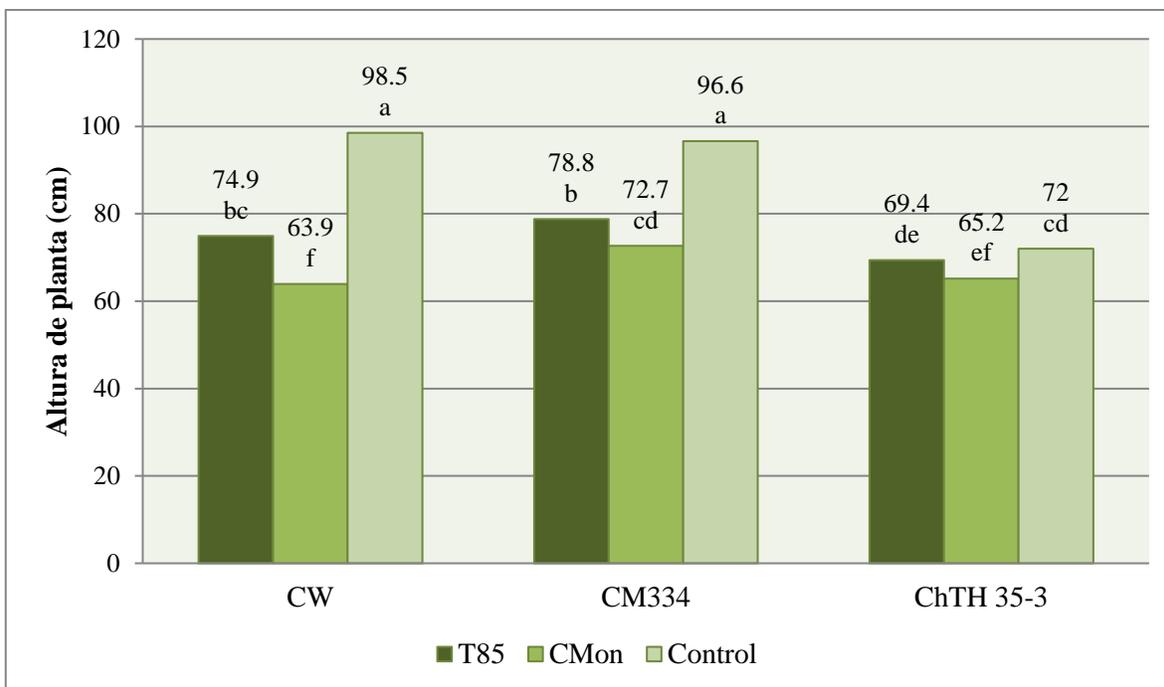
**Peso fresco aéreo (PFA) y peso fresco de raíz (PFR).** Al igual que en la AP, el PFA y el PFR en las plantas sin inocular fue menor en ChTH35-3 y mayor en CM334. Cuando las plantas se inocularon con CMon, el PFA fue significativamente menor en comparación con las plantas que no se inocularon, perdiéndose el 61.8, 59.7 y 28.8% en CW, CM334 y ChTH35-3, respectivamente (Figura 7). En cuanto al PFR, la mayor pérdida se presentó en el sistema radical de CW, independientemente de haberse inoculado con T85 o CMon; mientras que en CM334, la población CMon redujo el PFR en un 27.8%. No hubo diferencias significativas en el PFR de ChTH35-3 ( $p = <0.0001$ ), aunque la mayor pérdida (17.3%) se presentó en las plantas inoculadas con T85 (Figura 8).



**Figura 4.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon) sobre la altura del chile Criollo de Morelos (CM334) inoculado en condiciones de invernadero.



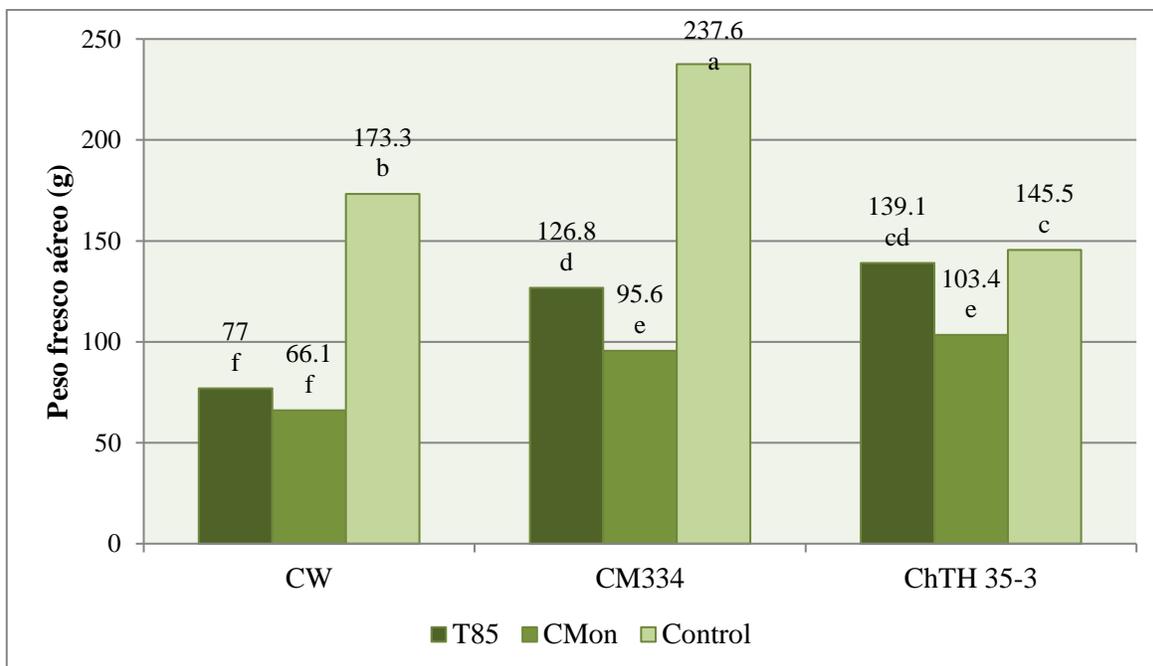
**Figura 5.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (T85 o CMon) sobre la altura de la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculado en condiciones de invernadero.



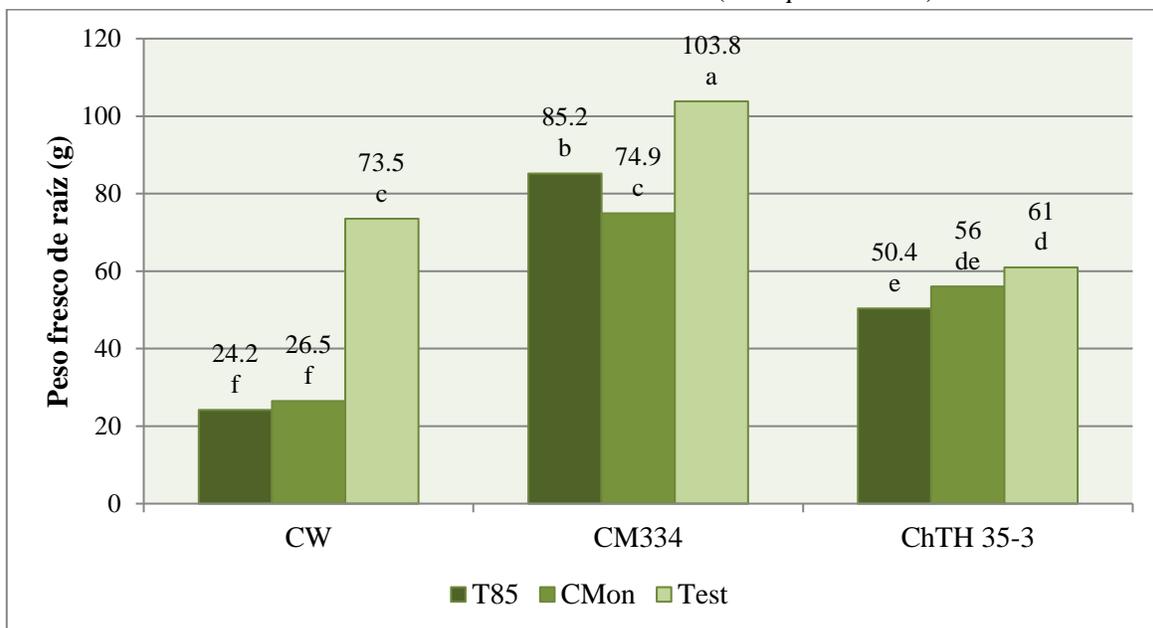
**Figura 6.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre la altura de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. Cada barra representa el promedio de la altura de 10 plantas. Para todos los materiales de chile, las barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p = < 0.0001$ ).

**Peso seco aéreo (PSA) y peso seco de raíz (PSR).** La pérdida en PSA y PSR en las plantas de CW y CM334 fueron iguales independientemente de que se hayan inoculado con T85 o CMon. Sin embargo, la mayor reducción ( $p = < 0.0001$ ) se presentó en CW cuando se inoculó con la población CMon (Figuras 9 y 10).

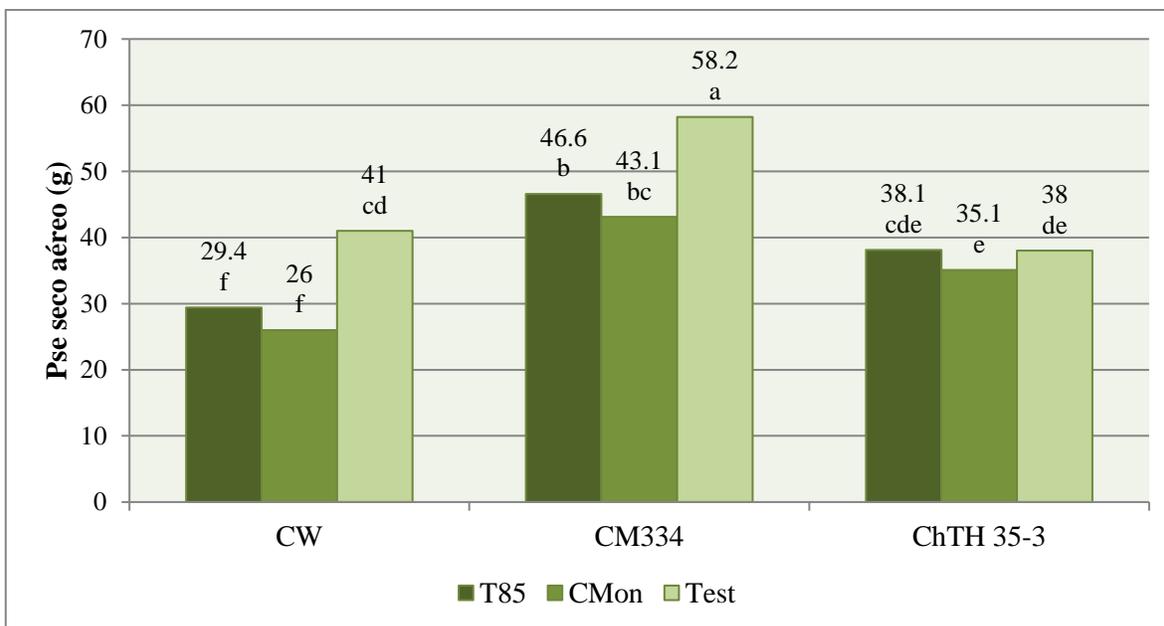
El peso seco de los órganos aéreos y las raíces de ChTH35-3 se mantuvieron sin variación en plantas inoculadas y sin inocular ( $p = < 0.0001$ ) (Figuras 9 y 10).



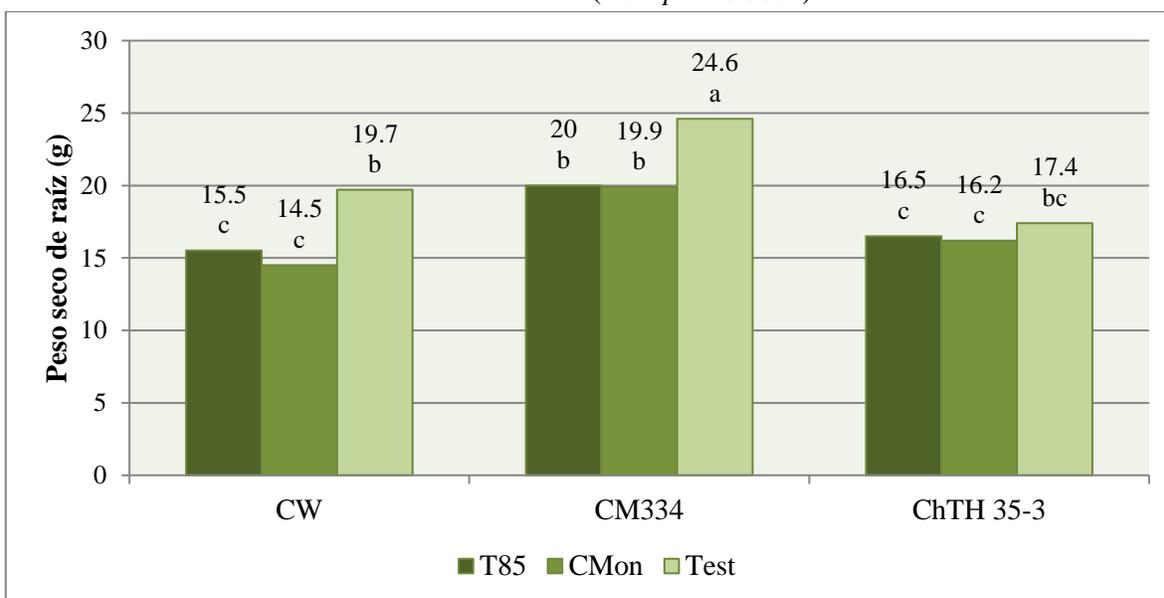
**Figura 7.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre el peso fresco aéreo de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. Cada barra representa el promedio del peso fresco aéreo de 10 plantas. Para todos los materiales de chile, las barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p = <0.0001$ ).



**Figura 8.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre el peso fresco de raíz de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. Cada barra representa el promedio del peso fresco de la raíz de 10 plantas. Para todos los materiales de chile, las barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p = <0.0001$ ).



**Figura 9.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre el peso seco aéreo de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. Cada barra representa el promedio del peso fresco de la raíz de 10 plantas. Para todos los materiales de chile, las barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p = <0.0001$ ).

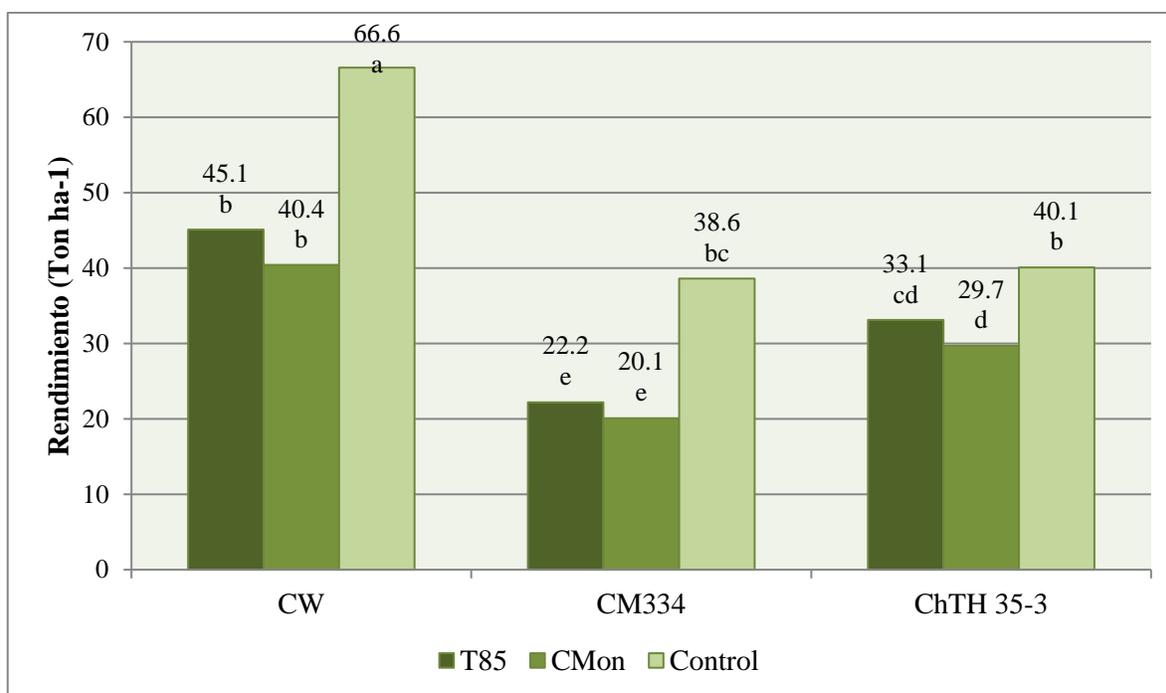


**Figura 10.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre el peso seco de raíz de planta en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. Cada barra representa el promedio del peso seco de la raíz de 10 plantas. Para todos los materiales de chile, las barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p = <0.0001$ ).

**Número de frutos (NF) y rendimiento (R).** En promedio, el número de frutos producidos en las plantas sin inocular fue mayor en CM334 (31 frutos) y menor en CW (11 frutos). Las plantas de ChTH35-3 produjeron 25 frutos.

Aun cuando en el chile CW el PFA y PFR disminuyeron a más de la mitad, el R se redujo menos del 50% cuando se inoculó con CMon (32.28%) o T85 (39.3%). En CM334, el rendimiento fue igual en las plantas inoculadas, pero se perdió prácticamente la mitad (45.15%) de lo que produjeron las plantas sin inocular ( $p < 0.0001$ ).

La disminución de PFA en plantas ChTH35-3 inoculadas con CMon, se asoció con una pérdida de poco más del 25% en el rendimiento ( $p < 0.0001$ ) (Figura 11).



**Figura 11.** Efecto de dos poblaciones de *Nacobbus aberrans* (CMon o T85) sobre el rendimiento en los chiles California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculados en condiciones de invernadero. Cada barra representa el promedio del rendimiento de 10 plantas. Para todos los materiales de chile, las barras con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p < 0.0001$ ).

**Análisis histológico: número de nematodos establecidos en el sistema radical.**

En ninguna de la raíces de los chiles que se evaluaron se observó el establecimiento de T85 o CMon a los 2 ddi. Cinco días más tarde (7ddi), el número de nematodos por centímetro de raíz fue el mismo ( $p= <0.0001$ ) en CW, CM334 y ChTH35-3 (Cuadro 3).

El mayor número de nematodos se presentó en CW a partir de los 14 ddi, independientemente del nematodo que se haya inoculado, pero fue significativamente mayor cuando se confrontó con la población CMon ( $p= <0.0001$ ). El mayor número de nematodos CMon también se presentó en CM334 y ChTH35-3 conforme avanzaba el tiempo de infección y fue mucho menor en las raíces de la línea ChTH35-3 ( $p= <0.0001$ ) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Número de nematodos por centímetro de raíz en plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon).

Población de nematodo	Chile											
	CW				CM334				ChTH35-3			
	2 <sup>w</sup>	7	14	20	2	7	14	20	2	7	14	20
T85	0 <sup>x</sup> a <sup>y</sup>	0.53a	6.3b	9.2b	0a	0.53a	1.5c	2.5d	0a	0.46a	0.6d	1.2e
CMon	0a	0.46a	13.6a	15a	0a	0.46a	6.1b	6.6c	0a	0.20 ab	1.2c	1.6e
Control	0a	0b	0e	0f	0a	0b	0e	0f	0a	0b	0e	0f

<sup>w</sup> Número de días después de haber inoculado las plantas (ddi).

<sup>x</sup> Representa el promedio de los nematodos que se contaron en un centímetro de cinco fragmentos de raíz de tres plantas.

<sup>y</sup> Para el correspondiente ddi, y nematodo inoculado, los valores seguidos por una letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p= <0.0001$ ).

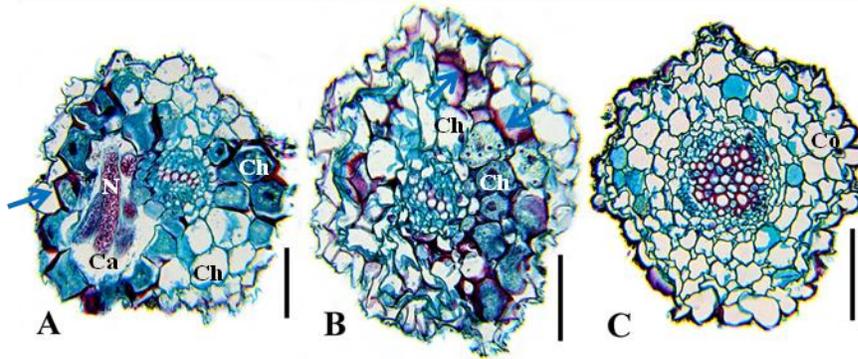
### **Análisis histológico: microscopía óptica.**

Las raíces de las plantas que no se inocularon mostraron la estructura típica de una raíz primaria. Las células del parénquima de la corteza fueron grandes, de pared delgada y forma irregular; algunas presentaron material de apariencia cristalina, principalmente en las raíces de CW y ChTH35-3 (Figuras 12 y 13). No se observó claramente la estructura de la endodermis ni del periciclo en ninguno de los materiales evaluados, tampoco se definió el tipo de raíz; sin embargo, debido a que las secciones histológicas se hicieron en diferentes niveles, se observó que las raíces de CW son monarcas y triarcas; CM334 presentó raíces triarcas y tetarcas, y ChTH35-3 monarcas y triarcas (Figuras 12 y 13).

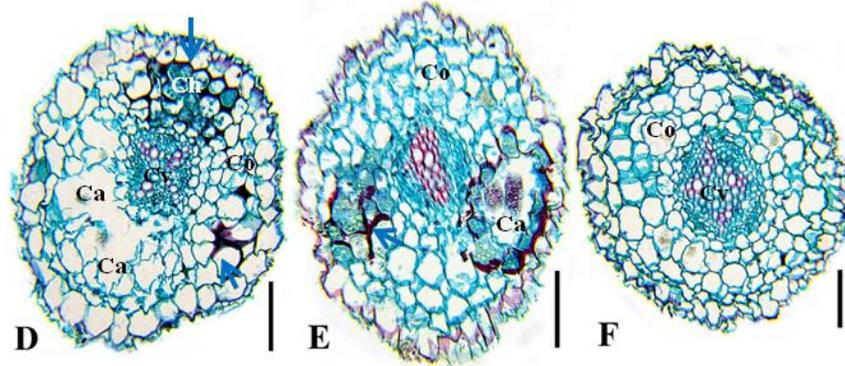
Como se señaló anteriormente, el mayor número de nematodos que se establecieron en las raíces se observó a partir de los 14 ddi (Cuadro 3). En este periodo, las principales alteraciones en el tejido radical fueron la hipertrofia de las células corticales y de la endodermis. Es posible que las células del periciclo también hayan incrementado su tamaño para dar lugar a los sitios de alimentación (Figura 13). En el parénquima cortical se presentaron cavidades rodeadas por células hipertrofiadas con paredes generalmente lignificadas (Figuras 12 y 13).

Las células hipertrofiadas presentaron citoplasma denso y sustancias ergásticas que posiblemente correspondan a gránulos de almidón (Figuras 12 y 13).

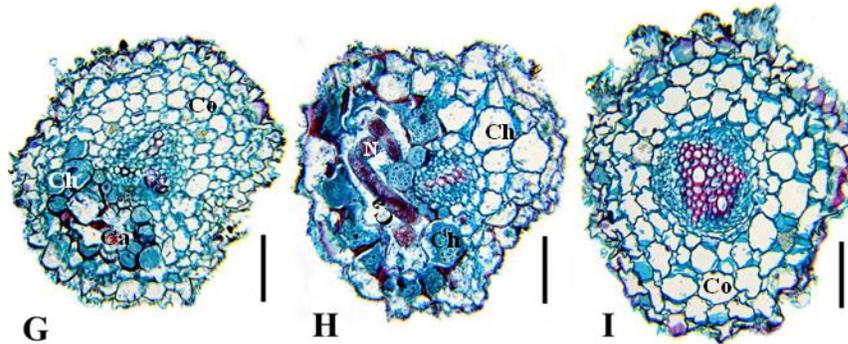
California Wonder



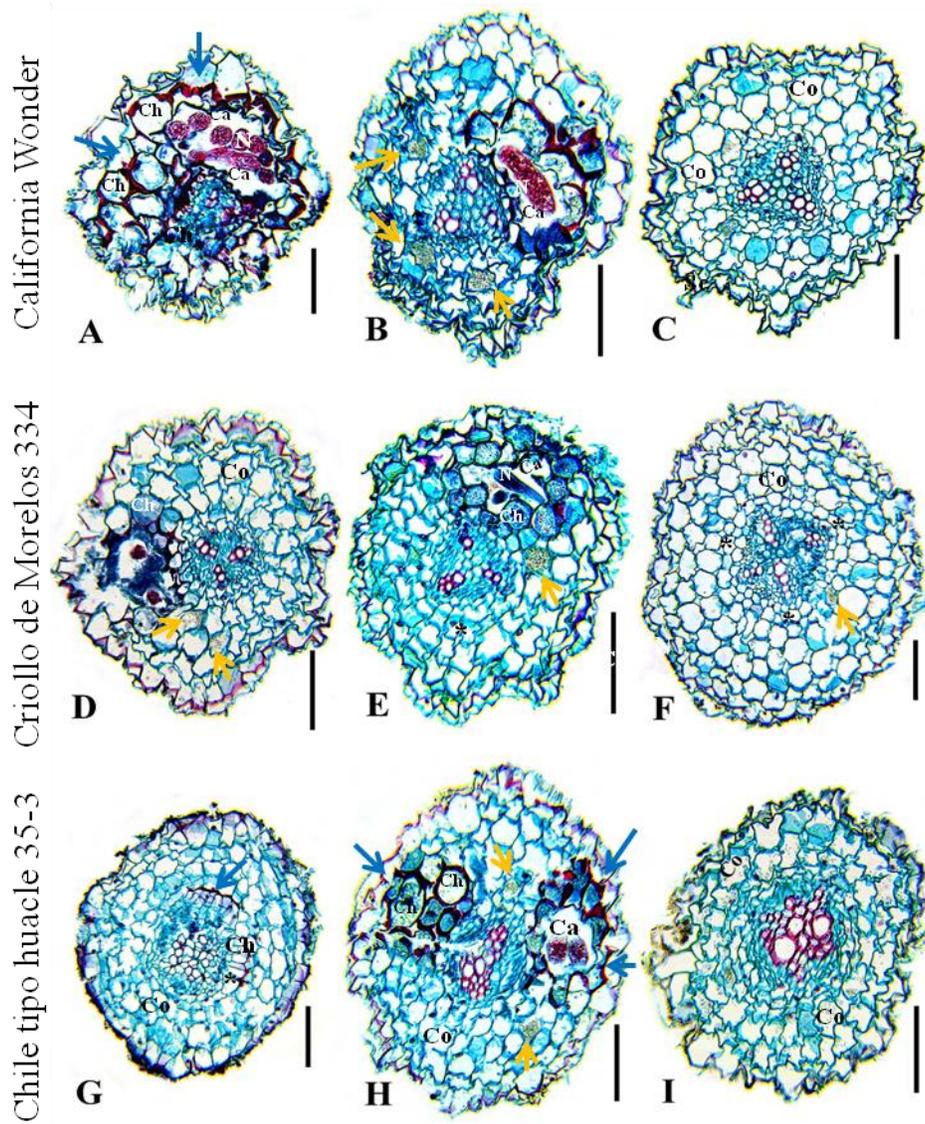
Criollo de Morelos 334



Chile tipo huacle 35-3



**Figura 12.** Cortes transversales de raíces de California Wonder, Criollo de Morelos 334 y Chile tipo huacle 35-3 a los 14 días después de haberse infectado artificialmente con *Nacobbus aberrans* población T85 (A, D y G) o con la población CMon ((B, E y H). En todas las interacciones, las células del parénquima cortical (C) se hipertrofiaron (Ch), engrosaron la pared celular con la acumulación de compuestos de posible origen fenólico (flechas), y presentaron sustancias ergásticas que podrían corresponder a gránulos de almidón. En las cavidades (Ca) se observaron signos del patógeno. Los paneles C, F e I corresponden a secciones de raíces de plantas sin inocular. Escala: 100  $\mu$ m.



**Figura 13.** Cortes transversales de raíces de California Wonder, Criollo de Morelos 334 y Chile tipo huacle 35-3 a los 20 días después de haberse infectado artificialmente con *Nacobbus aberrans* población CMon (A, D y G) o con la población T85 ((B, E y H). Los paneles C, F e I corresponden a secciones de raíces de plantas sin inocular. No se observaron diferencias estructurales entre las alteraciones que se presentaron a los 14 y 20 ddi. Las células de la corteza (C) se hipertrofiaron (Ch) y engrosaron la pared, lo cual estuvo asociado con la acumulación de fenoles (flechas azules). Las células de la corteza que no aumentaron de tamaño presentaron cristales (flechas amarillas), los cuales fueron más evidentes en las raíces infectadas. Es posible que la endodermis (\*) y el periciclo también se hipertrofien para dar lugar a la formación de los sincitios. En las secciones que se muestran en los paneles C, F e I se observa la estructura de la raíz triarca, tetarca y monarca. Ca= cavidad. Escala: 100  $\mu$ m.

Las paredes celulares se engrosaron ligeramente y acumularon compuestos de posible origen fenólico, mismos que se evidenciaron por su color rojo intenso.

En las raíces de CW, CM334 y ChTH35-3 se observaron signos del patógeno y disolución de paredes en las células hipertrofiadas, pero no diferencias estructurales. No se detectaron sitios de alimentación completamente establecidos (Figuras 12 y 13).

### **Viabilidad de las generaciones de las poblaciones T85 y CMon.**

Los ensayos sobre la viabilidad de las nuevas generaciones de nematodos que se desarrollaron en las raíces de las plantas de chile que se evaluaron, indicaron que el PFR fue igual en todas las plantas de jitomate independientemente de que hayan o no crecido en suelo infestado con T85 o CMon (Cuadro 4).

El número de agallas que se formaron en estas raíces fue significativamente mayor ( $p < 0.0001$ ) en las plantas que crecieron en el sustrato en donde se cultivaron cualquiera de los chiles infectados con T85, presentándose el valor más alto cuando las plantas de jitomate crecieron en el sustrato en donde se desarrolló CW (23.9 agallas). El número de agallas más bajo se presentó en las plantas de jitomate que crecieron en el sustrato en donde se tuvo la línea ChTH35-3 (2.8 agallas) (Cuadro 4). En consecuencia, el IA en las raíces de jitomate fue más alto (3) en las plantas que crecieron en el sustrato en donde se desarrolló CW infectado con T85. El IA en las plantas que se desarrollaron en el sustrato en donde crecieron CM334 o ChTH35-3 infectadas con esta misma población de nematodo fue igual (Cuadro 4).

Los PA en las raíces de jitomate de las plantas crecidas en los sustratos en donde se cultivaron CW, CM334 o ChTH35-3, infectadas con T85, fueron del 62, 40 y 22% respectivamente. Las raíces de las plantas de jitomate que crecieron en el sustrato en donde se desarrollaron CW, CM334 o ChTH35-3, infectadas con la población CMon, mostraron un PA del 42, 20 y 14%, respectivamente (Cuadro 4).

En ninguna de las raíces de las plantas de jitomate que crecieron en el sustrato en donde se desarrollaron plantas de CW, CM334 o ChTH35-3 sin inocular (control) hubo formación de agallas (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Peso fresco de raíz (PFR), número de agallas (NA), índice de agallamiento (IA) y porcentaje de agallamiento (PA) en plantas de jitomate (variedad Río Grande) cultivadas en sustratos en donde previamente se desarrollaron plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon).

<b>Chile</b>												
<b>Sustrato</b>	CW				CM334				ChTH35-3			
	PFR	NA	IA <sup>y</sup>	PA <sup>z</sup>	PFR	NA	IA	PA	PFR	NA	IA	PA
T85	10.3 c <sup>x</sup>	23.9 a	3	62 a	9.9 c	8.2 b	2	40 b	11.7 bc	2.8 c	2	22 c
CMon	14.8 ab	8.2 b	2	42 b	14.9 ab	1.3 cd	1	20 cd	12.3 abc	0.8 d	1	14 d
Control	13.2 abc	0 e	0	0 e	12.8 abc	0 e	0	0 e	15.3 a	0 e	0	0 e

<sup>x</sup> Para las variables PFR, NA y PA, los valores con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p < 0.0001$ ).

<sup>y</sup> Determinado con base en la escala de Taylor y Sasser (1978): 0= plantas sin agallas; 1= plantas con 1 o 2 agallas; 2= plantas con 3 a 10 agallas; 3= plantas con 11 a 30 agallas; 4= plantas con 31 a 100 agallas; 5= plantas con más de 100 agallas.

<sup>z</sup> Calculado con la fórmula de Townsed y Heuberger (1943) a partir del IA.

En cuanto al NMH, se observó que la mayor cantidad de huevecillos se presentó en las raíces de jitomate que crecieron en el sustrato en donde se desarrolló CW infectado con T85 ( $p = < 0.0001$ ), dando lugar a un IMH de 3 (Cuadro 5).

El NH que se produjeron en las plantas de jitomate que crecieron en el suelo en donde se desarrolló CW infectado con T85 o CMon fue significativamente mayor ( $p = < 0.0001$ ) que en las plantas de jitomate que crecieron en donde se desarrollaron CM334 o ChTH35-3; y solamente en las plantas de jitomate que crecieron en el sustrato en donde se cultivó CW y CM334 infectados con CMon, se desarrolló la menor cantidad de huevecillos ( $p = < 0.0001$ ) (Cuadro 5).

El NH producidos en las plantas de jitomate que crecieron en el sustrato en donde se cultivó ChTH35-3 fue significativamente igual, independientemente de la población del nematodo que se haya inoculado (Cuadro 5).

Las plantas de jitomate que se desarrollaron en sustratos en donde previamente se cultivaron CW, CM334 o ChTH35-3 sin inocular con alguna de las poblaciones de nematodos, no presentaron agallas ni masas de huevecillos (Cuadro 5).

Con base en el IR y la escala de Taylor (1971), el jitomate var. Río Grande fue susceptible a las dos poblaciones de nematodos cuando las plantas se desarrollaron en el sustrato en donde se cultivó CW y medianamente resistente cuando creció en el sustrato en donde se desarrolló CM334. Las plantas de jitomate fueron muy resistentes cuando se desarrollaron en el sustrato en donde el chile ChTH35-3 se infectó con la población T85, y moderadamente resistentes cuando el jitomate creció en el sustrato en donde ChTH35-3 se confrontó con CMon (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Número de masas de huevecillos (NMH), índice de masas de huevecillos (IMH), número de huevecillos por gramo de raíz (NH) e índice de reproducción (IR) en plantas de jitomate (variedad Río Grande) cultivadas en sustratos en donde previamente se desarrollaron plantas de California Wonder (CW), Criollo de Morelos CM334 (CM334) y la línea 35-3 de chile tipo huacle (ChTH35-3) inoculadas con dos poblaciones de *Nacobbus aberras* (T85 o CMon).

<b>Chile</b>												
<b>Sustrato</b>	CW				CM334				ChTH35-3			
	NMH	IMH <sup>y</sup>	NH	IR <sup>z</sup>	NMH	IMH	NH	IR	NMH	IMH	NH	IR
T85	15.5 a <sup>x</sup>	3	756.6 a	100	5.5 b	2	139.4 c	18.4	0.9 c	1	72.2 e	9.5
CMon	4.5 b	2	564.2 b	100	1 c	1	101.9 d	18.1	0.7c	1	69.4 e	12.3
Control	0 d	0	0 f	0	0 d	0	0 f	0	0 d	0	0 f	0

<sup>x</sup> Para las variables NMH y NH, los valores con letra diferente son estadísticamente diferentes (LSD  $p < 0.0001$ ).

<sup>y</sup> Determinado con base en la escala de Taylor y Sasser (1978): 0= plantas sin masas de huevecillos; 1= plantas con 1 o 2 masas de huevecillos; 2= plantas con 3 a 10 masas de huevecillos; 3= plantas con 11 a 30 masas de huevecillos; 4= plantas con 31 a 100 masas de huevecillos; 5= plantas con más de 100 masas de huevecillos.

<sup>z</sup> Población final en CM334 y ChTH35-3, expresado como el porcentaje de la población final en el chile susceptible CW.

## V. DISCUSIÓN

Los nematodos, al igual que cualquier otro fitopatógeno, alteran la morfología, estructura y fisiología de sus plantas hospedantes. Dichas alteraciones se traducen en pérdidas en la calidad y cantidad de la cosecha, por lo que la búsqueda de alternativas de manejo en donde se integre el uso de plantas resistentes y/o tolerantes a estos patógenos juega un papel importante en mantener la producción en un nivel en donde los agricultores puedan conservar o incrementar la rentabilidad de sus cultivos.

*Nacobbus aberrans* infecta diferentes especies hortícolas, entre ellas el chile, en donde son pocos los materiales que muestran resistencia contra éste y otros patógenos. En la presente investigación se caracterizó y comparó la respuesta de la línea ChTH35-3, CM334 (susceptible) y CW (altamente susceptible) después de haberse inoculado independientemente con dos poblaciones de *N. aberrans* (T85 o CMon). Con base en las condiciones evaluadas, se observó que las dos poblaciones del nematodo fueron capaces de penetrar y establecerse en la raíces de todas las plantas; sin embargo, su desarrollo y reproducción se afectaron significativamente ( $p = <0.0001$ ) en función del genotipo del hospedante.

En general, el PA, el NMH y el NH fueron significativamente menores en la línea ChTH35-3 y mayores en el chile CW (Cuadros 1 y 2). Estos parámetros son relevantes en la caracterización de materiales como fuentes potenciales de resistencia, ya que son indicadores de la reproducción del nematodo. En este contexto, los resultados de esta investigación sugieren que en la línea ChTH35-3 se están expresando respuestas bioquímicas y/o estructurales que se manifiestan de manera rápida y en mayor magnitud que las respuestas que se presentan en CM334 y CW (Benhamou, 1996). Dichas respuestas dan lugar a un ambiente desfavorable que inhibe o limita el ingreso, movimiento, alimentación y/o reproducción de *N. aberrans*. En los materiales susceptibles podrían estar actuando efectores (proteínas) que suprimen el “sistema inmune” y la señalización de los mecanismos de defensa de la planta durante el estado sedentario biotrófico del nematodo en la raíz (Hewezi y Baum, 2013; Hewezi, 2015), y que modifican las proteínas del hospedante durante o después de su biosíntesis (Hewezi, 2015).

El chile CM334 es altamente resistente a *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* (Pegard *et al.*, 2005). Recientemente, Villar-Luna *et al.* (2015), reportaron que los genes que codifican para la síntesis de capsidiol (fitoalexina sesquiterpénica) (5-epi-aristolobol sintasa e Hidroximetilglutaril-CoA reductasa 2), proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-1 y POX) y para un factor de transcripción (WRKY-a), implicado en la regulación de la reprogramación transcripcional de genes asociados con respuestas inmunes (Eulgem y Somssich, 2007), se sobre-expresaron en plantas de chile CM334 inoculadas con *M. incognita* (interacción incompatible) o *N. aberrans* (interacción compatible). Dicha sobre-expresión fue mayor en la interacción incompatible, aun cuando no siempre hubo diferencias significativas con respecto a las plantas que se inocularon con *N. aberrans* (Villar-Lunas *et al.*, 2015). Es posible que todos o alguno de estos mecanismos se hayan presentado en las raíces de ChTH35-3, en donde T85 o CMon fueron capaces de reproducirse, aunque el número de huevecillos fue solo el 9% del número de huevecillos que se formaron en las raíces del chile susceptible CW (Cuadro 2). El bajo número de huevecillos en ChTH35-3 podría explicarse también por la manifestación de una reacción de hipersensibilidad o por la presencia de ácido clorogénico, respuestas que se presentaron en la interacción de CM334 con *M. arenaria*, *M. javanica* o *M. incognita* (Pegard *et al.*, 2005), y en plantas de café (*Coffea canephora*) inoculadas con *M. incognita* raza 3 o *M. paranaensis*; en donde se sugiere que hay una respuesta “similar” a una reacción de hipersensibilidad que ocurre tardíamente y que está involucrada con la inhibición y degradación de las células gigantes inducidas por el nematodo (Lima *et al.*, 2015).

Como se indicó anteriormente, el índice de reproducción de T85 y CMon en la línea ChTH35-3 fue de 8.8 y 9.2, respectivamente; lo que nos permitió clasificarla como muy resistente a las dos poblaciones de *N. aberrans*. Sin embargo, estos resultados no concuerdan con lo señalado por Gómez-Rodríguez y colaboradores (datos no publicados), quienes la catalogan como moderadamente resistente a la población CMon.

El chile CM334 se reporta como susceptible a *N. aberrans* (Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005; Gómez Rodríguez y colaboradores, datos no publicados), no obstante, bajo las condiciones en que llevamos a cabo los ensayos de patogenicidad, CM334 resultó ser moderadamente resistente a la población T85 y poco resistente a CMon. Estas respuestas

diferenciales podrían atribuirse a la diversidad genotípica de los chiles y de las poblaciones de *N. aberrans* que se evaluaron (Pegard *et al.*, 2005). Se ha reportado que algunas poblaciones de este patógeno establecen interacciones compatibles (enfermedad) con los cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris*) Canario y Negro Querétaro. Sin embargo, también hay algunas otras poblaciones que no lo hacen y en donde *N. aberrans*, a pesar de haber penetrado las raíces, no es capaz de inducir agallamiento ni reproducirse (Martínez-Fuentes *et al.*, 2009), dando lugar a una interacción incompatible (resistencia no hospedante) (Heath, 2000).

La descendencia de las poblaciones de *N. aberrans* que se originaron en las raíces de ChTH35-3, CM334 y CW infectaron las raíces de todas las plantas de jitomate. Las plantas que crecieron en el sustrato en donde se desarrolló ChTH35-3 fueron muy resistentes a T85 y moderadamente resistentes a CMon; mientras que las que crecieron en el suelo en donde se cultivó CM334 presentaron moderada resistencia a las dos poblaciones del patógeno. Dicha respuesta no implica que el jitomate haya incrementado su habilidad para limitar la penetración, avance y reproducción del nematodo, sino que existe la posibilidad de que algunos mecanismos químicos de defensa en las plantas de chile no solo hayan afectado la reproducción del nematodo, sino también la viabilidad de los huevecillos que se quedaron en el sustrato y que fueron la fuente de inóculo para las plantas de jitomate.

Estos resultados corroboran de manera indirecta la resistencia de ChTH35-3 y CM334, y la susceptibilidad de CW a las poblaciones de *N. aberrans*.

A los 2 y 7 ddi, hubo cero y en promedio menos de un nematodo, respectivamente en las raíces de los chiles evaluados. El mayor número de individuos se observó en CW a los 14 ddi ( $p = <0.0001$ ) (Cuadro 5). Estos datos no concuerdan con lo reportado por Villar-Luna *et al.* (2015), quienes observaron 200 y alrededor de 300 larvas de *N. aberrans* en CM334 a los 2 y 7 ddi, respectivamente. Estas diferencias pueden atribuirse a que la población de *N. aberrans* y las condiciones experimentales de la presente investigación fueron diferentes a las utilizadas por Villar-Luna y colaboradores.

Las alteraciones histológicas en las raíces de los chiles evaluados concuerda con lo descrito anteriormente por Inserra *et al.* (1983), quienes describieron la histología de raíces de betabel (*Beta vulgaris*) infectadas con una población de Nebraska de *N. aberrans*.

En la presente investigación no se observó el origen ni el establecimiento de los sincitios. Estas estructuras las detectaron Inserra *et al.* (1983) hasta los 25 ddi. De acuerdo con su descripción, los sincitios fueron pequeños y multinucleados, y se asociaron con la deformación de la raíz y con la proliferación anormal de raíces secundarias (Inserra *et al.*, 1983).

En las raíces de CW, CM334 y ChTH35-3 se observaron cavidades en la corteza, las cuales presentaron signos del patógeno. Estas cavidades las forman los juveniles y adultos inmaduros de *N. aberrans* durante la etapa migratoria en la que van alimentándose de las células parenquimatosas de la corteza (Jones *et al.*, 2013) de la raíz de betabel (Inserra *et al.*, 1893), y de frijol cvs Canario y Negro Querétaro (Martínez-Fuentes *et al.*, 2009).

En CW y CM334, hubo poco desarrollo de raíz, lo que explica la reducción en el peso fresco y seco de este órgano en comparación con las plantas sin inocular. Las alteraciones morfológicas y estructurales en el sistema radical se asocian con la reducción en la altura de planta y peso aéreo (fresco y seco) de estos materiales, ya que se limita o bloquea el movimiento de agua, minerales y nutrientes necesarios para el desarrollo. En la línea ChTH35-3, solamente el PFA fue significativamente menor cuando las plantas se inocularon con la población CMon.

En todos los materiales evaluados el rendimiento se redujo significativamente cuando las plantas se confrontaron con el nematodo. Sin embargo, la pérdida global fue menor en las plantas de ChTH35-3 y mayor en CM334. Todas las alteraciones en las características agronómicas que se evaluaron se asocian con los hábitos parasíticos que presenta *N. aberrans*, ya que es el único fitonematodo que en su ciclo de vida es capaz de salir y reingresar al hospedante, presentar una etapa migratoria endoparasítica y una etapa sedentaria biotrófica (Eves van den Akker *et al.*, 2014) que implican la actividad diferencial de genes asociados con el metabolismo, respuestas al estrés biótico y abiótico, síntesis de proteínas, división celular y transporte (Kyndt *et al.*, 2013).

La respuesta de la línea ChTH35-5 a las dos poblaciones de *N. aberrans* nos permite considerarla como un material con potencial para su posible incorporación a un programa de mejoramiento genético. Sin embargo, el hecho de ser una planta no domesticada podría limitar el proceso de mejoramiento; aunque se tienen algunos ejemplos exitosos en donde

se utilizaron plantas silvestres como donadores para conferir resistencia a tomate contra *Meloidogyne* spp. (*Lycopersicum peruvianum*), tabaco contra *M. incognita* (*Nicotiana tomentosa*) y papa contra *Globodera pallida* (*Solanum vernei*) y *G. rostochiensis* (*S. tuberosum* ssp. *andigena*) (Roberts, 1992).

De no poder utilizarse como fuente de resistencia, ChTH35-3 podría ser portainjertos de materiales cultivados susceptible a *N. aberrans* pero con características fenotípicas favorables para su comercialización.

## VI. CONCLUSIONES

- i. El porcentaje de agallamiento, el número de masas de huevecillos y el número de huevecillos que se formaron en el sistema radical de la línea ChTH35-3 fueron significativamente menores que en las raíces de los chiles CM334 y CW.
- ii. Solamente el peso fresco aéreo de ChTH35-3 se redujo significativamente cuando las plantas se inocularon con la población CMon.
- iii. La altura de planta así como el peso fresco y seco de hojas, tallos y raíces se redujeron significativamente en CW y CM334 cuando las plantas se inocularon con CMon o T85.
- iv. El rendimiento de ChTH35-3, CM334 y CW se redujo significativamente cuando las plantas se confrontaron con el nematodo. La pérdida global fue menor en ChTH35-3 y mayor en CM334.
- v. No hubo diferencias estructurales entre las raíces de ChTH35-3, CM334 y CW infectadas con T85 o CMon.
- vi. No se observó el origen ni el establecimiento de los sitios de alimentación del nematodo.
- vii. ChTH35-3 fue muy resistente a las dos poblaciones de *N. aberrans*.
- viii. CM334 fue moderadamente resistente a la población T85 y poco resistente a CMon.

**ix.** Los ensayos de patogenicidad en las plantas de jitomate corroboran de manera indirecta la resistencia de ChTH35-3 y CM334 a las poblaciones de *N. aberrans*.

**x.** El chile CW fue altamente susceptible a las poblaciones T85 y CMon de *N. aberrans*.

**xi.** La población CMon fue más agresiva en las plantas de chile y T85 en las plantas de jitomate.

## VII. LITERATURA CITADA

- Benhamou N. 1996. Elicitor-induced plant defence pathways. *Trends in Plant Science* 1(7):233-240.
- Cabrera H, A. J., G. Valdovinos P., G. Mora A., A. Rebollar A., y N. Marbán M. 2014. Ocurrencia de *Nacobbus aberrans* en cultivos hortícolas del noroeste de Michoacán, México. *Nematropica*. 44:107-117.
- Chew M. Y. I., A. Vega P., M. Palomo R. y F. Jiménez D. 2008. Principales enfermedades del chile (*Capsicum annum* L.). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. México D.F. 30 p.
- Clark S. A. 1967. The development and life history of the false root-knot nematode, *Nacobbus serendipiticus*. *Nematologica* 13:91-101.
- Costilla M. A. 1985. El falso nematode del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 y su relación con el cultivo de papa en el noreste argentino. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 62:79-97.
- Davis E. L., R. S. Hussey, T. J. Baum, J. Bakker, y A. Schots. 2000. Nematode parasitism genes. *Annual Review of Phytopathology*. 38:365-96.
- Eulgem T. y I. E. Somssich. 2007. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 10:366-371.
- Eves-van den Akker S., C. J. Lilley, E. G. J. Danchin, C. Rancurel, P. J. A. Cock, P. E. Urwin y J. T. Jones. 2014. The transcriptome of *Nacobbus aberrans* reveals insights into the evolution of sedentary endoparasitism in plan-parasitic nematodes. *Genome Biology and Evolution* 6(9):2181-2194.

- FAOSTAT Exports of chillies and peppers, green from México since 1990 to 2013. 2016. Disponible en línea: <http://faostat3.fao.org/browse/T/TP/E> [consultado Febrero de 2016].
- Franco-Navarro F. 2005. Nematodos fitopatógenos de mayor importancia. pp 207-231 *In*: Producción de jitomate en invernadero. Alvarado L. J.; N. Bautista M. y R. Bárcena G. (eds). Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. México. 233 p.
- García E. J. A. 2011. Expresión de los genes *SS* y *CAS* en chile CM-334 inoculado con *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*. Tesis, Maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo de México. 43 p.
- Glosier B. R., E. A. Ogundiwin, G. S Sidhu, D. R. Sischo y J. P. Prince. 2007. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. Physiological 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 y E. Zavaleta-Mejía. 2008. Phenylalanine ammonia lyase activity in chilli CM-334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. European Journal of Plant Pathology 120:299-303.
- Godínez-Vidal D., M. Rocha-Sosa, E. B. Sepúlveda-García, E. Lozoya-Gloria, R. I. Rojas-Martínez, L. Guevara-Olvera y E. Zavaleta-Mejía. 2013. Transcript accumulation of the mevalonate pathway genes and enzymatic activity of HMG CoA-r and EAS in chilli CM-334 infected by the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. Plant Soil 372:329-348.
- Heath M. C. 2000. Nonhost resistance and nonspecific plant defense. Current Opinion in Plant Biology 3(4):315-319.

- Hernández V. S., A. P. Dávila y K. Oyama. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del Género *Capsicum*. Boletín de la Sociedad Botánica de México 64:65-84.
- Hewezi T. 2015. Cellular signaling pathways and posttranslational modifications mediated by nematode effector proteins. *Plant Physiology* 169:1018-1026.
- Hewezi T. y T. J. Baum. 2013. Manipulation of plant cells by cyst and root-knot nematode effectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26:9-16.
- Inserra R. N., N. Vovlas, G. D. Griffin y J. L. Anderson. 1983. Development of the false root-knot nematode, *Nacobbus aberrans*, on sugar beet. *Journal of Nematology* 15:288-296.
- Jones J. T., A. Haegeman, E. G. J. Danchin, H. S. Gaur, J. Helder, M G. K. Jones, T Kikuchi, R. Manzanilla-López, J. E. Palomares-Rius, W. M. L. Wesemael y R. N. Perry. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 14(9):946-961.
- Khan B., A. A. Khan y M. R. Khan. 2003. Pathogenic variability among isolates of *Meloidogyne javanica* on *Capsicum annum*. *Journal of Nematology* 35(4):430-432.
- Kyndt T., P. Vieira, G. Gheysen y J. de Almeida Engler. 2013. Nematode feeding sites: unique organs in plant roots. *Planta* 238:807-818.
- Lamour K. H., R. Stam, J. Jupe, y E. Huitema. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13:239-337.

- Lax P., J. C. Rondan D., D. Ramos, M. E. Doucet, R. Braga y R. Kobori. 2016. Host suitability of peppers to the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *Crop Protection* 79:15-19.
- Lima E. A., C. Furlanetto, M. Nicole, A. C. M. M. Gomes, M. R. A. Almeida, A. Jorge-Junior, V. R. Correa, S. M. Salgado, M. A. G. Ferrão y R. M. D. G. Carneiro. 2015. The multi-resistant reaction of drought-tolerant coffee 'Conilon clone 14' to *Meloidogyne* spp. and late hypersensitive-like response in *Coffea canephora*. *Nematology* 105(6):805-814.
- López C. M. de L., J. Márquez G., G. Murguía S. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo de angiospermas, libro de laboratorio. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 178 p.
- 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(2): 149-227.
- Martínez-Fuentes R., A. Tovar-Soto, R. Torres-Coronel y A. E. Brechú-Franco. 2009. Histopatología en cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) no hospedantes de *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944. *Nematropica* 39:311-317.
- Milla, A. 2006. Capsicum de capsia, cápsula: el pimiento. pp. 21-31. *In*: Pimientos, Compendios de Horticultura. Namesni A. (ed.). Horticultura S.L. (Ed.). España. 167 p.
- Morán B. S. H., M. Ribero B., Y. García F. y P. Ramírez, V. 2004. Patrones isoenzimáticos de chiles criollos (*Capsicum annuum* L.) de Yucatán, México. pp. 83-89. *In*: Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales.

- Chávez-Servia, J. L., Tuxill, J. y Jarvis, D. I. (eds). Instituto internacional de recursos fitogenéticos (Ed.). Cali, Colombia. 255 p.
- Pegard A., G. Brizzard, A. Fazari, O. Soucaze, P. Abad y C. Djian-Caporalino. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolic accumulation in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 95: 158-165.
- Roberts P. A. 1992. Current status of the availability, development, and use of host plant resistance to nematodes. *Journal of Nematology* 24(2):213-227.
- Robertson L., J. A. López-Pérez, A. Bello, M. A. Díez-Rojo, M. Escuer, A. Piedra-Buena, C. Ros y C. Martínez. 2006. Characterization of *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. hapla* from Spain and Uruguay parasitizing pepper (*Capsicum annuum* L.). *Crop Protection* 25:440-445.
- SAS Institute. 2002. User's Guide of SAS (Statistical Analysis System) Version 9.0. SAS Institute Inc. 9 th ed. Cary, North Carolina, USA. 550 p.
- Scurrach M. I., N. Björn, y J. Bridge. 2005. Nematode parasites of *Solanum* and sweet potatoes. *In: Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Luc, M., R. A. Sikora y J. Bridge (eds.), CABI Publishing (Ed.). United Kingdom. 877 p.
- SIAP. Cierre de la producción agrícola. 2014. Disponible en línea: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> [consultado Febrero de 2016].
- Taylor A. L. 1971. Introduction to research on plant nematology. An FAO guide to the study and control of plant-parasitic nematodes. Food and agricultura organization of the united nations. Rome. 133 p.

- Taylor A. L. y J. N. Sasser. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). International Meloidogyne Project. department of plant pathology North Carolina State University and the United States agency for international development. Raleigh, North Carolina, U.S.A. 107 p.
- Tovar-Soto A., M. G. Medina-Canales y R. Torres-Coronel. 2012. Distribución, incidencia y alteraciones histológicas de una nueva enfermedad en betabel (*Beta Vulgaris* L.) causada por el falso nematodo agallador *Nacobbus aberrans*, en el Valle de Tepeaca, Puebla, México. *Nematropica* 42(2):191-197.
- Townsend G. R. and J. W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses casused by diseases in fungicides experiments. *The Plant Disease Report* 27:340-343.
- Trujillo-Viramontes F., E. Zavaleta-Mejía, R. I. Rojas-Martínez y J. Lara. 2005. Tiempo de inoculación y nivel de inóculo, factores determinantes para el rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* inducido por *Nacobbus aberrans* en chile (*Capsicum annuum*). *Nematropica* 35:37-44.
- Villar-Luna H., B. Reyes-Trejo, O. Gómez-Rodríguez, E. Villar-Luna y E. Zavaleta-Mejía. 2015. Expresión de genes de defensa y acumulación de capsidiol en la interacción compatible chile CM334/*Nacobbus aberrans* e incompatible chile CM334/*Meloidogyne incognita*. *Nematropica* 45:9-19.
- Vrain T. C. 1977. A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inoculum. *Journal of Nematology* 9(3):249-251.
- Zavaleta M. E. 2011. Especies de nematodos que dañan hortalizas. pp. 63-78 *In: Hortalizas Plagas y Enfermedades*. Anaya. R. S. (ed.). Trillas (Ed.). México. 544 p.