

ROMPIMIENTO DE RESISTENCIA A HONGOS FITOPATÓGENOS: CHILE CM-334, UN CASO DE ESTUDIO

Fernández Herrera, E., Rivas Santoyo, F. J., Cosme Guerrero, J., Rueda Puente, E. O.

Departamento de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora (DAG-UNISON). Carr. Bahía Kino, Km. 21
Apartado postal 305. Hermosillo, Sonora. netofh@hotmail.com

Resumen

A menudo se dice que la naturaleza no trabaja con cultivos puros y que muchas enfermedades de plantas son influenciadas por la asociación entre los microorganismos. Es por ello que la infección de un patógeno puede alterar la respuesta del hospedante para subsecuentes infecciones por otros. De las interacciones que se establecen en el suelo, la de los nematodos y los hongos patógenos de la raíz es una de las que más han llamado la atención. Estas interacciones pueden resultar en efectos aditivos, neutrales o negativos para la planta hospedante, o bien, estas interacciones nematodo-hongo pueden resultar en el fenómeno conocido como "rompimiento de resistencia". Este fenómeno se conoce desde mediados del siglo pasado, y en México son escasos los trabajos publicados sobre este tema. De ellos, el fenómeno de rompimiento de resistencia observado en el chile CM-334 es uno de los más estudiados. CM-334 es altamente resistente a *Phytophthora capsici*, sin embargo, las plantas de este genotipo se comportan como susceptibles cuando son previamente infectadas por *N. aberrans*, es decir, se rompe su resistencia al oomiceto. Entre los cambios metabólicos inducidos por *N. aberrans* en CM-344 se encuentran, una reducción de la actividad enzimática de PAL, de peroxidasa y la concentración de fenoles solubles totales y ácido clorogénico, además del capsidiol (principal fitoalexina en Chile), en comparación con aquellas inoculadas sólo con *P. capsici*, sugiriéndose que la pérdida de resistencia puede asociarse con la reducción de la actividad o el contenido de éstos compuestos.

Palabras clave: *Fitopatógenos del suelo, interacción nematodo-hongo y Nacobbus aberrans.*

Abstract

It is often said that nature does not work with pure cultures and that many plant diseases are influenced by the association between microorganisms. The infection by one pathogen may alter the host response to subsequent infection by another. Interactions that are established in the soil, the nematodes and soilborne plant pathogens is one of the most interesting. These interactions may result in additive, neutral or negative effects for the host plant, or these interactions fungus-nematode can result in the phenomenon known as "resistance breakdown". This phenomenon is known since the middle of last century, and in Mexico, few studies published on this topic. Of these, the resistance breakdown phenomenon observed in chilli CM-334 is one of the most studied. CM-334 is highly resistant to *Phytophthora capsici*, however, plants of this genotype behave as susceptible once infected by *Nacobbus aberrans*. The metabolic changes induced by *N. aberrans* on CM-344 is a reduction in the enzymatic activity of PAL, peroxidases and concentration of total soluble phenols, chlorogenic acid, capsidiol (main phytoalexin in chilli), compared with those inoculated only with *P. capsici*, suggesting that loss of resistance can be associated with the reduction of the activity or the content of these compounds.

Key Words: *Soilborne plant pathogens, nematode-fungus interaction, and Nacobbus aberrans.*

Introducción

Las enfermedades de las plantas en los cultivos dependen del complejo de interacciones que ocurren entre el hospedante, el patógeno y las condiciones ambientales que prevalecen. Frecuentemente se dice que la naturaleza no trabaja con cultivos puros, es decir, en el suelo existen diversas interacciones entre los fitopatógenos bióticos que afectan a las plantas, las cuales probablemente se dan con mucha más frecuencia de lo que pensamos. De las interacciones que se establecen en el suelo, la de los nematodos y los hongos patógenos de la raíz es una de las que más han llamado la atención. Las interacciones nematodo-hongos fitopatógenos del suelo pueden resultar en efectos aditivos y/o antagonicos en relación

con el impacto o daño que tienen en el crecimiento o la producción de la planta hospedera. Es decir, la interacción entre estos dos tipos de patógenos puede resultar en una interacción sinérgica donde la asociación del nematodo y el fitopatógeno del suelo resulta en un mayor daño a la suma del daño individual de cada patógeno ($1+1 > 2$). Por el contrario, también existen interacciones antagonistas, donde la asociación entre nematodos y hongos resulta en un menor daño a la planta que el esperado de la suma de los dos organismos ($1 + 1 < 2$), o bien, también pudieran existir interacciones donde el daño a la planta es igual a la suma del daño individual de cada patógeno ($1 + 1 = 2$) (Back *et al.*, 2002). Aunque las dos primeras asociaciones pueden ser fácilmente demostradas experimentalmente, la última puede ser difícil de identificar, presentándose generalmente cuando los nematodos y los patógenos no interactúan unos con otros.

Sin embargo, además de estos efectos, la interacción entre nematodos y los fitopatógenos del suelo puede resultar en el fenómeno conocido como “rompimiento de resistencia” (Zavaleta-Mejía, 2002). Este fenómeno de rompimiento de resistencia a hongos fitopatógenos por nematodos fitoparásitos se conoce desde mediados del siglo pasado (Martin *et al.*, 1956; Powell 1971; Upadhyay y Dwivedi, 1987). Por ejemplo; Upadhyay y Dwivedi (1987) reportaron la pérdida de resistencia al hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* en plantas de garbanzo de la variedad “Avrothi”, cuando previamente éstas fueron inoculadas con el nematodo agallador *Meloidogyne javanica*. Así también, Marley and Hillocks (1994) demostraron que los nematodos *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* inducen pérdida de resistencia a *Fusarium udum* en Guandú (*Cajanus cajan*) mediante la reducción de los niveles de la fitoalexina cajanol, hasta en un 62%. Este estudio demostró que las infecciones de estos nematodos reducen los mecanismos de defensa química en contra de la marchitez de *Fusarium* en esta leguminosa, ya sea reduciendo los niveles metabólicos globales o específicamente induciendo cambios dentro de la ruta de los isoflavonoides durante el ataque del nematodo.

En esta interacción planta-nematodo existen complejas interacciones, en donde el nematodo induce profundas alteraciones en la morfología de las células de las cuales se alimenta. Durante esta interacción ocurren modificaciones celulares e histológicas que sugieren que el nematodo incita una serie de cambios físicos, químicos y fisiológicos en su hospedante, dando como resultado los sincitios (Parviz, 1985). En la formación del sincitio los protoplastos se fusionan dando lugar a un continuo de células (Sijmons, 1993). Éstas células afectadas generalmente muestran citoplasma denso, núcleo y pared celular hipertrofiada, vacuolación, formación de gránulos y lisis celular (Manzanilla-López *et al.*, 2002). Estos cambios físicos, químicos y fisiológicos ocurren como respuesta a una reprogramación de la expresión génica en el hospedante, que permite la diferenciación de estructuras especializadas de alimentación (sincitios o células gigantes) necesarias para que el nematodo complete su ciclo de vida (Gheysen y Fenoll, 2002). Recientemente se ha consignado que la modificación en la expresión de algunos de esos genes podrían estar asociados con el fenómeno de rompimiento de resistencia (Zavaleta-Mejía *et al.*, 2009).

Rompimiento de resistencia a *P. capsici* en Chile CM-334

En México, desde 1966 se empezaron a realizar esfuerzos para tratar de originar variedades resistentes a *P. capsici* (Heredia, 1966). Redondo (1979) en el periodo comprendido de 1974 a 1979 evaluó materiales de Chile resistentes a *P. capsici*, procedentes tanto del extranjero como del país, y encontró que los materiales reportados como resistentes en otros países, se comportaron como susceptibles con la colección de cepas del oomiceto que se tienen en México. Estos resultados indicaron que para la obtención de fuentes de resistencias a la mayor parte de aislamientos de *P. capsici*, era necesario buscar la resistencia en los materiales criollos de México, ya que México por ser centro de origen y domesticación del género *Capsicum* presenta una gran diversidad genética. Así, en la década de los 80's se colectó a lo largo de todo el territorio mexicano una diversidad amplia de materiales de Chile; de entre ellos 19 criollos provenientes del Estado de Morelos fueron resistentes a *P. capsici*; sobresaliendo el “Criollo de Morelos 334” debido a que de manera consistente exhibía un alto grado de resistencia al patógeno (Guerrero-Moreno y Laborde, 1980; Gil-Ortega *et al.*, 1991).

El chile CM-334 es uno de los materiales que ha mostrado mayor resistencia a *P. capsici* aún cuando se inocula con las cepas más patogénicas. No obstante, aún no hay un consenso claro sobre el número de genes que están involucrados en la resistencia de CM-334 a *P. capsici*. Guerrero-Moreno y Laborde (1980) sugieren que la resistencia está dada por sólo dos genes, mientras que otros autores mencionan que la resistencia en CM-334 está dada por tres genes los cuales de manera independiente confieren la resistencia a *P. capsici* en raíz, tallo y follaje (Sy *et al.*, 2005).

Para entender mejor como CM-334 se comporta como susceptible a *P. capsici*, cuando previamente es infectado por *N. aberrans*, primero debemos conocer los mecanismos por los cuales se explica la resistencia de CM-334 a este oomiceto. De acuerdo con Fernández-Pavía (1997) cuando CM-334 se inocula con *P. capsici*, éste genotipo incrementa sus niveles de mensajeros que codifican para la enzima fenilalanina amonio-liasa (PAL), lo cual se asoció con cambios cuantitativos y cualitativos de compuestos fenólicos que inhibieron el crecimiento de *P. capsici* en condiciones *in vitro*; también, la actividad de peroxidasa acídica fue mayor en plantas resistentes inoculadas, en comparación con las plantas susceptibles inoculadas. Estos resultados fueron confirmados posteriormente por Godínez *et al.* (2008) cuando al inocular plantas de CM-334 observaron un incremento significativo en la actividad de PAL en plantas inoculadas con *P. capsici*. Por otra parte, Ueeda *et al.* (2006) reportan que el ácido jásmonico (AJ) puede jugar un papel importante en la resistencia de CM-334, ya que cuando este genotipo se inoculó con *P. capsici* los niveles de AJ se incrementaron drásticamente en las hojas inoculadas. También, durante la interacción incompatible chile CM-334-*P. capsici*, las plantas inoculadas con el oomiceto muestran un incremento significativo en la acumulación de transcritos de los genes *GLU* y *POX*, hecho que se asoció con incrementos considerables en la actividad de β -1,3-glucanasas y peroxidasa, respectivamente. De igual manera, los transcritos de los genes *PR-1* (que codifica para la proteína PR-1) y *EAS* (5-epi-aristolóqueno sintasa que codifica para la fitoalexina capsidiol) y el contenido de capsidiol, se incrementaron significativamente. Por lo que la resistencia de CM-334 a *P. capsici* puede explicarse, en parte, por el incremento en estos compuestos (Fernández-Herrera *et al.*, 2012).

Plantas de CM-334 muestran susceptibilidad a *P. capsici* cuando previamente han sido infectadas por el nematodo agallador *N. aberrans* (Pérez y Pérez, 1988; Vargas-Escobedo *et al.*, 1996; Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005; Godínez-Vidal *et al.*, 2008). Por ejemplo, Pérez y Pérez (1988) reportaron que cuando cuatro genotipos resistentes (CM-355, CM-329, BG-1504 y L-29) a *P. capsici* se inocularon simultáneamente con *N. aberrans* (1500 huevos/planta) y *P. capsici* (180, 000 zoosporas/planta) las plantas presentaron infección y muerte, ocurriendo así el rompimiento de resistencia de los cultivares resistentes al oomiceto. Por su parte, Trujillo-Viramontes y colaboradores (2005) determinaron que el máximo grado de rompimiento de resistencia en plantas de CM-334 ocurrió cuando las plantas CM-334 fueron inoculadas primeramente con 2000 J₂ de *N. aberrans* y 21 días después con 300, 000 zoosporas de *P. capsici*. En experimentos con plantas de CM-334 con doble sistema radical, en donde existió una separación física entre el sistema radical inoculado con el nematodo y el inoculado con el oomiceto, las plantas mostraron susceptibilidad a este último; tales resultados sugieren que los cambios metabólicos y/o fisiológicos inducidos por el nematodo pueden ser los responsables del rompimiento de resistencia y no el daño mecánico inducido por este en las raíces de la planta hospedante (Vargas-Escobedo *et al.*, 1996).

Se ha consignado que la inoculación de plantas CM-334 con *N. aberrans* reduce considerablemente la actividad de la enzima PAL, en comparación con las plantas no inoculadas; en contraste, en las plantas inoculadas solamente con *P. capsici* la actividad se incrementó, indicando que tal reducción podría estar involucrada en el rompimiento de resistencia de CM-334 a *P. capsici* (Godínez-Vidal *et al.*, 2008). PAL es una enzima importante en la ruta de los fenilpropanoides, a través de la cual se sintetizan compuestos con una diversidad amplia de funciones en las plantas, entre ellos los relacionados con la defensa, como los compuestos fenólicos con propiedades antimicrobianas y las fitoalexinas (Shadle *et al.*, 2003). Además se ha determinado que en presencia de *N. aberrans* se reduce la actividad total de peroxidasa, el

contenido de ácido clorogénico y los fenoles solubles totales; lo cual podría estar asociado con el fenómeno de rompimiento de resistencia a *P. capsici* en CM-334 cuando ha sido previamente infectado con el nematodo (López-Martínez *et al.*, 2010). Más recientemente, Fernández-Herrera *et al.* (2012) reportaron que la inoculación de CM-334 sólo con *N. aberrans* y/o con *N. aberrans* y *P. capsici* mostró una menor expresión del gen *EAS*, así como de la fitoalexina para la cual codifica dicho gen, en comparación a aquellas plantas inoculadas solamente con el oomiceto, lo cual permitió especular que *N. aberrans* abate éste y otros mecanismos de defensa en CM-334, lo que podría redundar en la creación de un ambiente favorable tanto para el establecimiento del nematodo como para el oomiceto.

Conclusiones

Se ha documentado que el fenómeno de rompimiento de resistencia no ocurre aduciendo que el nematodo realiza "puertas de entrada" para patógenos posteriores, sino más bien, la función del nematodo es la de alterar o inducir cambios metabólicos en sus hospedantes, alterando o modificando así las repuestas de defensas. En México son escasos los trabajos sobre este tema, sin embargo, el entendimiento de las interacciones planta-nematodo-hongos de la raíz pareciera ser la forma más correcta para el manejo de las enfermedades que involucran nematodos y hongos.

Literatura Citada

- Back, M. A., P. P. J. Haydock, and P. Jenkinson. 2002. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. *Plant pathology* 51: 683-697.
- Fernández-Herrera, E., R. I. Rojas Martínez, L. Guevara Olvera, O. Gómez Rodríguez, M. E. Rivas Dávila, E. Valadez Moctezuma y E. Zavaleta-Mejía. 2012. Genes de defensa, actividad enzimática y contenido de capsidiol en chile CM-334 inoculado con *Phytophthora capsici*. *Interciencia* 37:370-376.
- Fernández-Herrera, E., R. I. Rojas Martínez, L. Guevara Olvera, M. E. Rivas Dávila, E. Valadez Moctezuma y E. Zavaleta-Mejía. 2012. Defensa en chile CM-334 inoculado con *Phytophthora capsici* e infectado con *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 42:96-107.
- Fernandez-Pavia, S. 1997. Host-Pathogen interactions in the root rot *Phytophthora capsici/Capsicum annuum* resistant CM-334 pathosystem. Ph D. Dissertation. New México State University. 109 p.
- Gheysen, G. and C. Fenoll. 2002. Gene expression in nematode feeding sites. *Annual Review of Phytopathology* 40:191-219.
- Gil-Ortega, R., C. P. Espanol and J. C. Zueco. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SC 334'. *Plant Breeding* 107:50-55.
- Godinez-Vidal, D., M. Rocha-Sosa, E. B. Sepúlveda-García, J. Lara-Reyna, R. Rojas-Martínez and E. Zavaleta-Mejía. 2008. Phenylalanine ammonia lyase activity in chili CM-334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. *European Journal of Plant Pathology* 120:299-303.
- Guerrero-Moreno A. and J. Laborde. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. pp 52-56. In: Synopses of the 4th Meeting of the Capsicum Working Group of Eucarpia I. V. T., Wageningen. The Netherlands.
- Heredia, Z. A. 1966. Herencia de la Resistencia del chile *Capsicum annuum* L. al ataque del hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis Profesional. E. N. A., Chapingo, México. 40 p.
- López-Martínez, N., Colinas-León, M.T., Peña-Valdivia, C.B., Salinas-Moreno, Y., Fuentes-Montiel, P., Biesaga, M., and Zavaleta-Mejía, E. 2010. Alterations in peroxidase activity and phenylpropanoid metabolism induced by *Nacobbus aberrans* Thorne and Allen, 1944 in chilli (*Capsicum annuum* L.) CM334 resistant to *Phytophthora capsici* Leo. *Plant Soil* (DOI 10.1007/s11104-010-0553-5).
- Manzanilla-López, R.H., M.A. Costilla, M. Doucet, J. Franco, R.N. Inserra, P.S. Lehman, I. Cid del Prado-Vera, R. M. Souza, and K. Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32:149-227.

- Marley, P. S. and R. J. Hillocks. 1994. Effect of root-knot nematodes on cajanol accumulation in the vascular tissues of pigeonpea after stem inoculation with *Fusarium udum*. *Plant Pathology* 43: 172-176.
- Martin, W. J., L. D. Newson, and J. E. Jones. 1956. Relationship of nematodes to the development of Fusarium wilt in cotton. *Phytopathology* 46:285-289.
- Parviz, J. 1985. El nematodo falso nodulador de la raíz. pp. 47-55. *In: Fitonematología Avanzada I*. Nahúm Marbán M., e Ivan J. Thomason (Eds). Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 345 páginas.
- Pérez, M. L., y Pérez, V. J. J. 1988. Interacción *Phytophthora capsici* Leo., *Nacobbus aberrans* en cuatro materiales de chile (*Capsicum annuum* L.) resistentes al hongo, bajo condiciones de invernadero. *Memorias del XV Congreso Nacional de Fitopatología*. Xalapa, Veracruz. México. pp. 65.
- Powell, N. T. 1971. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Annual Review of Phytopathology* 9:253-274.
- Redondo, J. E. 1979. Búsqueda de genotipos de chile resistente al hongo *Phytophthora capsici*. *Leonian. Proceedings American Society for Horticultural Science, Región Tropical y del Caribe*. México. 23:220-224.
- Shadle, G.L., Wesley, S.V., Korth, K.L., Chen, F., Lamb, C., and Dixon, R.A. 2003. Phenylpropanoid compounds and disease resistance in transgenic tobacco with altered expression of L-phenylalanine ammonia-lyase. *Phytochemistry* 64:153-161.
- Sijmons, P.C. 1993. Plant-nematode interactions. *Plant Molecular Biology* 23:917-931.
- Sy, O., P.W. Bosland, and R. Steiner. 2005. Inheritance of *Phytophthora* stem blight resistance as compared to *phytophthora* root rot and *phytophthora* foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences* 130:75-78.
- Trujillo-Viramontes, F., 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 (*Capsicum annuum*). *Nematropica* 35:37-44.
- Ueeda, M., M. Kubota, and K. Nishi. 2006. Contribution of jasmonic acid to resistance against *Phytophthora* blight in *Capsicum annuum* cv. SCM 334. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67:149-154.
- Upadhyay, K. D. and K. Dwivedi. 1987. Root-knot nematode *Meloidogyne javanica* breaks wilt resistance in chickpea variety "Avrodhi". *Current Science* 56:915-916.
- Vargas-Escobedo, M. T., Zavaleta-Mejía, E. y Hernández-Anguiano, A.M. 1996. Rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* en chile serrano CM-334 por *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. *Nematropica* 26:159-166.
- Zavaleta-Mejía, E. 2002. Rompimiento de resistencia a hongos fitopatógenos por nematodos fitoparásitos, una hipótesis. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:118-122.
- Zavaleta-Mejía, E., D. Godínez-Vidal, N. López-Martínez, and E. Villar-Luna. 2009. Changes induced by *Nacobbus aberrans* which could be related to *Phytophthora capsici* breaking of resistance in chilli. II International Congress of Tropical Nematology/XV Annual Meeting Organization of Nematologists of Tropical America. October 4-8. Maceió Alagoas State, Brazil. Resumen S31-1.