CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN LA LÍNEA 41-1 DE CHILE SERRANO RESISTENTE A *Meloidogyne incognita*

HISTOLOGICAL CHANGES IN SERRANO PEPPER LINE 41-1 RESISTANT TO *Meloidogyne incognita*

Ivonne García-González[1], Olga Gómez-Rodríguez[1]*, Petra Yáñez-Jiménez[2], Ma. del Pilar Rodríguez-Guzmán[1] y Hernán Villar-Luna[3]

[1]Colegio de Postgraduados, Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Montecillo, Estado de México, México. [2]Colegio de Postgraduados, Posgrado en Botánica, Montecillo, Estado de México, México. [3]Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Sinaloa, Departamento de Biotecnología Agrícola, Guasave, Sinaloa, México.

**Autor de correspondencia* (olgago@colpos.mx)

RESUMEN

Recientemente, se ha reportado a la línea de chile serrano (*Capsicum annuum* L.) 41-1 como resistente a *Meloidogyne incognita* (*Mi*), por lo que el objetivo de este trabajo fue describir las alteraciones histológicas que induce *Mi* y su capacidad de reproducción en la línea de chile 41-1. Se realizaron tres ensayos en condiciones de invernadero, bajo un diseño completamente al azar utilizando los chiles línea 41-1, Criollo de Morelos (CM334, testigo resistente) y variedad Tampiqueño 74 (T74, testigo susceptible). Se evaluaron los siguientes aspectos: 1) prevalencia en el suelo, 2) penetración en las raíces y 3) alteraciones histológicas. Para el ensayo 1 las plantas se trasplantaron en macetas con 2 kg de sustrato y se inocularon con 2000 J2. Para los ensayos 2 y 3 las plantas se establecieron en recipientes con 118 cm^3 de sustrato, e inoculadas con 500 J2. La prevalencia de J2 en suelo a los 80 días después de la inoculación (ddi) fue significativamente superior ($P \leq 0.05$) en el tratamiento T74 (164.25 ± 53.84 nematodos por g raíz), en comparación con los tratamientos 41-1 y CM334 (3.5 ± 2.06 y 4.0 ± 2.82 nematodos por g de raíz, respectivamente); los resultados se relacionan con los del ensayo 2 con respecto al número de individuos por g de raíz a los 21 ddi en T74 (524.6 ± 218.29) significativamente superior ($P \leq 0.05$) en comparación con 41-1 (21.3 ± 3.28) y CM334 (34.3 ± 4.48). Las alteraciones histológicas fueron similares entre 41-1 y CM334, con respuesta de hipersensibilidad desde los tres ddi y sin presencia de células gigantes (CG), mientras que en T74 se observaron CG desde los nueve ddi. Estos resultados demuestran que el chile 41-1 posee una resistencia a *Mi* similar a la que presenta CM334, con potencial para ser utilizado en un programa de mejoramiento genético.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, CM334, nematodos agalladores, reacción de hipersensibilidad

SUMMARY

Recently, Serrano pepper (*Capsicum annuum* L.) line 41-1 has been reported as resistant to *Meloidogyne incognita* (*Mi*); therefore, the aim of this study was to describe the histological alterations induced by *Mi* and its reproduction capacity in the chili pepper line 41-1. Three trials were carried out under greenhouse conditions, under a completely randomized design using chili pepper line 41-1, Criollo de Morelos (CM334, resistant control) and variety Tampiqueño 74 (T74, susceptible control). The following aspects were evaluated: 1) prevalence in the soil, 2) penetration into the roots and 3) histological alterations. For trial 1, plants were transplanted into pots containing 2 kg of substrate and inoculated with 2000 J2. For trials 2 and 3, plants were established in containers with 118 cm^3 of substrate, and inoculated with 500 J2. Prevalence of J2 in soil 80 days after inoculation (dai) was significantly higher ($P \leq 0.05$) in the T74 treatment (164.25 ± 53.84 nematodes per g root), compared to treatments 41-1 and CM334 (3.5 ± 2.06 and 4.0 ± 2.82 nematodes per g root, respectively); results are related to those of trial 2 in regard to the number of individuals per gram of root at 21 dai in T74 (524.6 ± 218.29) significantly higher ($P \leq 0.05$) compared to 41-1 (21.3 ± 3.28) and CM334 (34.3 ± 4.48). The histological alterations were similar between 41-1 and CM334, with hypersensitivity response since three days after inoculation and no presence of giant cells (GC), while in T74 GC were observed from nine days after inoculation. These results demonstrate that chili pepper 41-1 has a resistance to *Mi* similar to that of CM334, with potential to be used in a breeding program.

Index words: *Capsicum annuum*, CM334, hypersensitivity reaction, root-knot nematodes.

INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* posee una amplia diversidad genética, y dentro de las especies destaca *C. annuum* como la de mayor distribución en el mundo (Barchenger y Bosland, 2019). Esta especie se consume en fresco, seco, como colorante o especia, y tiene un valor medicinal en el tratamiento de enfermedades como el cáncer, la gastritis, la diabetes, entre otras (Barchenger y Bosland, 2019; Martínez, 2019).

El cultivo de chile es una fuente importante de ingresos para los productores, ya que tiene una derrama económica de más de 34 mil millones de dólares estadounidenses (USD) entre chiles verdes y secos a nivel mundial (Tripodi y Kumar, 2019). En México, durante 2023 se sembraron más de 73 mil ha de chile verde, de la cual derivó una producción de más de 3 millones de t, con un valor de 45,977 millones de pesos mexicanos; los principales estados productores fueron Chihuahua, Sinaloa y Zacatecas (SIAP, 2024).

En este contexto, el cultivo se enfrenta a diversos factores que comprometen su producción, dentro de los

Recibido: 10 de julio de 2024
Aceptado: 16 de diciembre de 2024

DOI: https://doi.org/10.35196/rfm.2025.1.67

que destacan algunos fitopatógenos como los nematodos agalladores, considerados de importancia económica (Mhatre *et al.*, 2019; Rutter *et al.*, 2022). *Meloidogyne incognita* es una especie cosmopolita y de carácter polífago, causa pérdidas de al menos 100 mil millones USD a nivel mundial, aunque la estimación de sus daños no es exacta (Bartlem *et al.*, 2014; Giri *et al.*, 2022). Los principales síntomas que induce son enanismo, clorosis, marchitez, agallas en las raíces y reducción en el tamaño y número de frutos; consecuentemente, con una reducción en la calidad y el rendimiento (Herrera-Parra *et al.*, 2021).

Para contrarrestar estos efectos, se han empleado diversas estrategias de manejo que incluyen el control biológico con hongos y bacterias antagonistas (Ayaz *et al*., 2024), el uso de aceites esenciales (Subedi *et al.,* 2020) y el control químico, que es el principal método, pero también uno de los más controversiales por los efectos negativos al ambiente y a la salud humana (Meena *et al.*, 2020). Una alternativa compatible con el ambiente para el manejo de estos fitopatógenos es el uso de genotipos con resistencia genética.

En el chile se han detectado diversas fuentes de resistencia genética a las principales especies de *Meloidogyne*, dentro de las cuales destaca el chile Criollo de Morelos CM334, con resistencia a *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria*, conferida por el gen *Me7* (Changkwian *et al*., 2019; Pegard *et al.*, 2005). El gen *Me7* induce una respuesta de hipersensibilidad (RH) en CM334 que se manifiesta con muerte celular en el tejido de la corteza (Lee *et al.*, 2021; Padilla *et al.*, 2021). La RH que presentan los cultivos resistentes a la infección por nematodos agalladores bloquea el desarrollo de los juveniles, y por lo tanto, el establecimiento de los sitios de alimentación (células gigantes). Por otra parte, los juveniles secretan efectores que producen en las glándulas esofágicas a través de su estilete, para suprimir la defensa del hospedante e inducir la formación de células gigantes (Rutter *et al.*, 2022).

Las respuestas de defensa no se han caracterizado histológicamente en la línea 41-1, la cual se ha reportado previamente como altamente resistente a *M. incognita* y moderadamente resistente a *Nacobbus aberrans,* así como al oomiceto *Phytophthora capsici* (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2017; Villar-Luna *et al.*, 2022), por lo que el objetivo del presente estudio fue describir las alteraciones histológicas que induce *M. incognita* y su capacidad de reproducción en la línea de chile tipo Serrano 41-1.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para los tres ensayos (prevalencia de inóculo, penetración de juveniles y respuesta histológica) se utilizaron semillas de chile Serrano línea 41-1 proporcionadas por el Programa de Genética del Colegio de Postgraduados, Tampiqueño 74 (T74, testigo susceptible) y Criollo de Morelos 334 (CM334, testigo resistente). Las semillas se desinfestaron con hipoclorito de sodio 1 % durante 1 min, se enjuagaron con agua destilada estéril y se escarificaron (De la Rosa *et al.*, 2012). Se colocaron en una charola germinadora con papel absorbente estéril y se incubaron a 28 °C en una cámara de crecimiento (KBWF 240 Binder GmbH, Tuttlingen, Alemania). Una vez germinadas, se trasplantaron y se mantuvieron en invernadero (28-35 °C, 10-32 % HR, termohigrómetro Steren®).

Obtención de inóculo

Meloidogyne incognita (*Mi*) se obtuvo de raíces de frijol agalladas que se colectaron en Los Mochis, Sinaloa, México (Latitud: 25.7833° N, Longitud: 108.9833° O), y se incrementó a partir de una masa de huevos. Su identificación se llevó a cabo previamente por PCR con los iniciadores SCAR (MiF/MiR) (Villar 2013; Com. Pers.[1]). La población se mantiene en tomate Cherry en invernadero. Se realizó la extracción de huevos siguiendo la metodología propuesta por Vrain (1977) y se incubaron a 28 °C en cajas de Petri con agua destilada estéril durante 10 días. Durante este periodo, los juveniles de segundo estadio (J2) se recuperaron diariamente y se mantuvieron a 4 °C hasta su uso.

Prevalencia de inóculo

Cuatro plántulas de cada tipo de chile evaluado (41-1, T74 y CM334) con tres a cuatro pares de hojas verdaderas se trasplantaron, una por maceta con 2 kg de una mezcla 2:1 de suelo:arena. Cada plántula fue inoculada con 2000 J2, se regaron diariamente y se fertilizaron (Ultrasol 0.5 g L^{-1} de agua) dos veces por semana hasta llegar a la etapa de fructificación, que ocurrió 80 días después del trasplante (ddt), tiempo que se consideró como un ciclo del cultivo y dos generaciones de *Mi* (Hernandez-Ochandía

[1]**Villar L. E. (2013)** Trascritos de genes de defensa acumulados en chile CM334 infectado por *Nacobbus aberrans* o *Meloidogyne enterolobii* e inoculado con *Phytophthora capsici*. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, México. 118 p.

et al., 2021). Transcurrido este tiempo, se cortó el follaje de todas las plantas a ras de suelo y en cada maceta se plantó una plántula de T74 (susceptible) con tres pares de hojas con la finalidad de evaluar biológicamente el inóculo presente en el suelo después de haber cultivado un material resistente (41-1 y CM334), y que queda presente para el siguiente cultivo. Las plantas de T74 se extrajeron de las macetas a los 32 ddt, las raíces se lavaron cuidadosamente, se pesaron y se tiñeron con fucsina ácida 0.2 % (Bybd *et al.,* 1983), se sumergieron en lactoglicerol (ácido láctico:glicerol:agua destilada, 3:3:3 v/v) durante 24 h y se extendieron en cajas de Petri. Se contó el número de nematodos en cada sistema radical con un microscopio estereoscópico (Stemi DV4, Zeiss, Oberkochen, Alemania). Se consideró el número de nematodos por g de raíz (nematodos/g raíz) como variable.

Penetración de juveniles

Una vez que germinaron las semillas de cada tipo de chile evaluado (41-1, T74 y CM334), se trasplantaron en vasos de unicel con 118 cm^3 de arena estéril (una plántula por vaso y tres plantas por tipo de chile), se inocularon con 500 J2 cuando tenían de tres a cuatro pares de hojas y se retiraron de la arena a los 3, 9, 14 y 21 días después de la inoculación (ddi). Las raíces se enjuagaron cuidadosamente, se pesaron, se tiñeron con fucsina ácida, se sumergieron en lactoglicerol durante 24 h y se extendieron en cajas de Petri, como se señaló en el ensayo de prevalencia de inóculo; posteriormente, se contó el número total de nematodos, indistintamente del estadio, con un microscopio estereoscópico y se consideró la variable del ensayo anterior (nematodos/g raíz).

Respuesta histológica

Tres plántulas de cada tipo de chile (41-1, T74 y CM334) se trasplantaron de forma individual en el mismo tamaño de maceta y sustrato como en el ensayo de penetración de juveniles y se inocularon con 500 J2. Los muestreos de plantas se realizaron a los 3, 9, 14 y 21 ddi. Las raíces se enjuagaron cuidadosamente y se cortaron segmentos de 1-2 cm, seleccionados en referencia a la distancia en que se encontró al nematodo en el ensayo de penetración de juveniles. Las muestras se fijaron en FAA (formaldehido 10 %, ácido acético 5 %, etanol 50 % y agua destilada 35 %) durante 48 h (Johansen, 1940).

Las muestras se colocaron en un cambiador automático de tejidos (Tissue-Tek®, Sakura Finetek, Torrance, California, EUA) para su deshidratación, infiltración e inclusión en parafina. En esta etapa se hicieron cambios graduales del tejido en: alcohol 50, 70, 95 % (un cambio), 100 % (tres cambios), alcohol absoluto-xilol 1:1 v/v (un cambio), xilol 100 % (tres cambios) y parafina (dos cambios); cada uno con una duración de 4 h. Los segmentos de raíces se montaron de manera vertical en parafina Merck (punto de fusión 56 °C y solidificación 25 °C), en moldes de aluminio que se colocaron en una platina de calentamiento (Thermostat Lab-Line®, Cole-Parmer, Vernon Hills, Illinois, EUA) y se dejaron solidificar. Los bloques de parafina se despegaron de los moldes de aluminio, se cortaron en cuadros de 1-2 cm por lado y se pegaron en bases de madera; se colocaron las muestras individualmente en un micrótomo rotatorio (RM-212, Erma Inc., Yoshikawa, Japón) y se realizaron cortes transversales y longitudinales seriados de 10 µm de grosor. Se colocó formaldehido 3.7 % en portaobjetos impregnados de adhesivo de Haupt, y se montaron las laminillas en serie, mismas que se cortaron con el micrótomo. Los portaobjetos se colocaron sobre la platina de calentamiento durante 10 s para extender el tejido vegetal, se escurrió el exceso de formaldehido y se dejaron secar por 20 min; finalmente, los portaobjetos se colocaron sobre la platina a 26 °C durante 12 h.

A las muestras se les eliminó la parafina sumergiéndolas en una serie de alcoholes y xilenos de la siguiente manera: xilol 100 % (dos cambios), etanol 100 % (dos cambios), etanol 90, 70 y 50 % (un cambio) durante aproximadamente 1 min cada uno; posteriormente, los cortes se tiñeron con safranina 1 % en etanol durante 24 h. Transcurrido el tiempo, los portaobjetos, se sometieron a un lavado con etanol 50 % y 70 %, se les colocaron tres gotas de colorante verde rápido, se dejaron reposar durante 3-5 s y se enjuagaron con etanol 100 %; posteriormente, se sumergieron en etanol 100 % (dos cambios), xileno 100 % (dos cambios), se montaron con resina sintética (Hycel) y se colocaron en una plancha de calentamiento a 26 °C durante 24 h. Cada muestra se observó y analizó en un microscopio compuesto (American Optical Co., Vernon Hill, Illinois, EUA) y se tomaron fotografías con microscopio Rossbach y cámara Canon EOS50D. Se evaluaron los cambios celulares, número de células gigantes, número de núcleos por célula, tipo de tejido infectado y presencia o ausencia de células necróticas (respuesta de hipersensibilidad) alrededor de los individuos (Changkwian *et al*., 2019; Pegard *et al*., 2005).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos, que correspondieron a cada tipo de chile (41-1, CM334 y Tampiqueño 74) inoculado con *Mi*. Se tuvieron cuatro repeticiones para el ensayo de prevalencia de inóculo y tres repeticiones para los demás ensayos. La unidad experimental fue el sistema radical de una planta. Los datos numéricos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico univariado y prueba de normalidad Shapiro-

Wilk con el programa estadístico R (v. 4.4.0), análisis de varianza y prueba de comparación de medias Duncan (P ≤ 0.05) con el paquete estadístico SAS (v. 9.4).

RESULTADOS

Prevalencia del inóculo

El número de nematodos encontrados dentro de las raíces de plantas de T74 trasplantadas en el suelo infestado posterior a un ciclo de cultivo con los diferentes tipos de chile fue significativamente diferente (P ≤ 0.05) entre la variedad de chile susceptible T74 (164.25 ± 53.84 nematodos/g raíz) y los resistentes CM334 y línea 41-1 (4.0 ± 2.82 y 3.5 ± 2.06 nematodos/g raíz, respectivamente) (Figura 1).

Penetración

Los J2 de *Mi* penetraron las raíces de los tres tipos de chile evaluados, como se muestra en la Figura 2. A partir de los 3 ddi se observaron diferencias significativas (P ≤ 0.05) entre la variedad susceptible T74 (311.6 ± 96.20 nematodos/g raíz) y los chiles resistentes CM334 y 41-1 (66 ± 33.18 y 61 ± 4.58 nematodos/g raíz, respectivamente), excepto a los 14 ddi. Esta diferencia se incrementó a los 9 ddi, pero tuvo una disminución en el número de nematodos dentro de la raíz a los 14 ddi en T74. A los 21 ddi se encontró el número máximo de individuos en las raíces de la variedad susceptible T74 (524.6 ± 218.29 nematodos/g raíz), mientras que en los chiles resistentes CM334 y 41-1 no se incrementó el número de individuos desde los 9 ddi (35.3 ± 3.75 y 35.6 ± 14.97 nematodos/g raíz, respectivamente); así mismo, a los 21 ddi sólo se observaron juveniles en los chiles resistentes, mientras que en el chile susceptible (T74), además, se observaron hembras inmaduras (dato cualitativo).

Respuesta histológica

Las secciones transversales que se obtuvieron de las raíces de los tres tipos de chiles infectados con *Mi* exhibieron variaciones en la respuesta histológica a la infección del nematodo con una penetración desde los 3 ddi. En T74 se observaron algunas células binucleadas cerca del nematodo ubicado entre la corteza y el periciclo (Figura 3A). En la línea 41-1 el tejido radical mostró una reacción de hipersensibilidad (RH) de las células ubicadas alrededor de la parte anterior del nematodo o células del parénquima de la corteza (Figura 3B). De igual manera, en CM334 se distinguió una RH en células de la epidermis y de la corteza (Figura 3C).

Después de 9 ddi, las raíces de T74 se observaron con poco desarrollo del xilema en crecimiento primario y secundario, cada individuo provocó alteraciones de los tejidos del cilindro vascular, como hiperplasia e hipertrofia de células del periciclo y del floema; la hipertrofia de células del parénquima, alrededor de las células gigantes fue abundante y abarcó la parte interna del cilindro vascular; cada célula gigante se encontró bien diferenciada con más de 5 núcleos y citoplasma abundante (Figura 4A). En la línea 41-1, la RH se extendió desde la corteza hasta el cilindro vascular (Figura 4B), mientras que en CM334 la RH se limitó a la corteza (Figura 4C).

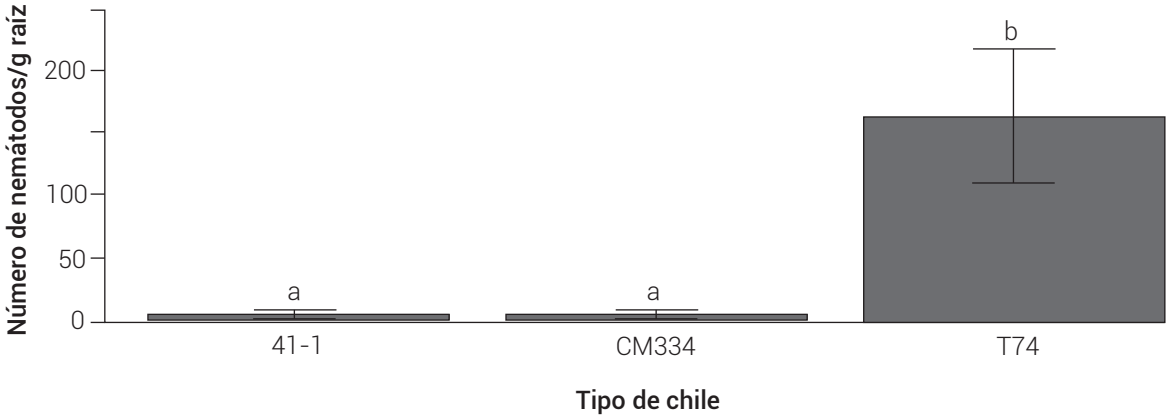


Figura 1. Número de nematodos por gramo de raíz de T74 (susceptible) a los 32 días después del trasplante en el suelo, donde se tuvo un ciclo de cultivo 80 días después de la inoculación de la línea 41-1, del chile resistente CM334 y de la variedad susceptible T74. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Duncan, P ≤ 0.05).

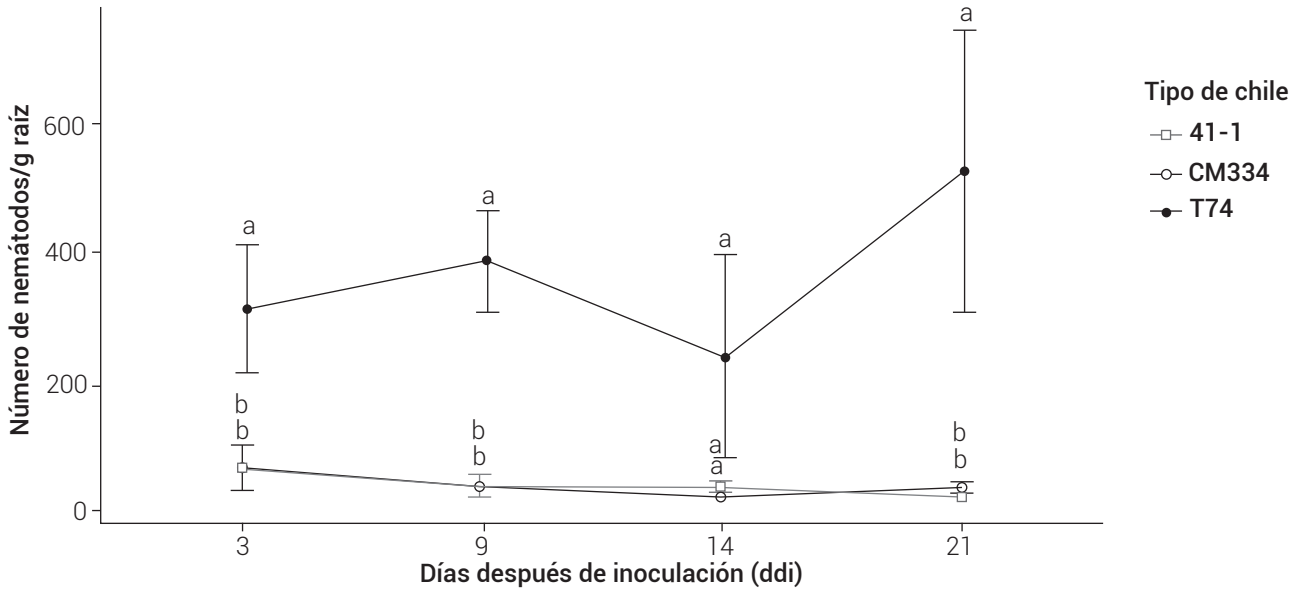


Figura 2. Nematodos por gramo de raíz en los tipos de chile T74 (susceptible), 41-1 y CM334 (resistentes) a los 3, 9, 14 y 21 días después de la inoculación. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Duncan, P ≤ 0.05).

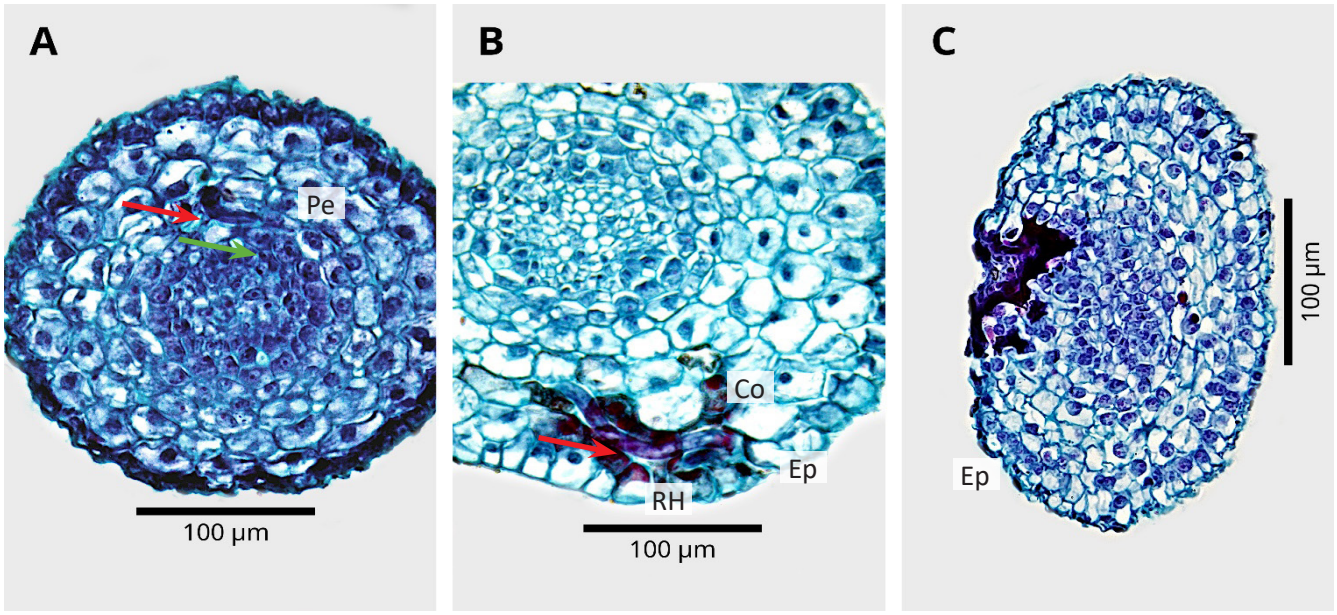


Figura 3. Secciones transversales de raíces de los tipos de chile serrano, (A) T74 susceptible, (B) línea 41-1 resistente, y (C) CM334 resistente, a los tres días después de la inoculación con *M. incognita*. Co: corteza, Ep: epidermis, Pe: periciclo, RH: reacción de hipersensibilidad, Flecha roja: nematodo, Flecha verde: célula binucleada.

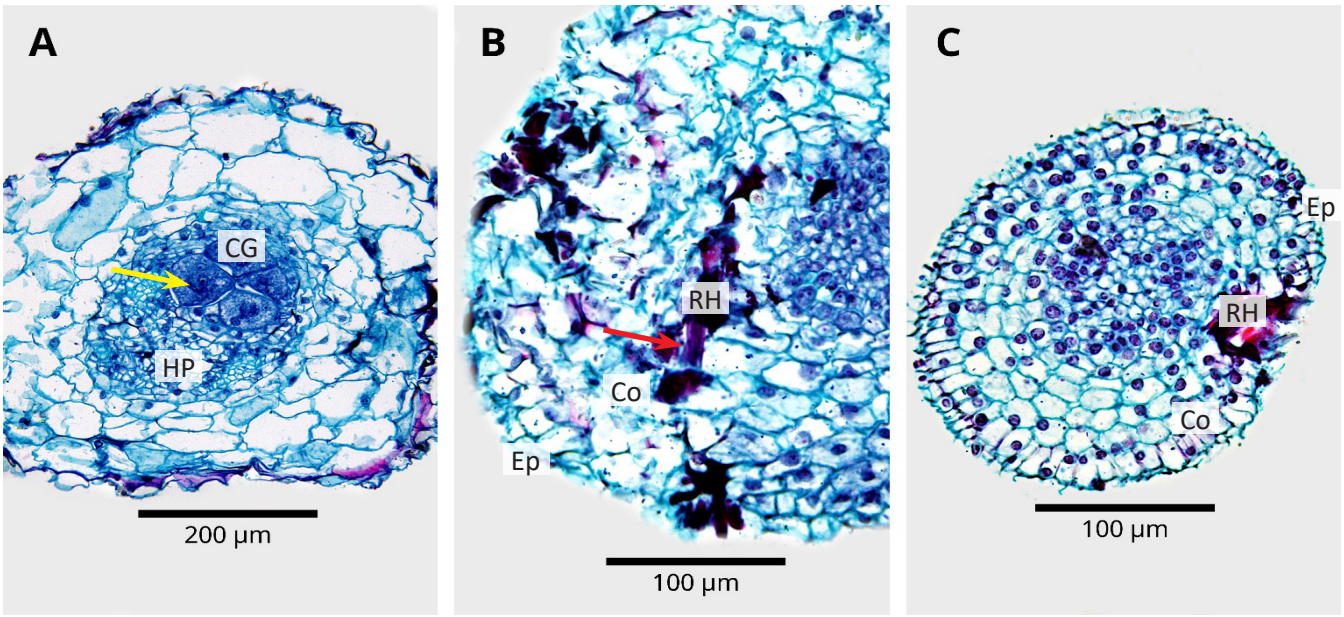


Figura 4. Secciones transversales de raíces de chile tipo serrano, (A) variedad T74 susceptible, (B) línea 41-1 resistente, y (C) CM334 resistente, a los nueve días después de la inoculación con *M. incognita*. Co: corteza, CG: células gigantes, Ep: epidermis, HP. hiperplasia, RH: reacción de hipersensibilidad, Flecha amarilla: núcleo, Flecha roja: nematodo.

A los 14 ddi, en T74 se observaron abundantes células gigantes que ocupaban todo el cilindro vascular con seis a 10 núcleos por célula y no se observó el periciclo (Figura 5A). En la línea 41-1 se observó la RH en la corteza interior y exterior (Figura 5B), y en CM334 se limitó solo a la corteza exterior (Figura 5C).

Finalmente, a los 21 ddi, en la variedad susceptible T74 se observaron células gigantes en casi todo el cilindro vascular, de tal manera que solo se observó un haz vascular funcional; sin embargo, entre los polos del tejido vascular de la raíz se observaron células funcionales, tanto de xilema como de floema (Figura 6A). Las líneas resistentes 41-1 y CM334 mostraron una RH similar a las observaciones antes mencionadas, donde se limitó a la corteza; por su parte, en T74 no se observó una RH. Cabe señalar que en las secciones transversales analizadas de los chiles resistentes no se observaron daños en el cilindro vascular (Figuras 6B y C).

También se observaron variaciones histológicas en las secciones longitudinales de las raíces de los diferentes tipos de chiles evaluados. En las raíces del chile CM334 se observó una RH alrededor del nematodo a los 14 ddi (Figura 7A), al igual que en la línea de chile 41-1, que se observó a los 9 ddi (Figura 7B). En la variedad de chile susceptible T74 se observó la formación de células gigantes a los 9 ddi, así como una hiperplasia muy marcada (Figura 7C); de igual manera, esta hiperplasia también se presentó en 41-1 a los 21 ddi, cuando el nematodo alcanzó el cilindro vascular (Figura 7D).

DISCUSIÓN

El comportamiento de la línea 41-1 fue muy similar al del CM334, el cual ya había sido reportado como resistente a *Mi* (Changkwian *et al.*, 2019; Pegard *et al.*, 2005). Esta respuesta se observó al disminuir la cantidad de nematodos en el suelo después de alternar un ciclo de cultivo entre la línea resistente 41-1 y la variedad susceptible T74. Estos resultados son similares a los del estudio realizado por Thies *et al.* (2004), donde observaron un menor número de individuos de *M. incognita* en los cultivares susceptibles (pepino y calabaza) después de sembrar un ciclo de cultivo con pimientos morrones resistentes. De igual forma, se observó un menor número de individuos dentro de cada raíz de los chiles resistentes 41-1 y CM334, esta baja penetración de juveniles de *Mi* en materiales resistentes ya se ha reportado anteriormente (Maquilan *et al.*, 2020; Padilla *et al.*, 2021; Villar-Luna *et al.*, 2015). La resistencia observada en la línea de chile 41-1 puede deberse a mecanismos bioquímicos que se activan después de la penetración de los J2, encargados de restringir el movimiento y desarrollo de éstos mediante la producción de sustancias como las fitoalexinas y el ácido clorogénico, reportadas en los patosistemas arroz-*M. graminicola* (Desmedt *et al.*, 2022) y CM334-*Meloidogyne* (Pegard *et al.*, 2005).

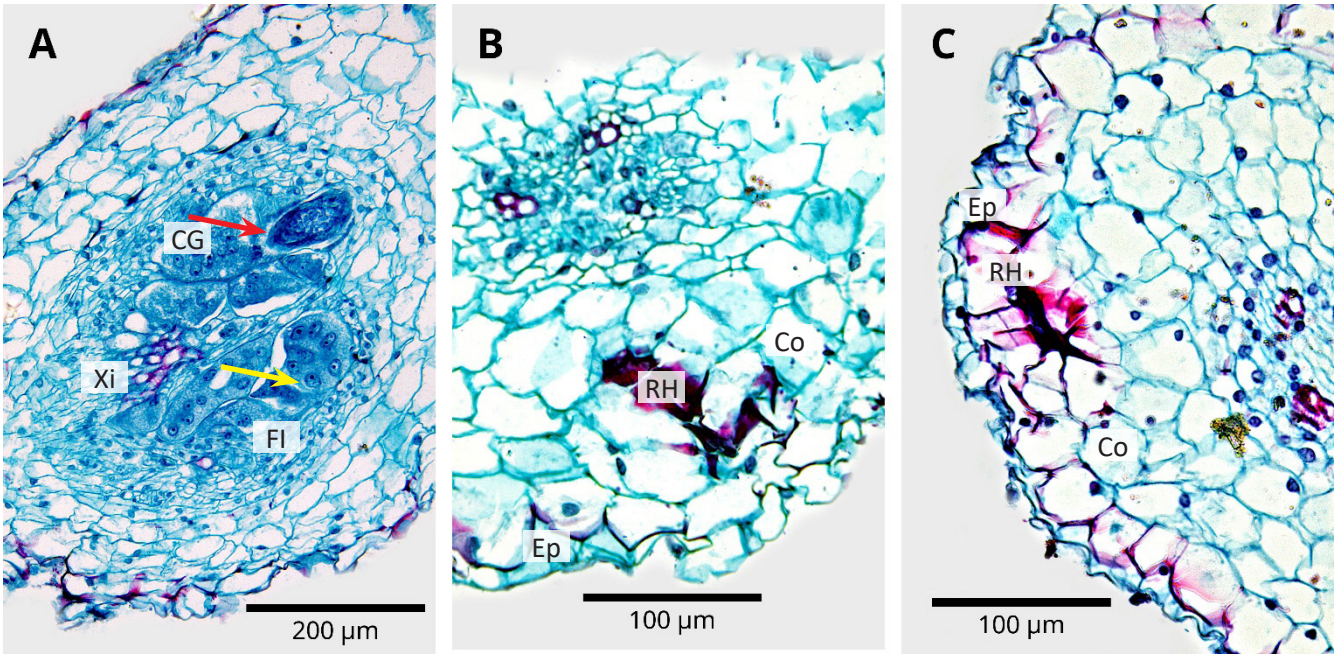


Figura 5. Secciones transversales de raíces de chile tipo serrano, (A) variedad T74 susceptible, (B) línea 41-1 resistente, y (C) CM334 resistente, a los 14 días después de la inoculación con *M. incognita*. Co: corteza, CG: células gigantes, Ep: epidermis, Fl: floema, RH: reacción de hipersensibilidad, Xi: xilema, Flecha amarilla: núcleo, Flecha roja: nematodo.

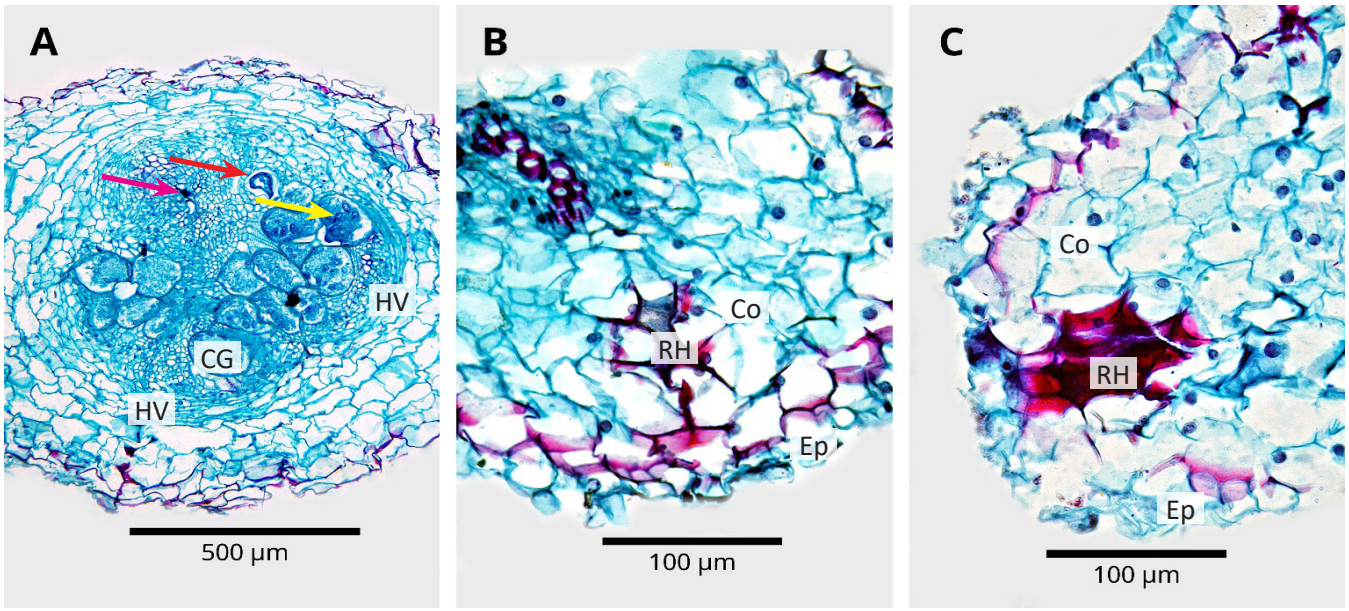


Figura 6. Secciones transversales de raíces de chile tipo serrano, (A) variedad susceptible T74, (B) línea 41-1 resistente, y (C) CM334 resistente, a los 21 días después de la inoculación con *M. incognita*. Co: corteza, CG: células gigantes, Ep: epidermis, HV: haz vascular, RH: reacción de hipersensibilidad, Flecha amarilla: núcleo, Flecha morada: haz vascular funcional, Flecha roja: nematodo.

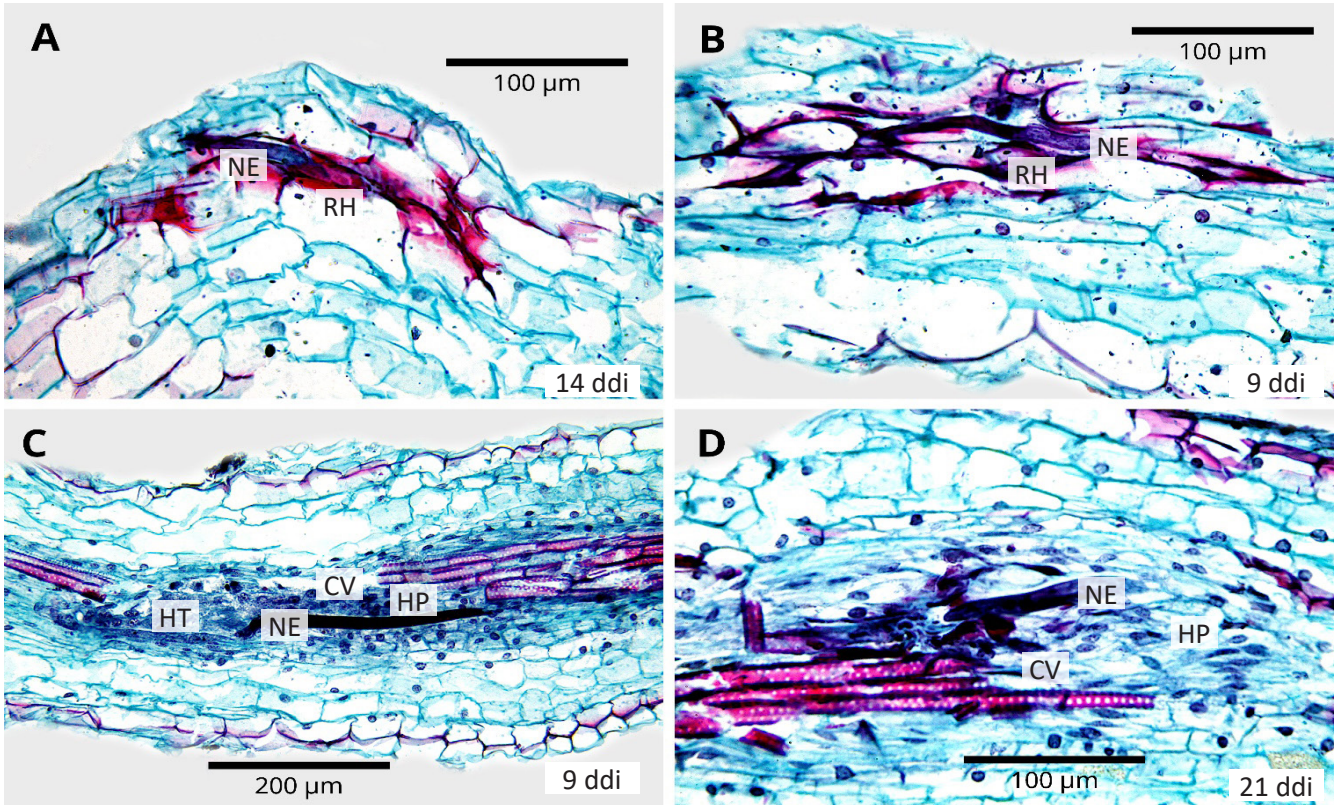


Figura 7. Secciones longitudinales de raíces, (A) CM334, (B y D) línea 41-1, y (C) T74, inoculadas con *M. incognita*. ddi: días después de la inoculación, CV: cilindro vascular, HP. hiperplasia, HT: hipertrofia, NE: nematodo, RH: reacción de hipersensibilidad.

La RH que se observó en la línea 41-1 alrededor del nematodo a los 3 ddi la describió Huysmans *et al.* (2017) como una consecuencia por la producción de fitoalexinas que influyen en la muerte celular, y por lo tanto, evitan el avance del nematodo y su infección. De igual manera, en CM334 se observó una RH que ya fue descrita en otros estudios (Changkwian *et al*., 2019; Pegard *et a*l., 2005). En general, se señala que la RH es una respuesta hiperactiva en estos chiles, al igual que en otros materiales resistentes (Mashela *et al*., 2016), y no permite la formación de sitios de alimentación ni la deformación del cilindro vascular.

No obstante, en la línea de chile 41-1 el nematodo logró llegar al cilindro vascular a los 21 ddi y causó hiperplasia y la formación de pequeñas células alargadas de las que posiblemente intentó alimentarse. A estas pequeñas células se les considera como células gigantes poco desarrolladas, y son típicas de materiales resistentes a nematodos agalladores (Escobar y Fenoll, 2021; Pedrosa *et al*., 1996; Wehner *et al*., 1991), incluso en la línea CM334 también se han reportado de forma reducida (Changkwian *et al*., 2019). La falta o la forma pequeña de las células gigantes puede ocasionar la muerte de los juveniles, su bajo desarrollo o la baja producción de huevos en las hembras por falta de alimento (Postnikova *et al*., 2015; Rutter *et al*., 2022). Cabe mencionar que en los resultados de penetración del presente estudio se observó un retraso en el desarrollo de *Mi* en los materiales resistentes (41-1 y CM334), dado que todos los nematodos encontrados dentro de la raíz a los 21 ddi fueron juveniles, resultados que coinciden con los reportados por Hernandez-Ochandía *et al.* (2021) en una variedad de frijol con resistencia a *M. incognita*, quienes señalaron que esto representa una reducción en el inóculo para el siguiente cultivo.

En contraste con las líneas de chile resistentes, en la variedad susceptible T74 las células binucleadas encontradas se observaron en una etapa temprana de diferenciación del sitio de alimentación, lo que se considera un signo de interrupción del desarrollo celular por parte del nematodo, ya que la célula nunca se divide en dos (Abad *et al*., 2009; Caillaud *et al*., 2008). Los cambios histológicos en esta variedad se incrementaron a través de los días hasta modificar el cilindro vascular, alteraciones que pueden obstruir el transporte de agua y nutrientes en la planta al provocar la desintegración de tejidos del floema y del xilema (Siddiqui *et al*., 2014).

El presente estudio evidencia que la línea de chile 41-1 resistente a *M. incognita* puede ser un material útil para el manejo de esta especie de nematodo, ya sea solo o en sistemas de doble cultivo con cualquier otro material susceptible. Actualmente, los materiales resistentes son de importancia como un método eficaz de control por obtener mayores rendimientos y ser amigables con el ambiente (Subedi *et al*., 2020).

CONCLUSIONES

La línea de chile Serrano 41-1 tiene un comportamiento similar al chile Criollo de Morelos CM334 resistente a *M. incognita* por la reacción de hipersensibilidad que presentó en la corteza de la raíz, la ausencia de sitios de alimentación, el bajo número de juveniles encontrado dentro de las raíces y la baja prevalencia del inóculo después de un ciclo de cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por la beca otorgada al primer autor.

BIBLIOGRAFÍA

Abad P., P. Castagnone-Sereno, M. N. Rosso, J. A. Engler and B. Favery (2009) Invasion, feeding and development. *In*: Root-Knot Nematodes. R. N. Perry, M. Moens and J. L. Starr (eds.). CAB International. Wallingford, UK. pp:163-181.

Ayaz M., J. T. Zhao, W. Zhao, Y. K. Chi, Q. Ali, F. Ali, … and W. K. Huang (2024) Biocontrol of plant parasitic nematodes by bacteria and fungi: a multi-omics approach for the exploration of novel nematicides in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology* 15:1433716, https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1433716

Barchenger D. W. and P. W. Bosland (2019) Wild chile pepper (*Capsicum* L.) of North America. *In*: North American Crop Wild Relatives. S. L. Greene, K. A. Williams, C. K. Khoury, M. B. Kantar and L. F. Marek (eds.). Springer. Cham, Switzerland. pp:225-242, https://doi.org/10.1007/978-3-319-97121-6_7

Bartlem D. G., M. G. K. Jones and U. Z. Hammes (2014) Vascularization and nutrient delivery at root-knot nematode feeding sites in host roots. *Journal of Experimental Botany* 65:1789-1798, https://doi.org/10.1093/jxb/ert415

Bybd D. W., T. Kirkpatrick and K. R. Barker (1983) An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *The Journal of Nematology* 15:142-143.

Caillaud M. C., P. Lecomte, F. Jammes, M. Quentin, S. Pagnotta, E. Andrio, … and B. Favery (2008) MAP65-3 microtubule-associated protein is essential for nematode-induced giant cell ontogenesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 20:423-437, https://doi.org/10.1105/tpc.107.057422

Changkwian A., J. Venkatesh, J. H. Lee, J. W. Han, J. K. Kwon, M. I. Siddique, … and B. C. Kang (2019) Physical localization on the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) resistance locus *Me7* in pepper (*Capsicum annuum*). *Frontiers in Plant Science* 10:886, https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00886

De la Rosa M., L. Arce, J. A. Villarreal, L. Ibarra y J. Lozano (2012) Germinación de semillas de chile simojovel (*Capsicum annuum* L.) previamente expuestas a NaCl y ácido giberélico. *Phyton, Revista Internacional de Botánica Experimental* 81:165-168.

Desmedt W., E. N. Kudjordjie, S. N. Chavan, J. Zhang, R. Li, B. Yang, … and T. Kyndt (2022) Rice diterpenoid phytoalexins are involved in defence against parasitic nematodes and shape rhizosphere nematode communities. *New Phytologist* 235:1231-1245, https://doi.org/10.1111/nph.18152

Escobar C. and C. Fenoll (2021) Compatible interactions between plants and endoparasitic nematodes–a follow-up of ABR volume 73: plant nematode interactions–a view on compatible interrelationships. *Advances in Botanical Research* 100:237-248, https://doi.org/10.1016/bs.abr.2021.03.001

Giri B., R. Rawat, G. Saxena, P. Manchanda, Q. S. Wu and A. Sharma (2022) Effect of *Rhizoglomus fasciculatum* and *Paecilomyces lilacinus* in the biocontrol of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in *Capsicum annuum* L. *Communicative and Integrative Biology* 15:75-87, https://doi.org/10.1080/19420889.2021.2025195

Gómez-Rodríguez O., T. Corona-Torres and V. H. Aguilar-Rincón (2017) Differential response of pepper (*Capsicum annuum* L.) lines to *Phytophthora capsici* and root-knot nematodes. *Crop Protection* 92:148-152, https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.023

Hernandez-Ochandía D., D. García P., I. Miranda C. y M. G. Rodríguez H. (2021) Ciclo de vida de *Meloidogyne incognita* (KOFOID Y WHITE) Chitwood en dos cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. *Revista de Protección Vegetal* 36:1-5.

Herrera-Parra E., J. Ramos-Zapata, C. Basto-Pool y J. Cristobal-Alejo (2021) Respuesta de chile dulce (*Capsicum annuum*) a la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares nativos y al parasitismo del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. *Revista Bio Ciencias* 8:e982, https://doi.org/10.15741/revbio.08.e982

Huysmans M., S. Lema, N. S. Coll and M. K. Nowack (2017) Dying two deaths – programmed cell death regulation in development and disease. *Current Opinion in Plant Biology* 35:37-44, https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.11.005

Johansen D. A. (1940) Plant Microtechnique. McGraw_Hill. New York, USA. 523 p.

Lee I. H., H. S. Kim, K. J. Nam, K. L. Lee, J. W. Yang, S. S. Kwak, … and Y. H. Kim (2021) The defense response involved in sweetpotato resistance to root-knot nematode *Meloidogyne incognita:* comparison of root transcriptomes of resistant and susceptible sweetpotato cultivars with respect to induced and constitutive defense responses. *Frontiers in Plant Science* 12:671677, https://doi.org/10.3389/fpls.2021.671677

Maquilan M. A. D., D. C. Padilla, D. W. Dickson and B. Rathinasabapathi (2020) Improved resistance to root-knot nematode species in an advanced inbred line of specialty pepper (*Capsicum annuum*). *HortScience* 55:1105-1110, https://doi.org/10.21273/HORTSCI14921-20

Martínez E. M. (2019) Los chiles, su importancia más allá de tenerlos en la mesa. *Desde el Herbario CICY* 11:108-112.

Mashela P. W., A. R. Ndhlala, K. M. Pofu and Z. P. Dube (2016) Phytochemicals of nematode-resistant transgenic plants. *In*: Transgenesis and Secondary Metabolism. Reference Series in Phytochemistry. S. Jha (ed.). Springer. Cham, Switzerland. pp:1-16, https://doi.org/10.1007/978-3-319-27490-4_26-1

Meena R. S., S. Kumar, R. Datta, R. Lal, V. Vijayakumar, M. Brtnicky, … and T. D. Marfo (2020) Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: a review. *Land* 9:34, https://doi.org/10.3390/land9020034

Mhatre P. H., C. Karthik, K. Kardirvelu, K. L. Divya, E. P. Venkatasalam, S. Srinivasan, … and R. Shanmuganathan (2019) Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a potential alternative tool for nematodes bio-control. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 17:119-128, https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.009

Padilla D. C., D. A. H. de Sá Leitao, D. W. Dickson and B. Rathinasabapathi (2021) Biological interactions between root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and pepper (*Capsicum annuum*). *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 134:103-106

Pedrosa E. M. R., R. S. Hussey and H. R. Boerma (1996) Cellular responses of resistant and susceptible soybean genotypes with *Meloidogyne arenaria* races 1 and 2. *Journal of Nematology* 28:225-232.

Pegard A., G. Brizzard, A. Fazari, O. Soucaze, P. Abad and C. Djian-Caporalino (2005) Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation

in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 95:158-165, https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0158

Postnikova O. A., M. Hult, J. Shao, A. Skantar and L. G. Nemchinov (2015) Transcriptome analysis of resistant and susceptible alfalfa cultivars infected with root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *PLoS ONE* 10:e0118269, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118269

Rutter W. B., J. Franco and C. Gleason (2022) Rooting out the mechanisms of root-knot nematode-plant interactions. *Annual Review of Phytopathology* 60:43-76, https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-021621-120943

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2024) Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/ (Junio 2024).

Siddiqui Y., A. Ali and Y. Naidu (2014) Histopathological changes induced by *Meloidogyne incognita* in some ornamental plants. *Crop Protection* 65:216-220, https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.08.001

Subedi S., B. Thapa and J. Shrestha (2020) Root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and its management: a review. *Journal of Agriculture and Natural Resources* 3:21-31, https://doi.org/10.3126/janr.v3i2.32298

Thies J. A., R. F. Davis, J. D. Mueller, R. L. Fery, D. B. Langston and G. Miller (2004) Double-cropping cucumbers and squash after resistant bell pepper for root-knot nematode management. *Plant Disease* 88:589-593, https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.6.589

Tripodi P. and S. Kumar (2019) The capsicum crop: an introduction. *In*: The Capsicum Genome. N. Ramchiary and C. Kole (eds.). Springer. Cham, Switzerland. pp:1-8, https://doi.org/10.1007/978-3-319-97217-6_1

Villar-Luna H., B. Reyes-Trejo, O. Gómez-Rodríguez, E. Villar-Luna y E. Zavaleta-Mejia (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

Villar-Luna H., T. Corona-Torres, F. Castillo-González, O. Gómez-Rodríguez, O. Segura-León y V. H. Aguilar-Rincón (2022) Genética de la resistencia a *Phytophthora capsici* de la línea de chile 41-1 (*Capsicum annuum*). *Revista Fitotecnia Mexicana* 45:211-217, https://doi.org/10.35196/rfm.2022.2.211

Vrain T. C. (1977) A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inoculum. *The Journal of Nematology* 9:249-251.

Wehner T. C., S. A. Walters and K. R. Barker (1991) Resistance to root-knot nematodes in cucumber and horned cucumber. *Journal of Nematology* 23:611-614.