

Mecanismos de Defensa del Chile en el Patosistema *Capsicum annuum-Phytophthora capsici*

Chili Defense Mechanisms in the *Capsicum annuum-Phytophthora capsici* Pathosystem

Arturo Castro Rocha, Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Envoltante del PRONAF y Estocolmo s/n, Ciudad Juárez, Chih., CP 32310, México; **Sylvia Patricia Fernández Pavía**, Laboratorio de Patología Vegetal, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro, Mich., CP 58880, México; **Pedro Osuna Ávila**, Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Envoltante del PRONAF y Estocolmo s/n, Ciudad Juárez, Chih., CP 32310, México. Correspondencia: osunapedro@hotmail.com

(Recibido: Noviembre 20, 2011 Aceptado: Febrero 08, 2012)

Castro RA, Fernández PSP y Osuna AP. 2012. Mecanismos de defensa del chile en el patosistema *Capsicum annuum-Phytophthora capsici*. Revista Mexicana de Fitopatología 30:49-65.

Resumen. El chile es una hortaliza cultivada a nivel mundial que se caracteriza por sus frutos pungentes. *Phytophthora capsici* es uno de los principales factores limitantes en la producción de varias hortalizas, entre las que se encuentra el chile. Este patosistema ha sido ampliamente estudiado; sin embargo, los problemas que este ocasiona aún están lejos de solucionarse, debido entre otras cosas, a la variabilidad del patógeno. El descubrimiento de cultivares resistentes (Criollo de Morelos 334) ha permitido conocer más a fondo los mecanismos que emplean las plantas de chile para defenderse de este fitopatógeno. Se ha generado gran cantidad de información sobre esta interacción, por lo que el objetivo de esta revisión es presentar los avances que se han tenido en el entendimiento de esta relación planta-patógeno, con el fin de dar rumbo a las nuevas investigaciones.

Palabras clave adicionales: CM-334, Oomycete, marchitez del chile.

El chile (*Capsicum* spp.), también conocido como ají, pimiento, chiltoma o morrón, es una hortaliza cultivada en todo el mundo que se caracteriza por sus frutos pungentes, aunque existen variedades con frutos dulces. El chile es el condimento de mayor importancia económica en el mundo. Se consume como fruto fresco, deshidratado o procesado en distintos tipos de comidas, sus capsicinoides tienen uso medicinal y sus frutos maduros son una fuente importante de pigmentos (Ortiz *et al.*, 2010). Existen cinco especies de *Capsicum* que se cultivan en el mundo, siendo *C. annuum* la de mayor consumo. *Phytophthora capsici* causa la enfermedad más devastadora en chile a nivel mundial

Abstract. Chili is a worldwide cultivated crop known for its pungent fruits. *Phytophthora capsici* is currently known to be the limiting factor in the production of many crops, including pepper. This pathosystem has been widely studied yet the problems caused by it are far from being solved, in part due to the variability of the pathogen. The discovery of resistant cultivars (Criollo de Morelos 334) has allowed us to learn more about the mechanisms used by chili plants to defend from this phytopathogen. A great deal of information has been generated about this interaction, therefore the objective of this review is to present the findings about this plant-pathogen relationship to give direction to new research.

Additional keywords: CM-334, Oomycete, chili wilt.

Résumé. Le piment est un légume cultivé au niveau mondial et connu pour ses fruits piquants. *Phytophthora capsici* est l'un des principaux facteurs limitants dans la production de plusieurs légumes, parmi lesquels la flétrissure du piment. Ce pathosystème a été largement étudié; cependant les problèmes occasionnés sont encore loin d'être résolu, dus entre autres aspects, à la variabilité de l'agent pathogène. La découverte de cultivars résistants (Criollo de Morelos 334) a permis de mieux comprendre les mécanismes utilisés par les plants de piment pour se défendre contre ce pathogène. Un grand nombre d'informations sur cette interaction a pu être générée. Le but de cette revue est de présenter les progrès qui dérivent de la compréhension de cette relation plante-pathogène, afin de laisser la place à de nouvelles recherches.

Mots clés supplémentaires: CM-334, Oomycètes, flétrissure du piment.

The chile, (*Capsicum* spp.), also known as chili, pepper, sweet pepper or pimiento, is a vegetable cultivated throughout the world, characterized by its pungent fruit;

(Ristaino y Johnston, 1999), conocida como marchitez del chile. Aunque hay varias fuentes de resistencia genética a *Phytophthora* en chiles, existe una gran interrogante sobre la especificidad de la relación genotipo/aislado del patógeno, el número de genes que controlan la resistencia a este patógeno y la efectividad de esta resistencia. Solamente el chile tipo serrano Criollo de Morelos 334 (CM-334) es considerado como universalmente resistente, sin importar la agresividad del aislado ni las condiciones ambientales (Sarath *et al.*, 2011). Se han identificado seis regiones cromosómicas mayores involucradas en la resistencia de esta planta hacia el ataque de patógenos. El factor de resistencia localizado en el cromosoma cinco es compartido por las plantas de chile resistentes y se cree que confiere la resistencia contra Oomycetes en general (Thabuis *et al.*, 2004). Se han realizado una gran cantidad de investigaciones para dilucidar los mecanismos de resistencia en las plantas de chile a *P. capsici*, no obstante, aún falta mucho para comprender por completo esta interacción. El objetivo de esta revisión es presentar los avances que se han tenido en el entendimiento de los mecanismos de defensa en este patosistema.

¿Por qué es importante estudiar este patosistema? En México, al igual que en el resto del mundo, la marchitez del chile producida por *P. capsici* es un problema grave para los productores de esta hortaliza. Se ha reportado su presencia en el norte-centro del país en los estados de Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Morelos y Estado de México (Pérez *et al.*, 2003; Velásquez *et al.*, 2001), al sur del estado de Chihuahua donde mostró una gran severidad contra el chile tipo jalapeño (Silva *et al.*, 2009; Guigón y González, 2001) y al sur del país en el estado de Oaxaca incidiendo sobre cultivos de “chile de agua” (Vásquez *et al.*, 2009) y en el estado de Guerrero (Pérez *et al.*, 2003). Rodríguez *et al.* (2004) reportaron que el grado de patogenicidad de los aislados de *P. capsici* no sigue un patrón definido de distribución y que aislados con diferentes grados de patogenicidad conviven en el mismo espacio.

Conociendo al enemigo: ¿Qué son los Oomycetes?

Los Oomycetes son un grupo diverso de organismos eucariotas con una amplia distribución. Colonizan montañas, desiertos, ambientes acuáticos y hasta la Antártica. Sin embargo, se conoce poco sobre ellos (Thines y Kamoun, 2010). Este grupo de organismos miceliales pertenecen al reino Stramenopila (Blair *et al.*, 2008; West *et al.*, 2003; Tyler, 2001), que representan una línea evolutiva única y distante de los hongos verdaderos. El carácter unificador del Reino Stramenopila es el flagelo anterior de tipo oropel, el cual porta dos filas de vellosidades tubulares tripartitas y que está presente en el aparato flagelar heteroconto de las zoosporas (Moore, 2002; Dick, 2001). Una característica común de todos los Oomycetes es su habilidad para absorber nutrientes directamente (osmótrofos), motivo por el cual se agrupaban con los hongos verdaderos, con los cuales comparten varias características tales como el desarrollo de hifas y la dispersión por medio de esporas mitóticamente formadas (Thines y Kamoun, 2010). Sin embargo, además de

although, there are varieties with sweet fruit. The chile is the most economically important spice worldwide. It is consumed as fresh fruit, dried or processed in different types of food; its capsaicinoids are for medicinal utilization, and its ripe fruit are an important source of pigments (Ortiz *et al.*, 2010). A total of five *Capsicum* species are grown worldwide, being *C. annuum* the most commonly consumed. The chile most devastating disease in the world is caused by *Phytophthora capsici* (Ristaino and Johnston, 1999), known as chile wilt. Even though there are several genetically resistant sources to *Phytophthora* in chile, a big question about the pathogen genotype / isolate specificity stands, as well as the number of genes controlling the resistance to this pathogen and the effectiveness of such resistance. Only the serrano chile creole type 334 from Morelos (CM-334) is regarded as universally resistant, regardless isolation aggressiveness or the environmental conditions (Sarath *et al.*, 2011). Six major chromosomal regions involved in plant resistance to the attack of the pathogen have been identified. The resistance factor located in chromosome five is shared by resistant chile plants, and it is believed to confer resistance against Oomycetes in general (Thabuis *et al.*, 2004). A great deal of research looking forward to elucidate the resistance mechanisms in chile plants to *P. capsici* has been performed; nonetheless, much remains to reach a fully comprehension of such interaction. The present study is aimed to describe the advances in understanding the defense mechanisms in this pathosystem.

Why is it so important to study this pathosystem?

The chile wilt caused by *P. capsici* in Mexico, as in the rest of the world, is a major problem for the growers of this vegetable. Its presence in the north-center side of the country has been reported in the states of Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Morelos and the state of Mexico (Pérez *et al.*, 2003; Velásquez *et al.*, 2001); in the southern region of the state of Chihuahua, where it showed a great deal of severity against the jalapeno chile type (Silva *et al.*, 2009; Guigón and González, 2001), and in the southern region of the state of Oaxaca, affecting the crops of “chile de agua” (Vásquez *et al.*, 2009), as well as in the state of Guerrero (Pérez *et al.*, 2003). It was reported by Rodríguez *et al.* (2004) that the *P. capsici* isolates pathogenicity does not follow a definite distribution pattern, and that isolates with different degrees of pathogenicity get to coexist in the same space.

Knowing the enemy: What are the oomycetes?

The Oomycetes are a diverse group of eukaryotic organisms with a wide range of distribution. They get to colonize mountains, deserts, aquatic environments and even the Antarctica. Nevertheless, only little is known about them (Thines and Kamoun, 2010). This group of mycelia organisms belong to the Stramenopila kingdom (Blair *et al.*, 2008; West *et al.*, 2003; Tyler, 2001), which represent a unique evolutionary line distant from the true fungi. The Stramenopila kingdom unifying character is the scourge type previous tinsel, which carries two rows of tripartite tubular hairs, being present in the zoospores heterokonto flagella apparatus (Moore, 2002; Dick, 2001). A common

dispersarse por medio de zoosporas y de producir oosporas sexuales con paredes celulares gruesas, poseen otras características tales como celulosa (β -1,4-glucano) en sus paredes celulares, diploidía vegetativa, flagelos heterocontos, crestas mitocondriales tubulares y, en el caso de las especies del género *Phytophthora*, la falta de epoxidación del escualeno para la síntesis de esteroides, que los distinguen de los hongos verdaderos. Filogenéticamente, están relacionados a las algas heterocontas tales como las crisofitas y las diatomeas (West *et al.*, 2003). Varios grupos de Oomycetes han evolucionado en patógenos altamente adaptados afectando organismos en Reinos eucariotas tan diversos como los Alveolata, Animalia, Mycota, Stramenipila y Plantae (Thines y Kamoun, 2010; Tyler, 2001). La mayoría de los Oomycetes son parásitos de plantas, y algunas especies ocasionan enfermedades en plantas de importancia económica (Thines y Kamoun, 2010).

Debido a la fisiología de los Oomycetes, la mayoría de los fungicidas no tienen efecto sobre ellos. Por ejemplo, aquellos fungicidas que interrumpen la biosíntesis del ergosterol, ya que los Oomycetes no sintetizan esteroides, los adquieren de sus hospedantes. Además, los Oomycetes presentan una extraordinaria flexibilidad genética que les permite rápidamente adaptarse y desarrollar resistencia a fungicidas y a la resistencia genética en plantas (Tyler, 2001). La resistencia a químicos como el metalaxyl, un fungicida sistémico que interfiere con la incorporación de uridina en la síntesis de RNA (Davidse *et al.*, 1983), se ha desarrollado en varias especies de Oomycetes por lo que su uso requiere de un manejo adecuado para preservar la utilidad del fungicida (Tyler, 2001).

Los Oomycetes se reproducen tanto sexual como asexualmente. El ciclo asexual se caracteriza por la producción de esporangios. Los zoosporangios del género *Phytophthora* se forman en medios acuosos, usualmente cuando las temperaturas bajan. Las zoosporas liberadas nadan en el agua en busca de tejidos vegetales (semillas, raíces, tallos u hojas) en donde establecerse y enquistarse. Los quistes germinan desarrollando un tubo germinal que puede penetrar directamente al hospedante o por medio de la formación de un apresorio o una estructura similar a un apresorio. Utilizando los nutrientes adquiridos de la planta, las hifas del oomycete se ramifican en los tejidos vegetales formando micelio, el cual produce nuevos esporangios con lo cual se repite el ciclo de infección. La rapidez con que esto ocurre permite a este patógeno repetir múltiples veces su ciclo asexual durante el transcurso del desarrollo de una planta. El ciclo sexual genera oosporas de pared celular gruesa que están adaptadas para sobrevivir bajo condiciones ambientales adversas. La oosporogénesis involucra la producción y fusión del oogonio (gametangio femenino) y del anteridio (gametangio masculino) que da como resultado el desarrollo de una oospora. Estas pueden permanecer en latencia durante largos periodos de tiempo y suelen sobrevivir en el suelo aun después del invierno, para después germinar cuando las condiciones ambientales sean las adecuadas formando uno o varios tubos germinales. Estos tubos germinales pueden formar esporangios, con lo

nutrientes (osmotrofos), which is why they grouped themselves with the fungi, which they share several characteristics with, such as hyphae development and spores spread through mitotically formed (Thines and Kamoun, 2010). However, in addition to its ability to disperse through zoospores and to produce sexual Oospores with thick cell walls, they also have other features, such as cellulose (β -1, 4-glucan) in its cell walls, vegetative diploid, heterokont flagella, tubular mitochondrial cristae and, in the case of *Phytophthora* genus species, the lack of squalene epoxidation for sterols synthesis, which distinguishes them from true fungi. They are phylogenetically related to heterocontas algae, such as crysophytes and diatoms (West *et al.*, 2003). Several oomycete pathogens have evolved in highly evolved pathogens, affecting organisms in eukaryotic kingdoms as diverse as Alveolata, Animalia, Mycota, Stramenipila and Plantae (Thines and Kamoun, 2010; Tyler, 2001). Most of the Oomycetes are plant parasites, and diseases on plants of economical relevance are caused by some species (Thines and Kamoun, 2010).

Most of the fungicides have had no effect on the Oomycetes, due to their physiology; as an instance, those fungicides interrupting ergosterol biosynthesis, since sterols are not synthesized by Oomycetes, but acquire them from their host. Additionally, the Oomycetes have an extraordinary genetic flexibility that allows them to quickly adapt and develop resistance to fungicides, as well as genetic resistance in plants (Tyler, 2001). Resistance to chemicals, such as metalaxyl, a systemic fungicide that interferes with uridine addition in RNA synthesis (Davidse *et al.*, 1983), has developed itself in several Oomycetes species. Therefore, a proper handling aimed to preserve the fungicide usefulness is required for their usage (Tyler, 2001).

Oomycetes reproduce themselves both sexually and asexually. The asexual cycle is characterized by sporangia production. The zoosporangia *Phytophthora* genus is formed in an aqueous media, usually as temperature drops. The released zoospores swim in water searching for plant tissues (seeds, roots, stems or leaves), where to settle and become entrenched. The germinate cysts develop a germ tube that can penetrate the host directly or through the formation of an appressorium or a structure similar to an appressorium. Using the nutrients acquired from the plant, the oomycete hyphae branches itself into the plant tissues forming mycelium and producing new sporangia, repeating the infection cycle, thus. The quickness under which this occurs allows this pathogen to repeat multiple times its asexual cycle during the course of the plant development. Thick cell wall oospores are produced by the sexual cycle which is adapted to survive through adverse environmental conditions. The oosporegenesis involves the oogonium production and fusion (female gametangium), and antheridium (male gametangium), resulting in an oospore development. These may remain dormant for long periods of time and usually survive in soil even after winter, only to germinate once the environmental conditions are adequate forming one or more germ tubes. These germinal tubes can form sporangia, which can restart the oomycete asexual life

cual se puede comenzar de nuevo el ciclo de vida asexual del oomycete (West *et al.*, 2003).

La interacción planta-oomycete: ¿Cómo funciona? Los Oomycetes pueden formar hifas especializadas, llamadas haustorios, que penetran las paredes celulares de las plantas y que permiten la asimilación de nutrientes de las células del hospedante. Estas estructuras también secretan un amplio espectro de proteínas efectoras que entran en las células del hospedante y que alteran las respuestas de defensa y metabolismo celular (Dodds, 2010). Al igual que otros fitopatógenos, los Oomycetes atacan a sus hospedantes secretando un arsenal de proteínas, colectivamente conocidas como efectores, cuyo blanco son las moléculas producidas por las células vegetales, alterando así sus procesos fisiológicos (Thines y Kamoun, 2010).

Los estudios sobre las interacciones planta-patógeno se enfocan en gran parte al estudio de genes de avirulencia (Avr) (Tyler, 2001). Los genes que determinan la resistencia y la susceptibilidad en las plantas son complementarios a los genes que determinan la virulencia y la avirulencia en los patógenos (Madriz, 2002). Los genes Avr codifican productos que son detectados por los sistemas de defensa de las plantas, específicamente por receptores codificados por los genes de resistencia (R) de éstas. Si los productos de los genes Avr del patógeno son detectados por los de los genes R de la planta, entonces se desencadena la respuesta de resistencia. Si los mecanismos de defensa de la planta son incapaces de detectar los productos de los genes Avr, entonces la planta es susceptible a ser infectada. Se ha encontrado que muchos genes de avirulencia de los Oomycetes se encuentran agrupados. Este agrupamiento sugiere que los genes involucrados en el proceso de infección puedan estar en lo que se denominarían “islas de patogenicidad” (Tyler, 2001).

El género *Phytophthora*. Las especies del género *Phytophthora* son fitopatógenos devastadores tanto en agroecosistemas como en ecosistemas naturales (Blair *et al.*, 2008). El género *Phytophthora* es responsable de algunas de las más serias enfermedades en plantas (Schena y Cooke, 2006), tales como la pudrición de raíz de la soya (Tang *et al.*, 2011), la pudrición de raíz del tomate (Quesada y Hausbeck, 2010), la marchitez de la pimienta (Truong *et al.*, 2010), la marchitez del chile (Ogundiwin *et al.*, 2005) y la muerte repentina del roble (Martin y Tooley, 2003). Debido a su significativo impacto económico y ambiental, el interés por los aspectos genéticos y genómicos de estos Oomycetes ha aumentado. De igual manera, se han incrementado los esfuerzos por recopilar la información fenotípica y genotípica de este género (Blair *et al.*, 2008).

El género *Phytophthora* actualmente se clasifica dentro de la división Oomycota, en el orden Peronosporales y la familia Phythiaceae (Blair *et al.*, 2008). Es aceptado que el género *Phytophthora* ocupa una posición intermedia entre los géneros más primitivos de Oomycetes como *Saprolegnia*, *Achlya* y *Dictyuchus*, entre otros, los cuales son saprófitos, acuáticos y productores de zoosporangios, y los géneros más “avanzados”, *Albugo*, *Peronospora* y *Bremia*, que son fitopatógenos obligados. La mayoría de las

cycle (West *et al.*, 2003).

The plant-oomycete interactions: How does it work? Specialized hyphae called haustoria can be formed by the Oomycetes, which penetrate the plant cell walls allowing nutrients assimilation from the host cells. These structures also secrete a broad spectrum of effector proteins that enter cells and alter host defense responses and cell metabolism (Dodds, 2010). Same as other pathogens, the hosts are attacked by their oomycetes secreting an array of proteins collectively known as effectors, whose target is the molecules produced by the plant cells, altering their physiological processes, thus (Thines and Kamoun, 2010).

Studies on plant-pathogen interaction focus largely on studying avirulent genes (Avr) (Tyler, 2001). Genes for resistance and susceptibility in plants are complementary to genes that determine virulence and avirulence in pathogens (Madriz, 2002). Products detected by plants defense systems are codified by the Avr genes, specifically by receptors encoded by the resistance genes (R) of these.

If the products of the pathogen Avr genes are detected by the plant R genes, then the response to resistance is triggered. If the plant defense mechanisms are unable to detect the products of Avr genes, then plant becomes susceptible to be infected. It has been reported that many of the Oomycetes avirulence genes are clustered. It is suggested by such cluster that genes involved in the infection process can be in what would be called “pathogenicity islands” (Tyler, 2001).

The *Phytophthora* genus. The *Phytophthora* genus species are devastating plant pathogens in both agroecosystems and natural ecosystems (Blair *et al.*, 2008). The *Phytophthora* genus is responsible for some of the most serious diseases in plants (Schena and Cooke, 2006), such as soybean root rot (Tang *et al.*, 2011), tomato root rot (Quesada and Hausbeck, 2010), peeper wilt (Truong *et al.*, 2010), chile wilt (Ogundiwin *et al.*, 2005) and oak sudden death (Martin and Tooley, 2003). The interest in the genetics and genomics of these oomycetes has increased, due to its significant economic and environmental impact. Similarly, efforts to collect phenotypic and genotypic information of this kind have increased (Blair *et al.*, 2008).

The *Phytophthora* genus is currently classified in the Oomycota division, in the Peronosporal order and Phythiaceae family (Blair *et al.*, 2008). It is accepted that an intermediate position among the most primitive Oomycetes genera is occupied by the *Phytophthora* genus, such as *Saprolegnia*, *Achlya* and *Dictyuchus*, among others, which are saprophytic, aquatic and producers of zoosporangia, as well as *Albugo*, *Peronospora* and *Bremia*; these are the most “advanced” genus and phytopathogenetic obligate.

Most *Phytophthora* species are primary invasive of plant healthy tissues with limited saprophytic abilities, many of which are responsible for diseases of economically important vegetables or cause damage to natural ecosystems plant communities (Cooke *et al.*, 2000). The *Phytophthora* species, in traditional taxonomy, are identified primarily based upon their sporangia structure (without papillae, semipapillate or papillate), their antheridia position (amphigenous or paragenous), and, if the taxon is inbreeding

especies de *Phytophthora* son invasoras primarias de tejidos sanos de plantas con capacidad saprofitica limitada, muchas de las cuales son responsables de enfermedades de hortalizas de importancia económica o causantes de daños a las comunidades vegetales de los ecosistemas naturales (Cooke *et al.*, 2000). En la taxonomía tradicional, las especies de *Phytophthora* se identifican principalmente en base a la estructura de sus esporangios (sin papilas, semipapilados o papilados), la posición de sus anteridios (anfiginios o paráginos) y si el taxón es endogámico (homotálico) o exogámico (heterotálico) con dos tipos de compatibilidad sexual, o tipos de apareamiento, A1 y A2. Aunado a esto, se consideran otros factores como lo son las temperaturas óptimas de crecimiento y la patogenicidad (Blair *et al.*, 2008; Cooke *et al.*, 2000). Las oosporas son consideradas como el principal propágulo de supervivencia del género *Phytophthora*. La germinación de las oosporas es influenciada por su edad, su nutrición, la temperatura y la luz. Si las condiciones ambientales son favorables, las oosporas germinan y desarrollan micelio o producen esporangios (Widmer, 2010). Muchas especies de *Phytophthora* son capaces de infectar un amplio rango de hospedantes, mientras que otras tienen un rango reducido (Blair *et al.*, 2008).

***Phytophthora capsici*.** En la actualidad, se utiliza la descripción original de Leonian (1922) para *P. capsici*, ya que la enmendada por Tsao y Alizadeh (1988) incluye aislados obtenidos de pimienta negra (*Piper nigrum*) y aislados de *P. palmivora* MF-4 que actualmente se encuentran ubicados dentro de *Phytophthora tropicalis*. Esta especie fue descrita por primera vez por Leonian en 1922 como el agente causal de la marchitez del chile (*Capsicum annuum*) en Nuevo México, y se consideró que era hospedante específica. Ahora se sabe que *P. capsici sensu lato* tiene un amplio rango de hospedantes y se distribuye mundialmente, causa enfermedades en especies vegetales tanto de regiones templadas como tropicales, crece a 35 °C (Gallegly y Hong, 2008; Erwin y Ribeiro, 1996). *P. capsici* es una especie heterotálica, forma estructuras sexuales (oogonios) en varios medios de cultivo cuando los tipos de compatibilidad A1 y A2 se aparean (Gallegly y Hong, 2008), siendo el tipo A1 el reportado como más virulento (Manohara *et al.*, 2004). Los oogonios son esféricos con anteridios anfiginios, que al ser fertilizados producen oosporas pleróticas. El tamaño de los órganos sexuales varía según el aislado o cepa. Los esporangióforos se encuentran en un simpodio simple en agua. Los esporangios son papilados y variables en forma y tamaño. Las formas más comunes de los esporangios son ovoide y elipsoide, con bases redondeadas; sin embargo, pueden presentarse formas irregulares, pedicelos laterales y papilas múltiples. El tamaño de los esporangios es de aproximadamente 57 x 32 µm con una relación de largo por ancho cercana a 1.8. Los esporangios son caducos y portan pedicelos típicamente largos. Generalmente no presentan hifas hinchadas o clamidosporas (Gallegly y Hong, 2008). El empleo de diversos marcadores moleculares ha evidenciado que *P. capsici* es una especie que presenta altos niveles de diversidad genética tanto intra como inter

(homothallic) or if they are exogamous (heterothallic) with two sexual compatibility types or mating types, A1 and A2, plus some other factors, such as optimal temperature for growth and pathogenicity (Blair *et al.*, 2008; Cooke *et al.*, 2000). Oospores are considered as the main survival propagules of *Phytophthora* genus. Oospores germination is influenced by age, nutrition, temperature and light. If environmental conditions are favorable, oospores either germinate and produce mycelia or produce sporangia (Widmer, 2010). Many *Phytophthora* species are able to infect a wide range of hosts, while others have a narrow range of infection (Blair *et al.*, 2008).

***Phytophthora capsici*.** The Leonian (1922) original description for *P. capsici* is currently used, since isolates obtained from black pepper (*Piper nigrum*) and *P. palmivora* MF-4 isolates, which are located within *Phytophthora tropicalis*, are included nowadays in the amended description reported by Tsao and Alizadeh (1988). This species was initially described by Leonian in 1922 as the chile wilt (*Capsicum annuum*) causal agent in New Mexico, and it was considered as a specific host. Now it is commonly known that *P. capsici sensu lato* has a wide host range and that it is distributed worldwide causing diseases in plant species of both temperate and tropical regions, growing at 35 °C (Gallegly and Hong, 2008; Erwin and Ribeiro, 1996). The *P. capsici* is a heterothallic species that forms sexual structures (oogonia) in several culture media as compatibility types A1 and A2 mate (Gallegly and Hong, 2008), being A1 the type reported as the most virulent (Manohara *et al.*, 2004). The oogonia are spherical with amphigenous antheridia that produce plethoric oospores when fertilized. The sexual organs size differs in accordance to the isolate or strain. The sporangiophores are in a simple sympod in water. Sporangia are papillate and variable in shape and size. The most common forms of sporangia are ovoid and ellipsoid with rounded bases; nonetheless, there may be irregularly shaped, with lateral pedicels, and multi-taste, as well. Sporangium size is approximately 57 x 32 microns with a length-width ratio close to 1.8. Sporangia are deciduous and typically carry long pedicels. Usually they do not have a swollen hyphae or chlamydozoospores (Gallegly and Hong, 2008). It has been shown by the use of molecular markers that *P. capsici* is a species with high genetic diversity levels both intra and interspecific, turning into one of the species with the highest variability within the *Phytophthora* genus (Truong *et al.*, 2010; Erwin and Ribeiro, 1996). It is possible to detect variability among isolates of different hosts and different geographic regions by analyzing the acid phosphates banding patterns generated by means of an isoelectric focus (Erselius and Vallavieille, 1984).

The *P. capsici* species has a high infectivity capacity and it disperses itself mainly by the soil through irrigation channels or due to heavy rain causing a splash on plants (Li *et al.*, 2007); it also has the ability to produce a polycyclic disease. This results into a high population dynamic in the United States, which often changes from a high genetic diversity at the beginning of the crops growing season to a few clonal lineages by the end. It is indicated by reports of the

específica, siendo una de las especies con mayor variabilidad dentro del género *Phytophthora* (Truong *et al.*, 2010; Erwin y Ribeiro, 1996). Al analizar los patrones de bandeado de fosfatasas ácidas generados por enfoque isoelectrónico es posible detectar variabilidad entre aislados de hospedantes distintos y diversas regiones geográficas (Erselius y Vallavieille, 1984).

P. capsici tiene una alta capacidad de infección y se dispersa principalmente por el suelo a través de los canales de riego o debido a lluvias que provocan un salpicado sobre las plantas (Li *et al.*, 2007). *P. capsici* tiene la capacidad para producir una enfermedad poli-cíclica. En Estados Unidos, esto resulta en una alta dinámica poblacional que con frecuencia cambia de una alta diversidad genética al principio de la temporada de crecimiento de los cultivos, a unos cuantos linajes clonales al final. Reportes de las poblaciones localizadas fuera de los Estados Unidos indican que las dinámicas poblacionales pueden ser diferentes dependiendo de la ubicación geográfica (Lamour, 2009). Este fitopatógeno puede infectar las raíces, flores, tallos, hojas y frutos del chile provocando el tizón foliar, la pudrición de frutos y la pudrición de raíz y tallo (Foster y Hausbeck, 2010a; Erwin y Ribeiro, 1996), en cualquier etapa de desarrollo de las plantas (Truong *et al.*, 2010). Las etapas iniciales de infección son biotróficas ya que a menudo no muestran síntomas. Dependiendo de la temperatura, existe un periodo de incubación de 24 h antes de que las primeras lesiones necróticas sean visibles. Aunque *P. capsici* es considerado como un patógeno del suelo, puede existir una abundante producción de zoosporas por encima del suelo. Frutos infectados pueden ser considerados como agentes de dispersión, ya que solamente requieren de lluvia o agua de riego para que ocurra una dispersión masiva de zoosporas (Lamour, 2009). Se ha observado en laboratorio que la dispersión de los esporangios de *P. capsici* ocurre en agua por fuerza capilar, pero no ocurre en respuesta al viento o la reducción de la humedad relativa. Estas observaciones en laboratorio y el muestreo volumétrico de esporas en campo, indican que la dispersión de esporangios por medio de corrientes de viento es infrecuente y que es poco probable que sean dispersados de manera natural entre los campos de cultivo por acción del viento únicamente (Granke *et al.*, 2009).

P. capsici ataca solanáceas como el chile, el tomate y la berenjena, y cucurbitáceas como el pepino, la calabaza, y el melón, alrededor del mundo (Lamour, 2009). Más de 50 especies de plantas han sido identificadas como hospedadoras de este oomycete (Quesada *et al.*, 2009; Gevens *et al.*, 2008a; Hausbeck y Lamour, 2004; Erwin y Ribeiro, 1996). Recientemente, se le ha encontrado atacando cultivos de habas (*Vicia faba*) y habichuelas (*Phaseolus lunatus*), plantas que previamente se había demostrado no eran hospedantes viables de este patógeno (Gevens *et al.*, 2008b; Davidson *et al.*, 2002). En muchas áreas, las epidemias más graves ocurren durante los meses cálidos y en la época de lluvias (Lamour, 2009), factores ambientales que favorecen el desarrollo de este oomycete. Este patógeno es responsable de grandes pérdidas a nivel mundial (Sy *et al.*, 2008). En muchas partes del mundo, *P. capsici* es el factor limitante de

populaciones located outside the United States that population dynamics may be different depending on their geographic location (Lamour, 2009). This plant pathogen can infect the roots, flowers, stems, leaves and chile fruit, causing leaf blight, fruit rot as well as root and stem rot (Foster and Hausbeck, 2010a; Erwin and Ribeiro, 1996), at any plant development stage (Truong *et al.*, 2010). The initial stages of infection are biotrophic, since they often reveal a lack of symptoms. Depending on temperature, there is a 24 h incubation period prior to the first visible necrotic lesions. Even though *P. capsici* is considered as a soil borne pathogen, there may be an abundant zoospore production above the ground. Infected fruit may be considered as dispersal agents, hence they only require rainfall or irrigation to occur massive zoospore dispersal (Lamour, 2009). It has been observed in *P. capsici* sporangia laboratory the dispersion takes place in water by capillary force, but it does not occur in response to wind or to relative humidity reduction. It is indicated by the laboratory analysis of these observations and the volumetric spore sampling in the field that sporangia dispersal by wind currents is rare and unlikely to be naturally dispersed among the fields only by wind (Granke *et al.*, 2009).

Solanaceae, such as chile, tomato and eggplant, as well as cucurbits, such as cucumber, squash, and melons around the world, are attacked by *P. capsici*. Over 50 plant species have been identified as hosts of this oomycete around the world (Quesada *et al.*, 2009; Gevens *et al.*, 2008a; Hausbeck and Lamour, 2004; Erwin and Ribeiro, 1996). Recently, it was found attacking fava bean (*Vicia faba*) and beans (*Phaseolus lunatus*), which are plants that it had just been previously revealed that they were not a viable host of this pathogen (Gevens *et al.*, 2008b; Davidson *et al.*, 2002).

The most severe epidemics occur, in many areas, during the warmer months and in rainy season (Lamour, 2009), which are environmental factors favoring this oomycete development. This pathogen is responsible of great losses worldwide (Sy *et al.*, 2008). The *P. capsici* species is the most important limiting factor in crop production in many parts of the world; nowadays is considered the most important plant factor in chile production (Ristaino and Johnston, 1999; Bosland and Lindsey, 1991) due to the fact that this pathogen can generate up to 80% production loss on the crop field.

There is currently no control measures which can fully protect a susceptible crop as environmental conditions, such as humidity and temperature, are favorable (Lamour, 2009), even though there have been efforts to develop new strategies for the proper management of this pathogen. It is difficult to control *P. capsici* because it can cause multiple syndromes by infecting roots, foliage and chile fruit (Oelke *et al.*, 2003). Practical culture, fungicides, fumigants, biological agents and resistant varieties are required for this pathogen control as part of an integrated management program (Foster and Hausbeck, 2010a). Nevertheless, cultural control methods, including crop rotation, have not proven effectiveness because of pathogen oospores resistance to desiccation, low temperatures, as well as other

producción vegetal más importante (Lamour, 2009), actualmente, se le considera el factor fitosanitario más importante en la producción de chile (Ristaino y Johnston, 1999; Bosland y Lindsey, 1991), ya que este patógeno puede producir pérdidas hasta del 80% en la producción en los campos de este cultivo (Li *et al.*, 2007).

Aunque se han hecho esfuerzos por desarrollar estrategias novedosas de manejo de este patógeno, actualmente no existen medidas de control que puedan proteger completamente a un cultivo susceptible cuando las condiciones ambientales como humedad y temperatura, son favorables (Lamour, 2009). *P. capsici* es difícil de controlar debido a que puede causar múltiples síndromes al infectar las raíces, follaje y frutos del chile (Oelke *et al.*, 2003). El control de este fitopatógeno requiere del uso de prácticas culturales, fungicidas, fumigantes, agentes biológicos y de variedades resistentes, todos como parte de un programa de manejo integrado (Foster y Hausbeck, 2010a). Si bien, los métodos de control cultural, incluyendo la rotación de cultivos, no han resultado ser efectivos debido a la resistencia de las oosporas de este patógeno a la desecación, a las bajas temperaturas y a otras condiciones ambientales desfavorables, así como a su capacidad para sobrevivir en el suelo durante años aún en la ausencia de plantas hospederas (Kim y Kim, 2009). El control químico es poco efectivo en los cultivos de chile (Miller *et al.*, 2002; Goldberg, 1995). La resistencia o tolerancia de *P. capsici* a diversos fungicidas ha sido reportada tanto en el laboratorio como en condiciones de campo (Foster y Hausbeck, 2010b; Silva *et al.*, 2009; Fernández *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2003). Las estrategias alternativas, tales como el uso de cultivares genéticamente resistentes, prometen ser las más redituables y amigables con el ambiente. Sin olvidar que periodos prolongados de incubación o altas concentraciones de inóculo de *P. capsici* pueden sobreponerse a la resistencia, resultando en la manifestación de síntomas en algunas plantas resistentes (Kim y Kim, 2009).

Solamente el chile serrano CM-334 ha mostrado una resistencia universal a los aislados de este oomycete (Glosier *et al.*, 2008, Oelke *et al.*, 2003). No existe un consenso sobre la genética que gobierna la respuesta de resistencia. Algunos loci de caracteres cuantitativos (QTL) han sido mapeados, y en estos estudios se ha determinado que la herencia a la resistencia es multigénica (Ogundiwin *et al.*, 2005). Se determinó que seis regiones de los cromosomas cuatro, cinco, seis, 11 y 12 están involucradas en cierta medida en la resistencia (Thabuis *et al.*, 2003). Diferentes partes de la planta de chile pueden ser infectadas por *P. capsici*, por lo que cada parte infectada puede ser considerada como un síndrome distinto, y la resistencia a cada uno de los síndromes es controlada por genes distintos (Oelke *et al.*, 2003). En la actualidad, el CM-334, un chile criollo procedente del estado de Morelos, México (Guerrero y Laborde, 1980), es la fuente principal de resistencia a la marchitez de raíz utilizado en los programas de mejora genética de chile (Thabuis *et al.*, 2003; Gil *et al.*, 1991). Este chile posee el nivel más alto de resistencia conocido, y ha demostrado ser resistente a varios aislados de *P. capsici* de diferentes hospedantes y regiones geográficas (Sy *et al.*,

adverse environmental conditions and their ability to survive in soil for years, even in the absence of host plants (Kim and Kim, 2009). Chemical control is ineffective in chile crops (Miller *et al.*, 2002, Goldberg, 1995). Resistance or tolerance of *P. capsici* various fungicides has been reported both in the laboratory and in field conditions (Foster and Hausbeck, 2010b; Silva *et al.*, 2009; Fernandez *et al.*, 2004, Perez *et al.*, 2003). Alternative strategies such as the use of genetically resistant cultivars, promise to be the most cost-effective and environmentally friendly. Without forgetting that extended periods of incubation and inoculum concentrations of *P. capsici* can overcome resistance, resulting in the manifestation of symptoms in some resistant plants (Kim and Kim, 2009).

Only the CM-334 serrano chile has shown a universal resistance to this oomycete isolates (Glosier *et al.*, 2008, Oelke *et al.*, 2003). There is no consensus concerning genetics ruling the resistance response. Some quantitative trait loci (QTL) were mapped and it was determined by such studies that resistance inheritance is multi-genetic (Ogundiwin *et al.*, 2005). It was determined as well that six regions from chromosomes four, five, six, 11 and 12 are involved, to some degree, in the resistance (Thabuis *et al.*, 2003). Different parts of the chile plant can be infected by *P. capsici*, so that each infected part can be regarded as a distinct syndrome; resistance to each one of these syndromes is controlled by different genes (Oelke *et al.*, 2003). Currently, the CM-334, a native chile from the state of Morelos, Mexico (Guerrero and Laborde, 1980), is the main source of resistance to root wilt used in programs for chile genetic improvement (Thabuis *et al.*, 2003; Gil *et al.*, 1991). This chile has the highest known resistance, and it has proven itself to be resistant to several *P. capsici* isolates from different hosts and geographical regions (Sy *et al.*, 2008). It is only through the intervention of a second plant pathogen, the *Nacobus aberrans* nematode, that CM-334 resistance to *P. capsici* is lost (Vargas *et al.*, 1996). Nematode species have the ability to induce cell reprogramming and, hence, an alteration in gene expression host. Such induced changes may alter the plants defense mechanisms thus making them susceptible to fungal pathogens to which, under normal conditions, are resistant (Zavaleta, 2002). A decrease in the enzymatic activity of both phenylalanine ammonia lyase (PAL) and peroxidase, as well as a reduced concentration of total soluble phenols and chlorogenic acid are some of the changes produced by *N. aberrans* in CM-334 root system (López *et al.*, 2011; Godinez *et al.*, 2008).

What makes a chile cultivar resistant to *P. capsici*?

Plants have a number of defense mechanisms against pathogens. Both pre-formed and induced defense exist. Peptides, proteins and non-proteinaceous secondary metabolites are among the pre-formed mechanisms (Heath, 2000). Plants defense mechanisms are induced by different pathogen compounds; the pathogen products producing this response are known as elicitors, which trigger transduction signals leading to gene activation in plants defense (Laxalt and Munnik, 2002). Some of the responses induced are the phenolic compounds peroxidative union, the substances

2008). Es sólo con la intervención de un segundo fitopatógeno, el nematodo *Nacobus aberrans*, que la resistencia de CM-334 a *P. capsici* se pierde (Vargas *et al.*, 1996). Los nematodos agalladores tienen la capacidad para inducir una reprogramación celular y, por lo tanto, una alteración en la expresión génica del hospedante. Estos cambios inducidos pueden alterar los mecanismos de defensa de las plantas haciéndolas así susceptibles a hongos fitopatógenos ante los cuales, en condiciones normales, son resistentes (Zavaleta, 2002). Dentro de los cambios que *N. aberrans* produce en el sistema radicular del CM-334, se encuentra una disminución en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) y peroxidasa (POD), así como una disminución de la concentración de fenoles solubles totales y de ácido clorgénico (López *et al.*, 2011; Godínez *et al.*, 2008).

¿Qué hace a un cultivar de Chile resistente a *P. capsici*? Las plantas poseen una serie de mecanismos de defensa contra los fitopatógenos. Existen defensas preformadas e inducidas. Entre las preformadas se encuentran péptidos, proteínas y metabolitos secundarios no proteicos (Heath, 2000). Diferentes compuestos producidos por patógenos inducen los mecanismos de defensas de las plantas. Los productos de patógenos que producen esta respuesta son conocidos como elicitores. Los elicitores desencadenan cascadas de señales de transducción lo cual lleva a la activación de los genes de defensa de las plantas (Laxalt y Munnik, 2002). Entre las respuestas inducidas se encuentra la unión peroxidativa de compuestos fenólicos, la deposición de sustancias como el sílice y la formación de papilas con calosa en la pared celular, la acumulación de especies reactivas de oxígeno, la respuesta hipersensible (HR), una muerte programada y acelerada de las células que se encuentran en el sitio de infección del patógeno (Heath, 2000), así como la respuesta sistémica adquirida (SAR); (Maleck y Dietrich, 1999).

La respuesta SAR se induce en las plantas como consecuencia del ataque de fitopatógenos. Una vez activada SAR, las plantas comienzan a expresar una serie de genes relacionados con la patogénesis tanto a nivel local del ataque como en toda la planta (Maleck y Dietrich, 1999). En muchas plantas, SAR es precedida por la acumulación sistémica de ácido salicílico (SA). Algunos genes relacionados con la patogénesis responden al SA y son inducidos por el etileno y el ácido jasmónico (JA), mientras otros son inducidos por el etileno y el JA, pero no responden al SA. Estas moléculas señalan y regulan la expresión diferencial de los diferentes conjuntos de genes relacionados con la patogénesis (Pozo *et al.*, 2005; Maleck y Dietrich, 1999).

La compatibilidad o incompatibilidad de las interacciones planta-patógeno depende tanto del genotipo de la planta como del patógeno. Esta especificidad es más fácil de estudiar en plantas que han sido sometidas a un proceso de mejoramiento genético, los denominados cultivares. Una especie de hospedante puede presentar cultivares que muestran resistencia y otros que muestran susceptibilidad a un patógeno dado, el cual a su vez puede presentar razas tanto virulentas como avirulentas para un

deposición, such as silica, the papillae formation with callose in the cell wall, accumulation of oxygen reactive species, the hypersensitive response (HR), a programmed death and acceleration of the cells found at the pathogen infection site (Heath, 2000), as well as the systemic acquired response (SAR) (Maleck and Dietrich, 1999).

The SAR response is induced in plants as a consequence derived from the attack of pathogens. Once SAR is activated, a number of pathogenesis-related genes start to be expressed by the plants as it is attacked both locally and throughout the plant (Maleck and Dietrich, 1999). The SAR is preceded by a salicylic acid systemic accumulation (SA) in many plants. Some pathogenesis-related genes respond to SA, and are induced by ethylene and jasmonic acid (JA), while others, which are induced by ethylene and JA, do not respond to SA. The differential expression of different set of genes related to pathogenesis is regulated by these signal molecules (Pozo *et al.*, 2005; Maleck and Dietrich, 1999).

The compatibility or incompatibility plant pathogens interactions depend on both the plant genotype and the pathogen. This specificity is more easily studied in plants that have undergone a process of genetic improvement; these are called cultivars. A host species may present cultivars showing resistance and others showing susceptibility to a given pathogen, which it can also present both virulent and avirulent races for a given cultivar. It is common, as a result derived from such process, that new physiological races appear specific for each cultivar because of the selection pressure being exerted on these (Madriz, 2002).

Physiological races are classified in accordance to the reactions originated by a pathogen on a number of cultivars, which is known as differential host (Oelke *et al.*, 2003). A set of differential hosts is composed of multiple hosts lines that one or more pathogen resistant genes. The existence of physiological races in the *Capsicum annum-Phytophthora capsici* pathosystem has been indicated by recent studies, which means that the lines of chiles that have been developed against a wide range of *P. capsici* need to be tested by plant breeders. The development of Chile lines resistant to *P. capsici* is difficult and quite complex, due to the existence of different physiological races of this plant pathogen (Sy *et al.*, 2008).

Some Chile cultivars resistance to *P. capsici* depends on inoculum concentration, as well as on the stage of plant development and temperature, whereas CM-334 resistance does not rely on such factors (Palloix *et al.*, 1988). Several studies on Chile plants (*C. annum*) susceptibility or tolerance to different *P. capsici* isolates have been performed (Monroy and Bosland, 2011; Foster and Hausbeck, 2010a; Glossier *et al.*, 2008; Sy *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2007; Oelke *et al.*, 2003; Ristaino, 1990); however, there is still a lack of a full comprehension regarding what makes a cultivar either resistant to infection or not.

It has been reported by Chile producers in New Mexico that the Chile wilt symptoms caused by *P. capsici* seemed to grow more slowly and with a lower incidence on Chile cultivars with a high pungency level. Therefore, the

cultivar determinado. Es común que como resultado de este proceso aparezcan nuevas razas fisiológicas específicas para cada cultivar, debido a la presión de selección que se está ejerciendo sobre estas (Madriz, 2002).

Las razas fisiológicas son clasificadas en base a las reacciones que origina un patógeno sobre una serie de cultivares, lo que es conocido como un hospedante diferencial (Oelke *et al.*, 2003). Un conjunto de hospedantes diferenciales está compuesto de varias líneas de hospedantes que poseen uno o más genes de resistencia a un patógeno. Estudios recientes han indicado la existencia de razas fisiológicas en el patosistema *Capsicum annum-Phytophthora capsici*, lo cual implica que los fitomejoradores necesitan probar las líneas de chiles que han desarrollado contra un amplio rango de aislados de *P. capsici*. Desarrollar líneas de chile resistentes a *P. capsici* es difícil y complejo debido a la existencia de diversas razas fisiológicas de este fitopatógeno (Sy *et al.*, 2008).

La resistencia a *P. capsici* de algunos cultivares de chile es dependiente de la concentración de inóculo, etapa de desarrollo de las plantas y la temperatura. Mientras que en CM-334, la resistencia es independiente de estos factores (Palloix *et al.*, 1988). Se han realizado diversos estudios sobre la susceptibilidad o tolerancia de las plantas de chile (*C. annum*) a diferentes aislados de *P. capsici* (Monroy y Bosland, 2011; Foster y Hausbeck, 2010a; Glossier *et al.*, 2008; Sy *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2007; Oelke *et al.*, 2003; Ristaino, 1990). Pero, aún no existe una comprensión clara de que hace a un cultivar resistente, o no, para ser infectado.

Los productores de chile de Nuevo México reportaron que los síntomas de marchitez de chile causada por *P. capsici* parecían desarrollarse más lentamente y con menor incidencia en cultivares de chile con elevada pungencia. Por este motivo se evaluó la resistencia de chiles pungentes (TAM-Jalapeño, Cayenne y XX-Hot) y poco pungentes (NuMex Joe E. Parker y New Mexico 6-4). Los resultados indicaron que existe poca relación entre el nivel de pungencia, dado por el contenido de capsicinoides en los frutos, y la susceptibilidad a la pudrición de raíz y de fruto producida por este fitopatógeno (Tahboub *et al.*, 2008). No se encontró algún efecto *in vivo* del contenido de capsicinoides sobre la capacidad del patógeno para colonizar los tejidos del fruto.

Se ha estudiado el efecto del capsidiol, una fitoalexina de naturaleza sesquiterpenoide con propiedades antimicrobianas presente en las plantas de chile, sobre el desarrollo de *P. capsici* en los tejidos de cultivares inoculados con este fitopatógeno. En un ensayo, Molot *et al.* (1981) encontraron que al momento de la inoculación se manifiesta una acumulación de esta fitoalexina en los tejidos infectados, y su cinética es similar para plantas de chile susceptibles y no susceptibles. Al no encontrar relación entre la concentración de capsidiol y la inhibición del crecimiento del patógeno, sugirieron que el capsidiol no es el principal mecanismo de defensa que confiere la resistencia a este fitopatógeno. Por otra parte, Turelli *et al.* (1984) estudiaron los mecanismos por los cuales el capsidiol inhibe el crecimiento micelial de este oomiceto *in vitro*. Esta fitoalexina puede provocar un decremento del 50% del

resistencia of pungent (TAM-Jalapeño, Cayenne and XX-Hot) and slightly pungent chile (NuMex Joe E. Parker and New Mexico 6-4) became evaluated. A lack of a strong relation between the pungency level given by the fruit capsaicinoids content and the susceptibility to root rot and fruit produced by this plant pathogen was revealed by the results hereby (Tahboub *et al.*, 2008). No capsaicinoid content effect *in vivo*, on the pathogen capacity to colonize the fruit tissue, was revealed.

The capsidiol effect, a phytoalexin of sesquiterpenoid nature with antimicrobial properties present in chile plants on *P. capsici* development in cultivars inoculated with this plant pathogen, has been studied. It was shown in an essay reported by Molot *et al.* (1981) that at the moment of inoculation, an accumulation of this phytoalexin appears in infected tissues, and that its kinetics is very similar for both susceptible and none susceptible chile plants. Since there was no relation between the capsidiol and pathogen growth inhibition, it was suggested that capsidiol is not the main defense mechanism conferring resistance to this phytopathogen. Moreover, the inhibiting mechanisms by which the mycelia growth of this oomicete *in vitro* becomes inhibited by capsidiol were studied by Turelli *et al.* (1984). A 50% decrease of the *P. capsici* membranes protein content after inoculation, as well as a 33% loss of their phospholipids may be caused by this phytoalexin with a subsequent detachment of several neutral lipids. This capsidiol ability to permeabilize the membranes as it sets itself directly in contact with the pathogen *in vitro* is considered as the biochemical mechanism by which it participates in chile plants defense against this pathogen. As for *in vivo* studies, the capsidiol ability to inhibit *P. capsici* growth in the resistant cultivar Smith-5, which produces 5.1 mM of this phytoalexin in the stem tissues inoculated with this pathogen after six inoculation days, has been demonstrated (Egea *et al.*, 1996a). Capsidiol accumulates itself in the tissue of every chile plant as it is inoculated with *P. capsici*, but significant differences prevail depending on the cultivar and in the histological study area (Egea *et al.*, 1996b). It has been reported that capsidiol production in *P. capsici* infected tissue is increased by matalxyl application (Hwang and Sung, 1989). Capsidiol works as a fungistatic at a 3.75 mM media concentration, being fungitoxic at levels above 5 mM (Egea *et al.*, 1996a). A capsidiol concentration generated in infected tissue has been used as a marker of *P. capsici* resistance in programs of genetic improvement (Candela *et al.*, 2000). A higher protection against chile wilt caused by *P. capsici* has been related with chile plant inoculation by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) (Ozgonen and Erkilic, 2007).

The behavior of two phytohormones, SA and JA, was evaluated in the interaction among CM-334 and *P. capsici* leaves, and compared with the interaction between this plant and a susceptible cultivar, the California Wonder. The JA was increased immediately after being inoculated with the pathogen. As JA levels eventually decreased, SA levels increased and, subsequently, a cellular death was revealed mediated by a hypersensitive response (HR). The catalase mRNA and POD, HR generation suppressors disappeared,

contenido proteico en las membranas de *P. capsici* tras la inoculación y una pérdida del 33% de los fosfolípidos de las mismas, con un desprendimiento subsecuente de lípidos neutros diversos. Esta capacidad del capsidiol para permeabilizar las membranas al ponerlo en contacto directo con el patógeno *in vitro*, es considerado el mecanismo bioquímico por el cual participa en la defensa de las plantas de Chile ante este fitopatógeno. En cuanto a estudios *in vivo*, se ha evidenciado la capacidad del capsidiol para inhibir el crecimiento de *P. capsici* en el cultivar resistente Smith-5, el cual produce 5.1 mM de esta fitoalexina en los tejidos del tallo inoculados con este patógeno a los seis días de incubación (Egea *et al.*, 1996a). El capsidiol se acumula en los tejidos de todas las plantas de Chile al ser inoculadas con *P. capsici*, pero existen diferencias significativas dependiendo del cultivar y de la zona histológica estudiada (Egea *et al.*, 1996b). Se ha reportado que la aplicación de metalaxyl incrementa la producción de capsidiol en tejidos infectados por *P. capsici* (Hwang y Sung, 1989). El capsidiol funciona como fungistático a una concentración media de 3.75 mM, y es fungitóxico a niveles por encima de 5 mM (Egea *et al.*, 1996a). Se ha utilizado la concentración de capsidiol generado en tejidos infectados como marcador de resistencia a *P. capsici* en programas de mejora genética (Candela *et al.*, 2000). La inoculación de plantas de Chile con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) puede incrementar los niveles basales de capsidiol en los tejidos de las plantas, lo cual se ha relacionado con una mayor protección contra la marchitez de Chile causada por *P. capsici* (Ozgonen y Erkilic, 2007).

Se evaluó el comportamiento de dos fitohormonas, el SA y el JA, en la interacción entre las hojas de CM-334 y *P. capsici*, y se comparó con la interacción entre este fitopatógeno y un cultivar susceptible, el California Wonder. El JA se incrementó en el cultivar resistente inmediatamente después de ser inoculado con el patógeno. Conforme los niveles de JA disminuyeron con el paso del tiempo, los niveles de SA aumentaron y subsecuentemente se presentó una muerte celular mediada por una respuesta hipersensible (HR). Los mRNA de catalasa y POD, supresores de la generación de la HR, desaparecieron, mientras que mRNA de 12-oxo-ácido fitodienoico reductasa (OPR3) fueron detectados en el CM-334 específicamente. Los mecanismos de defensa mediados por el JA parecen ser cruciales para la resistencia de las plantas de Chile contra *P. capsici*. La aparición temprana de JA y la subsecuente acumulación de SA tras la inoculación sugiere que ambas fitohormonas juegan papeles separados en la respuesta de defensa (Ueeda *et al.*, 2006).

Existen diversos cambios histológicos y citológicos en plantas de Chile al ser inoculadas con *P. capsici*. Las paredes de las células hospedantes adyacentes a las hifas del patógeno son parcialmente degradadas y estructuralmente debilitadas, probablemente debido a la acción de enzimas. En las plantas de Chile resistentes, el patógeno se mantiene en la superficie de la epidermis de la raíz, atrapado en los exudados radicales compuestos de proteínas y polisacáridos. También se observa un engrosamiento de la lamela media entre las células epidermales y corticales, un

while the mRNA of 12-oxo phytodienoic acid reductase (OPR3) were detected in CM-334, specifically. The defense mechanisms mediated by JA seem to be crucial for plants resistance against *P. capsici*. It is suggested by JA early appearance and subsequent SA accumulation after inoculation that a different role is played by both phytohormones in the defense response (Ueeda *et al.*, 2006).

There are several histological and cytological changes in Chile plants when inoculated with *P. capsici*. The host cell walls adjacent to the pathogen hyphae are partially degraded and structurally weakened, probably due to enzymatic action. The resistant pathogen in Chile plants is retained in the root epidermis surface, trapped in the radical exudates made out of proteins and polysaccharides. A thickening of the middle lamella between the epidermal and cortical cells, a plant mechanism to stop infection by preventing epidermis hyphae penetration towards the cortex, is also observed. One of the most prominent structural features in the resistant plants is the formation of hyphae coupled cell walls apposition. There is a difference in disease development suppression in Chile resistant plants stems and roots, probably due to a lack of exudates in the stems. It is suggested that the response in resistant Chile are more discriminative in the roots than in the aerial parts of the plant, thus (Kim and Kim, 2009).

The oxidative stress degree present in this plant-pathogen interaction has also been evaluated. An 87% increase in tissue peroxide levels has been observed after *P. capsici* plants inoculation. The enzyme presenting a higher activity increase during this process is the catalase, showing a 114% increase in plant stems. The ascorbate peroxidase activity levels decline in the interaction. The POD levels remain constant from the early hours until the fifth day, showing a 54 and 90% increase in stems and leaves, respectively.

It is suggested by this that a substantial increase in oxidative stress, probably as a direct consequence of a progressive decline in enzyme systems responsible for reactive oxygen species (ROS) catabolism (Gayoso *et al.*, 2004) is involved by the interaction in this pathosystem. Furthermore, there is evidence that Chile plants colonized by AMF are capable of better preserving the oxide-reductive balance during the oxidative stress generated by *P. capsici* (Alejo *et al.*, 2008).

The PAL activity, the rate levels of hydrogen peroxide lipid peroxidation (H_2O_2), proline and *P. capsici* zoospores inoculating Chile plants total protein were evaluated in another study performed by Koç *et al.* (2011). An early induction of PAL, an enzyme involved in phytoalexins synthesis, which are phenolic compounds, and the lignin biosynthesis in infected Chile leaves within the first two days after inoculation were reported. The PAL activity is higher in resistant cultivars. Also, ROS production and lipid peroxidation are increased in Chile leaves as time went by after infection and inoculum concentration. Cultivars resistant to this oomycete seemed to be better protected against lipid peroxidation. Moreover, a significant increase of the proline content in inoculated Chile leaves was observed. This amino acid has antioxidant

mecanismo de la planta para detener la infección al prevenir la penetración de las hifas de la epidermis hacia el córtex. Una de las características estructurales más prominentes en las plantas resistentes es la formación de aposiciones de la pared celular unidas a hifas. Existe una diferencia en la supresión del desarrollo de la enfermedad en los tallos y las raíces de las plantas de Chile resistentes, esto probablemente debido a la ausencia de exudados en los tallos. Esto sugiere que las respuestas en Chile resistentes son más discriminativas en las raíces que en las partes aéreas de la planta (Kim y Kim, 2009).

También se ha evaluado el grado de estrés oxidativo presente durante esta interacción planta-patógeno. Después de la inoculación de las plantas de Chile con *P. capsici* se ha visto un incremento del 87% en los niveles de peróxido en los tejidos. La enzima que presenta un mayor aumento en su actividad durante este proceso es la catalasa, mostrando un incremento del 114% en los tallos de las plantas. Los niveles de actividad de la ascorbato peroxidasa disminuyen durante la interacción. Los niveles de POD se mantienen constantes desde las primeras horas hasta el quinto día mostrando un incremento del 54 y 90% en tallos y hojas, respectivamente. Esto sugiere que la interacción en este patosistema lleva consigo un incremento sustancial en el estrés oxidativo, probablemente como consecuencia directa de un declive progresivo en los sistemas enzimáticos responsables del catabolismo de las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Gayoso *et al.*, 2004). Existe evidencia de que plantas de Chile colonizadas por HMA son capaces de mantener mejor el balance óxido-reductor durante el estrés oxidativo generado por el ataque de *P. capsici* (Alejo *et al.*, 2008).

En otro estudio Koç *et al.*, (2011) evaluaron la actividad de PAL, la tasa de peroxidación lipídica, los niveles de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), prolina y de proteína total en plantas de Chile inoculadas con zoosporas de *P. capsici*. Reportaron una inducción temprana de PAL, enzima involucrada en la síntesis de fitoalexinas, compuestos fenólicos y la biosíntesis de lignina, en hojas de Chile infectadas dentro de los primeros dos días después de la inoculación. La actividad de PAL es mayor en los cultivares resistentes. Además, la producción de ROS y la peroxidación de lípidos se incrementaron en las hojas de Chile conforme transcurrió el tiempo después de la infección y la concentración del inóculo. Los cultivares tolerantes a este oomycete parecen estar mejor protegidos contra la peroxidación lipídica. También observaron que el contenido de prolina en hojas de Chile inoculadas aumenta significativamente. Este aminoácido posee propiedades antioxidantes y es posible que su acumulación sea un mecanismo de protección contra el estrés oxidativo ocasionado por la infección del patógeno.

Aunado a esto, se ha estudiado la actividad de la peroxidasa y la biosíntesis de lignina en cultivos de células en suspensión de Chile con diferente susceptibilidad a *P. capsici* elicitados con micelio liofilizado o filtrado del medio en que creció el patógeno. Estas células mostraron la síntesis o acumulación de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas PR) con actividad de peroxidasa (EC

properties, and it is possible that their accumulation derives from a protection mechanism against oxidative stress caused by pathogen infection.

The peroxidase activity and lignin biosynthesis in cell suspension of Chile cultures with different *P. capsici* susceptibility, lyophilized mycelium elicited or filtered from the medium that the pathogen grew in, has also been studied. The synthesis or pathogenesis-related protein accumulation (PR proteins) with peroxidase activity (EC 1.11.1.7), as well as a polymer accumulation similar to lignin measured by thioglycolic acid derivatization was revealed by these cells. A more intense response to elicitors than the American and Yolo Wonder evaluated sensitive varieties was revealed by the Smith 5 resistant variety. Furthermore, the total peroxidase level was reduced by the elicitation in susceptible varieties, whereas such activity increased in the resistant variety, being accompanied by the peroxidase isoenzymes acidic *de novo* expression. A PR protein with a 5.7 pI with peroxidase activity was induced by the elicitors only in the resistant variety, turning it into a resistant marker candidate, thus (Egea *et al.*, 2001). The peroxidase activity (POD; EC 1.11.1.7) was reported by Jung *et al.* (2004b) along with the polyphenol oxidase (PPO; EC 1.14.18.1), the two enzymes involved in Chile plants leaves lignification when inoculated with *P. capsici* zoospores. Seven days after inoculation, 36.7% increase in PPO activity was revealed in pathogen inoculated root plants. Regarding PPO activity, there was an increase activity of this enzyme three days after inoculation, with remarkable subsequent decrease. An activity reduction is revealed from this enzyme by the seventh day in the inoculated leaves. It is suggested by the rapid increase and subsequent decrease in PPO activity that this enzyme is involved in an early response to pathogen invasion.

Experiments to determine the relationship between Chile fruit susceptibility to rot by *P. capsici* and fruit maturity have been performed. Fruit susceptibility to infection is decreased as the maturation stage is increased. The red fruit cuticle is thicker in the green fruits, which seems to be a relevant factor in resistance to *P. capsici*. Such fruit cuticle thickening is favored by an increase in the peroxidase activity as it increases its maturity; the peroxidases are contributing enzymes to lignin-like compounds polymerization, which increase the barrier to infection (Biles *et al.*, 1993).

There is a genes differential expression related to defense mechanisms in Chile cultivars with different degrees of resistance to *P. capsici* after being inoculated with this phytopathogen. Such differential expression in the encoding genes for a basic PR protein (CABPR1), a β -1, 3-bisecting glucanase (CABGLU), a peroxidase (CAPO1) and a cyclase sesquiterpene (CASC1) have been previously reported. These genes mRNA levels are remarkably increased at 24 h post-inoculation, having a maximum induction of the genes responsible for PR-1 and cyclase sesquiterpene. Four genes expression levels were different among Chile genotypes. The PR-1, peroxidase and cyclase sesquiterpene genes were always expressed at higher levels in resistant cultivars than in susceptible (Silvar *et al.*, 2008).

1.11.1.7) y la acumulación de un polímero similar a lignina medido por medio de la derivatización del ácido tioglicólico. La variedad resistente, Smith-5, mostró una respuesta más intensa a los elicitores que las variedades sensibles evaluadas, Americano y Yolo Wonder. Además, la elicitación redujo el nivel de actividad total de la peroxidasa en las variedades susceptibles, mientras que dicha actividad aumentó en la variedad resistente y estuvo acompañada por la expresión *de novo* de isoenzimas ácidas de la peroxidasa. Una proteína PR con pI de 5.7 con actividad de peroxidasa, fue inducida por los elicitores solamente en la variedad resistente, haciéndola candidata a ser un marcador de resistencia (Egea *et al.*, 2001).

Jung *et al.* (2004b) reportaron la activación de la peroxidasa (POD; EC 1.11.1.7) y la polifenol oxidasa (PPO; EC 1.14.18.1), dos enzimas involucradas en la lignificación, en hojas de plantas de Chile, al ser inoculadas con zoosporas de *P. capsici*. A los siete días después de la inoculación, se encontró un aumento del 36.7% en la actividad de la POD en las raíces de las plantas inoculadas con el patógeno. En cuanto a la actividad de la PPO, en las raíces hubo un incremento en la actividad de esta enzima durante tres días tras la inoculación, con una subsecuente disminución marcada. Al séptimo día existió una reducción en la actividad de esta enzima en las hojas inoculadas. El rápido incremento y posterior disminución de la actividad de la PPO parece indicar que esta enzima se encuentra involucrada en la respuesta temprana a la invasión del patógeno.

Se han realizado experimentos para determinar la relación entre la susceptibilidad de los frutos de Chile a la pudrición por *P. capsici* y la madurez de los frutos. La susceptibilidad de los frutos a la infección disminuye conforme aumenta el estado de maduración. La cutícula de los frutos rojos es de mayor grosor que la de los frutos verdes, y esto parece ser un factor en la resistencia a *P. capsici*. Este engrosamiento de la cutícula de los frutos rojos se ve favorecida por un aumento en la actividad de peroxidases conforme aumenta su maduración, enzimas que contribuyen a la polimerización de compuestos similares a lignina los cuales incrementan la barrera a la infección (Biles *et al.*, 1993).

Existe una expresión diferencial de los genes relacionados con los mecanismos de defensa en cultivares de Chile con diferentes grados de resistencia a *P. capsici* tras ser inoculados con este fitopatógeno. Se ha reportado dicha expresión diferencial en los genes que codifican para una proteína PR-1 básica (CABPR1), una β -1,3-glucanasa básica (CABGLU), una peroxidasa (CAPO1) y una sesquiterpeno ciclasa (CASC1). Los niveles de mRNA de estos genes incrementan de manera marcada a las 24 h post-inoculación, observándose una inducción máxima de los genes responsables de la PR-1 y la sesquiterpeno ciclasa. Los niveles de expresión de los cuatro genes fueron diferentes entre los genotipos de Chile. Los genes de la PR-1, la peroxidasa y la sesquiterpeno ciclasa siempre se expresan en mayor nivel en los cultivares resistentes que en los susceptibles (Silvar *et al.*, 2008).

Se ha estudiado la acumulación diferencial de

The PR protein differential accumulation in Chile plants stems Habyul cultivar, *P. capsici* inoculated, has been studied. The β -1, 3-glucanases accumulation is better identified in incompatible interactions. The chitinases accumulation is very similar in compatible and incompatible interactions, having a slightly higher enzymatic activity in incompatible interactions.

Regarding β -1, 3-glucanases, two acidic isoforms, Ga1 and Ga2, have been reported. It is suggested from these that the Ga2 isoform with a 4.8 pI, could be associated with resistance to *P. capsici*, since their high activity is only detected in incompatible interactions three to four days after inoculation (Kim and Hwang, 1994). The basic β -1, 3-glucanase CABGLU encoding gene was expressed in *P. capsici* Chile plant stems inoculated by greater amounts in compatible interactions. The CABGLU mRNA was expressed constitutively in Chile plant roots (Jung and Hwang, 2000).

Additionally, the chitinase mRNA induction (CACHi2) was revealed in *P. capsici* inoculated Chile stems at 6 h post inoculation; the expression level was increased gradually in incompatible interactions. The chitinase transcripts induction was further detected. This enzyme transcript was located in the vascular tissues, and its expression became restricted to cells associated with the phloem. It is inferred that an initial role in limiting the pathogen growth is performed by these extracellular chitinases (Lee *et al.*, 2000).

The role played by the defense mechanism utilized is not known in all cases. As an instance, it has been reported that the CALRR1 gene (*C. annuum* Leucine-Rich Repeat protein 1) [accession numbers: AF082727 (EST clone), AY237117 (full length cDNA)], which codes for a leucine rich repeats protein (LRR) and it is expressed in Chile when inoculated with *P. capsici*, is secreted to leaves, stems and fruit phloem. It is known that LRR proteins function in several signal transduction pathways plays a major role in protein-protein interactions mediation (Jung *et al.*, 2004a).

The expression profiles of New Mexico 6-4 (NM6-4) Chile plants, a susceptible line, were assessed by Richins *et al.* in 2010; CM-334 and 01C 1688 were resistant lines developed as a backcross with CM-334 and the *C. annuum* cv. Early Jalapeno at 0, 4 and 24 h post-inoculation. A total of 87 genes differentially expressed in response to inoculation were revealed for CM-334. A total of 207 genes were revealed as well in the CM-334 susceptible line with a differential expression after inoculation, where a decrease in genetic expression at 24 h was observed.

A total of twenty two genes were uniquely expressed only in the resistant lines; out of those, 19 seemed to be induced in response to *P. capsici*, whereas three appear to be repressed. It is presumed that the alleles for these genes in CM-334 are different either in their coding or in their promoter regions. A gene transcription for a cellular membrane protein (RR58-41) was induced in a unique manner on the lines resistant to *Phytophthora*. The function of this cell membrane protein is unknown.

At the same time that the defense mechanisms in CM-334 are being studied, research on the possibility to

proteínas PR en tallos de plantas de chile, cultivar Habyul, inoculadas con *P. capsici*. La acumulación de β -1,3-glucanasas es más pronunciada en interacciones incompatibles. La acumulación de quitinasas es similar en interacciones compatibles e incompatibles, siendo la actividad enzimática ligeramente mayor en las interacciones incompatibles. Con respecto a las β -1,3-glucanasas, se han reportado dos isoformas ácidas Ga1 y Ga2. De estas, se sugiere que la isoforma Ga2, con pI de 4.8, podría estar asociada con la resistencia a *P. capsici* dado que su elevada actividad es detectada solamente en interacciones incompatibles a los tres a cuatro días después de la inoculación (Kim y Hwang, 1994). El gen CABGLU que codifica para una β -1,3-glucanasa básica, se expresó en tallos de plantas de chile inoculadas con *P. capsici* en mayor cantidad en interacciones compatibles que en interacciones incompatibles. El mRNA de CABGLU se expresa de manera constitutiva en las raíces de las plantas de chile (Jung y Hwang, 2000). Adicionalmente, en tallos de chiles inoculados con *P. capsici* se evidenció la inducción del mRNA de la quitinasa (CACHi2) a las 6 h post inoculación y el nivel de expresión aumentó de manera gradual en interacciones incompatibles. En las compatibles, la inducción de los transcritos de quitinasa se detectó de manera más tardía. El transcrito de esta enzima se localizó en los tejidos vasculares y su expresión se restringió a las células relacionadas con el floema. Se infiere que estas quitinasas extracelulares tienen un papel inicial en limitar el crecimiento del patógeno (Lee *et al.*, 2000).

No en todos los casos se conoce qué papel juega el mecanismo de defensa empleado. Por ejemplo, se ha reportado el gen CALRR1 (*C. annuum* Leucine-Rich Repeat protein 1) [accession numbers: AF082727 (EST clone), AY237117 (full length cDNA)], el cual codifica para una proteína rica en repeticiones de leucina (LRR) la cual se expresa en chiles al ser inoculados con *P. capsici* y que es secretada al floema de hojas, tallos y frutos. Se sabe que las proteínas LRR funcionan en varias vías de transducción de señales y que juegan un papel importante en la mediación de interacciones proteína-proteína (Jung *et al.*, 2004a).

En el 2010, Richins *et al.*, evaluaron los perfiles de expresión de las plantas de chile New Mexico 6-4 (NM6-4), una línea susceptible; el CM-334 y el 01C 1688 una línea resistente desarrollada como una retrocruza con el CM-334 y el *C. annuum* cv. Early Jalapeno, a las 0, 4 y 24 h post-inoculación. Para el CM-334, encontraron 87 genes que se expresaron de manera diferencial en respuesta a la inoculación. En la línea susceptible NM6-4, 207 genes presentaron una expresión diferencial tras la inoculación, en donde se observó una disminución en la expresión génica a las 24 h. Veintidós genes se expresaron de manera única solamente en las líneas resistentes, de estos 19 parecen ser inducidos en respuesta al ataque por *P. capsici* mientras que tres parecen ser reprimidos. Se presume que los alelos para estos genes en el CM-334 son distintos ya sea en su código o en sus regiones promotoras. La transcripción de un gen para una proteína de membrana celular (RR58-41) fue inducida de manera única en las líneas resistentes a *Phytophthora*. Se desconoce la función de esta proteína de membrana celular.

have it used as a rootstock is being carried out. Recently, the effectiveness of producing chile ancho grafted onto CM-334 as a measure to control root rot caused by *P. capsici* was demonstrated in Celaya, Guanajuato.

The commercial fruit yield of grafted plants on CM-334 was lower than untreated plants. However, no control plant was able to survive *P. capsici* attack, whereas all of those grafted on CM-334 did survive. It is suggested by the study hereby that the use of plants grafted on CM-334 shall be used as a viable alternative to produce chile in areas with a high incidence of this phytopathogen (García *et al.*, 2010). It is necessary to perform more of this type of studies using different chile varieties.

CONCLUSIONS

The mechanisms involved in chile plant (*C. annuum*) defense against the *P. capsici* oomycete are rather complex and rarely fully understood. Responses include chemical compounds accumulation in the tissues, activation of the enzymes involved in lignin biosynthesis, plant oxidative metabolism alterations, phenolic compounds accumulation, cytologic and histologic tissue changes, as well as the synthesis of enzymes capable of damaging pathogen cells, the systemic response acquired and the hypersensitive response. Such mechanisms diversity is a reflection of the polygenic nature of *C. annuum*-*P. capsici* interaction.

It has been revealed by research progress that both structural and functional changes are manifested in chile plants during the *P. capsici* process of infection. It is suggested by the information currently generated that chile plants are resistant to this pathogen, revealing not only an earlier defense response but also more intense than susceptible plants. Moreover, infection resistant chile plants seem to be better able to withstand the oxidative stress generated by the interaction with the pathogen. Nonetheless, the isoenzymes and protein relevance that has been reported only in resistant cultivars that can be used as resistant markers in genetic improvement programs, and whose function remains unknown, must not be ignored.

Acknowledgements. The department of Chemical-Biological Sciences at the Autonomous University of Ciudad Juárez is acknowledged for the help provided for the proper performance of the study hereby.

LITERATURA CITADA

- Alejo IF, Márquez LMA, Morales RI, Vázquez GMS and Olalde PV. 2008. Mycorrhizal protection of chili plants challenged by *Phytophthora capsici*. *European Journal of Plant Pathology* 120:13-20.
- Biles CL, Wall MM, Waugh M and Palmer H. 1993. Relationship of *Phytophthora* fruit rot in fruit maturation and cuticle thickness of New Mexican-type peppers. *Phytopathology* 83:607-611.
- Blair J, Coffey M, Park S, Geiser D and Kang S. 2008. A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology* 45:266-277.
- Bosland PW and Lindsey DL. 1991. A seedling screen for

Al mismo tiempo que se están estudiando los mecanismos de defensa en CM-334, se están haciendo investigaciones sobre la posibilidad de usarlo como portainjerto. Recientemente, se demostró la efectividad de producir chile ancho injertado sobre CM-334 como medida para controlar la pudrición de raíz provocada por *P. capsici* en Celaya, Guanajuato. El rendimiento de frutos comerciales de plantas injertadas sobre CM-334 fue menor al de plantas sin tratamiento. No obstante, ninguna planta testigo fue capaz de sobrevivir al ataque de *P. capsici*, mientras que todas las injertadas sobre CM-334 sobrevivieron. Este estudio sugiere como alternativa viable el uso de plantas injertadas sobre CM-334 para producir chile en zonas donde existe una alta incidencia de este fitopatógeno (García *et al.*, 2010). Es necesario realizar más estudios de este tipo utilizando diferentes variedades de chile.

CONCLUSIONES

Los mecanismos involucrados en la defensa de las plantas de chile (*C. annuum*) contra el oomicete *P. capsici*, son complejos y pocas veces comprendidos en su totalidad. Las respuestas comprenden la acumulación de compuestos químicos en los tejidos, la activación de enzimas involucradas en la biosíntesis de lignina, alteraciones del metabolismo oxidativo de la planta, la acumulación de compuestos fenólicos, cambios citológicos e histológicos de los tejidos, así como la síntesis de enzimas capaces de dañar las células del patógeno, la respuesta sistémica adquirida y la respuesta hipersensible. Esta diversidad de mecanismos de defensa es reflejo de la naturaleza poligénica de la interacción *C. annuum*-*P. capsici*.

El avance en las investigaciones ha demostrado los cambios estructurales y funcionales que se manifiestan en las plantas de chile durante el proceso de infección de *P. capsici*. Hasta el momento, la información generada sugiere que las plantas de chile que son resistentes a este fitopatógeno manifiestan una respuesta de defensa más temprana y con mayor intensidad que aquellas plantas que son susceptibles. Además, las plantas de chile resistentes a la infección parecen estar mejor capacitadas para soportar el estrés oxidativo generado por la interacción con el patógeno. No obstante, no se debe dejar de lado la importancia de isoenzimas y proteínas que han sido reportadas únicamente en cultivares resistentes, que pueden ser utilizadas como marcadores de resistencia en programas de mejora genética, y cuya función aun permanece desconocida.

Agradecimientos. Se agradece al Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

- phytophthora root rot of pepper, *Capsicum annuum*. Plant Disease 75:1048-1050.
- Candela ME, Egea C, García PMD, Costa J and Candela M. 2000. Breeding paprika type peppers resistant to *Phytophthora capsici*. Acta Horticulturae 522:79-86.
- Cooke D, Drenth A, Duncan J, Wagels G and Brasier C. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. Fungal Genetics and Biology 30:17-32.
- Davidse LC, Hofman AE and Velthuis GCM. 1983. Specific interference of metalaxyl with endogenous RNA polymerase activity in isolated nuclei from *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis*. Experimental Mycology 7:344-361.
- Davidson CR, Carroll RB, Evans TA and Mulrooney RP. 2002. First report of *Phytophthora capsici* infecting lima bean (*Phaseolus lunatus*) in the Mid-Atlantic region. Plant Disease 86:1049.
- Dick MW. 2001. Straminipilous Fungi: systematics of the Peronosporomycetes including accounts of the marine straminipilous protists, the plasmodiophorids and similar organisms. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. The Netherlands. 660p.
- Dodds PN. 2010. Genome evolution in plant pathogens. Science 330:1486-1487.
- Egea C, Sid AA, Candela M and Candela ME. 2001. Elicitation of peroxidase activity and lignin biosynthesis in pepper suspension cells by *Phytophthora capsici*. Journal of Plant Physiology 158:151-158.
- Egea C, Alcázar MD and Candela ME. 1996a. Capsidiol: Its role in the resistance of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. Physiologia Plantarum 98:737-742.
- Egea C, García PMD and Candela ME. Capsidiol accumulation in *Capsicum annuum* stems during the hypersensitive reaction to *Phytophthora capsici*. Journal of Plant Physiology 149: 762-764.
- Erselius L and Vallavieille C. 1984. Variation in protein profiles of *Phytophthora*: Comparison of six species. Transactions of the British Mycological Society 3:463-472.
- Erwin D and Ribeiro O. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathological Society. USA. 562p.
- Fernández PSP, Biles CL, Waugh ME, Onsurez WK, Rodríguez AG and Liddell CM. 2004. Characterization of Southern New Mexico *Phytophthora capsici* Leon isolates from pepper (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 22:82-89.
- Foster JM and Hausbeck MK. 2010a. Resistance of pepper to *Phytophthora* crown, root, and fruit rot is affected by isolate virulence. Plant Disease 94:24-30.
- Foster JM and Hausbeck MK. 2010b. Managing *Phytophthora* crown and root rot in bell pepper using fungicides and host resistance. Plant Disease 94:697-702.
- Galleghy M and Hong C. 2008. *Phytophthora*: Identifying species by morphology and DNA fingerprints. American Phytopathological Society. USA. 168p.
- García RM, Chiquito AE, Loeza LP, Godoy HH, Villordo PE, Pons HJ, González CM y Anaya LJ. 2010. Producción de chile ancho injertado sobre Criollo de Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*. Agrociencia 44:701-709.
- Gayoso C, Pomar F, Merino F and Bernal MA. 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in

- Capsicum annuum* L. var. *annuum* infected by *Phytophthora capsici* Leon. Scientia Horticulturae 102:1-13.
- Gevens AJ, Donahoo RS, Lamour KH and Hausbeck MK. 2008a. A detached cucumber fruit method to screen for resistance to *Phytophthora capsici* and effect of fruit age on susceptibility to infection. Plant Disease 90:1276-1282.
- Gevens AJ, Donahoo RS, Lamour KH and Hausbeck MK. 2008b. Characterization of *Phytophthora capsici* causing foliar and pod blight of snap bean in Michigan. Plant Disease 92:201-209.
- Gil ORG, Palazon EC and Cuartero ZJ. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SCM-334'. Plant Breeding 107: 50-55.
- Glosier B, Ogundiwin E, Sidhu G, Sischo D and Prince, J. 2008. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. Euphytica 162:23-30.
- Godinez VD, Rocha SM, Sepúlveda GEB, Lara RJ, Rojas MR and Zavaleta ME. 2008. Phenylalanine ammonia lyase activity in chilli CM-334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. European Journal of Plant Pathology 120:299-303.
- Goldberg NP. 1995. Chile pepper diseases. New Mexico Agricultural Experiment Station, College of Agriculture and Home Economics. Circular 549.
- Granke LL, Windstam ST, Hoch HC, Smart CD and Hausbeck MK. 2009. Dispersal and movement mechanisms of *Phytophthora capsici* sporangia. Phytopathology 99:1258-1264.
- Guerrero MA and Laborede JA. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. Synopses of the IVth meeting of the capsicum working group of Eucarpia. I.V.T., Wageningen, The Netherlands. 52-56p.
- Guigón LC y González GP. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum*, L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología 19:49-56.
- Hausbeck MK and Lamour KH. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. Plant Disease 88:1292-1303.
- Heath MC. 2000. Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. Current Opinion in Plant Biology 3:315-319.
- Hwang BK and Sung NK. 1989. Effect of metalaxyl on capsidiol production in stems of pepper plants infected with *Phytophthora capsici*. Plant Disease 73:748-751.
- Jung EH, Jung HW, Lee SC, Han SW, Heu S and Hwang BK. 2004. Identification of a novel pathogen-induced gene encoding a leucine-rich repeat protein expressed in phloem cells of *Capsicum annuum*. Biochimica et Biophysica Acta 1676:211-222.
- Jung HW and Hwang BK. 2000. Pepper gene encoding a basic β -1,3-glucanase is differentially expressed in pepper tissues upon pathogen infection and ethephon and methyl jasmonate treatment. Plant Science 156:23-34.
- Jung W, Jin Y, Kim Y, Kim K, Park R and Kim T. 2004b. Inoculation of *Paenibacillus illinoisensis* alleviates root mortality, activates of lignification-related enzymes, and induction of the isozymes in pepper plants infected by *Phytophthora capsici*. Biological Control 64:645-652.
- Kim YJ and Hwang BK. 1994. Differential accumulation of β -1,3-glucanase and chitinase isoforms in pepper stems infected by compatible and incompatible isolates of *Phytophthora capsici*. Physiological and Molecular Plant Pathology 45:195-209.
- Kim S and Kim Y. 2009. Histological and cytological changes associated with susceptible and resistant responses of chili pepper root and stem to *Phytophthora capsici* infection. Plant Pathology Journal 25:113-120.
- Koç E, Sülün Üstün A, İşlek C and Kaşko Arici Y. 2011. Defence responses in leaves of resistant and susceptible pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars infected with different inoculum concentrations of *Phytophthora capsici* Leon. Scientia Horticulturae 128:434-442.
- Lamour K. 2009. *Phytophthora capsici*: Sex, selection and the wealth of variation. Pp. In: Lamour K and Kamoun S (eds.). Oomycete Genetics and Genomics: Diversity, Interactions and Research Tools. Wiley-Blackwell. USA. 582p.
- Laxalt AM and Munnik T. 2002. Phospholipid signaling in plant defense. Current Opinion in Plant Biology 3:315-319.
- Lee YK, Hippe-Sanwald S, Jung HW, Hong JK, Hause B and Hwang BK. 2000. *In situ* localization of chitinase mRNA and protein in compatible and incompatible interactions of pepper stems with *Phytophthora capsici*. Physiological and Molecular Plant Pathology 57:111-12.
- Li Z, Long W, Zheng J and Lei J. 2007. Isolation and Identification of *Phytophthora capsici* in Guangdong Province and measurement of their pathogenicity and physiological race differentiation. Frontiers of Agriculture in China 1:377-381.
- López MN, Colinas LMT, Peña VCB, Salinas MY, Fuentes MP, Biesaga M and Zavaleta ME. 2011. 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 338:399-409.
- Madriz K. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 3:22-32.
- Manohara D, Mulya K and Wahyuno D. 2004. *Phytophthora* disease on black pepper and the control measures. Focus on Pepper 1:37-49.
- Maleck K and Dietrich RA. 1999. Defense on multiple fronts: How do plants cope with diverse enemies?. Trends in Plant Science 4:215-219.
- Martin FN and Tooley PW. 2003. Phylogenetic relationships of *Phytophthora ramorum*, *P. nemorosa*, and *P. pseudosyringae*, three species recovered from areas in California with sudden oak death. Mycological Research 107:1379-1391.
- Miller SA, Miller ML, Ivey L and Mera J. 2002. Responses of pepper cultivars and experimental breeding lines to phytophthora blight, 2001. Biological and cultural tests for control of plant disease. (Online) Report 17:V16.

- DOI:1094/BC17. American phytopathological society, St. Paul, Minnesota.
- Molot PM, Mas P, Conus M, Ferriere H and Ricci P. 1981. Relations between capsidiol concentration, speed of fungal invasion and level of induced resistance in cultivars of pepper (*Capsicum annuum*) susceptible or resistant to *Phytophthora capsici*. *Physiological Plant Pathology* 18:379-389.
- Monroy BS and Bosland P. 2011. Identification of novel physiological races of *Phytophthora capsici* causing foliar blight using the New Mexico recombinant inbred pepper lines set as a differential host. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 136:205-210.
- Moore R. 2002. The Straminipila. *Mycological Research* 106:1247-1248.
- Oelke L, Bosland P and Steiner R. 2003. Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128:213-218.
- Ogundiwin EA, Berke TF, Massoudi M, Black LL, Huestis G, Choi D, Lee S and Prince JP. 2005. Construction of 2 intra-specific linkage maps and identification of resistance QTLs for *Phytophthora capsici* root-rot and foliar-blight diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genome* 48:698-711.
- Ortiz R, Delgado FF, Alvarado G and Crossa J. 2010. Classifying vegetable genetic resources- A case study with domesticated *Capsicum* spp. *Scientia Horticulturae* 126:186-19.
- Ozgonen H and Erkilic A. 2007. Growth enhancement and *Phytophthora* blight (*Phytophthora capsici* Leonian) control by arbuscular mycorrhizal fungi inoculation in pepper. *Crop Protection* 26:1682-1688.
- Palloix A, Daubeze AM and Pochard E. 1988. Time sequences of root infection and resistance expression in an artificial inoculation method of pepper with *Phytophthora capsici*. *Journal of Phytopathology* 123:12-24.
- Pérez ML, Durán OL, Ramírez MR, Sánchez PR y Olalde PV. 2003. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:19-25.
- Pozo MJ, Van LLC and Pieterse CMJ. 2005. Jasmonate-signals in plant-microbe interactions. *Journal of Plant Growth Regulation* 23:211-222.
- Quesada OLM and Hausbeck MK. 2010. Resistance in tomato and wild relatives to crown and root rot caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 100:619-627.
- Richins R, Micheletto S and O'Connell M. 2010. Gene expression profiles unique to chile (*Capsicum annuum* L.) resistant to *Phytophthora* root rot. *Plant Science* 178:192-201.
- Ristaino JB. 1990. Intraspecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *Phytopathology* 80:1253-1259.
- Ristaino JB and Johnston SA. 1999. Ecologically based line differential identifies race-specific resistance to *Phytophthora* root rot in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 89:867-870.
- Rodríguez MVM, Luna RJ, Valle GP, Tiscareño LM y Ruiz CJA. 2004. Caracterización patogénica y sexual de *Phytophthora capsici* Leonian y análisis de su distribución espacial en el centro-norte de México mediante un sistema de información geográfica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:72-81.
- Sarath BB, Pandravada SR, Prasada Rao RDVJ, Anitha K, Chakrabarty SK and Varaprasad KS. 2011. Global sources of pepper genetic resources against arthropods, nematodes and pathogens. *Crop Protection* 30:389-400.
- Schena L and Cooke D. 2006. Assessing the potential of regions of the nuclear and mitochondrial genome to develop a "molecular tool box" for the detection and characterization of *Phytophthora* species. *Journal of Microbiological Methods* 67:70-85.
- Silva RHV, Fernández PSP, Góngora CC, Macías LBC y Ávila QGD. 2009. Distribución espacio temporal de la Marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) en Chihuahua e identificación del agente causal *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:134-147.
- Silvar C, Merino F and Díaz J. 2008. Differential activation of defense-related genes in susceptible and resistant pepper cultivars infected with *Phytophthora capsici*. *Journal of Plant Physiology* 165:1120-1124.
- Sy O, Steiner R and Bosland P. 2008. Recombinant inbred approaches to management of *Phytophthora* blight of bell pepper. *Plant Disease*. 83:1080-1089.
- Tahboub M, Sanogo S, Bosland P and Murray L. 2008. Heat level in chile pepper in relation to root and fruit infection by *Phytophthora capsici*. *HortScience* 43:1846-1851.
- Tang Q, Cui L, Li D, Dai T, Yin W, Dong S, Xing H, Zheng X and Wang Y. 2011. Resistance evaluation of soybean germplasm from Huanghuai region to *Phytophthora* root rot. *Agricultural Sciences in China* 10:246-251.
- Thabuis A, Palloix A, Pflieger S, Daubeze AM, Caranta C and Lefebvre V. 2003. Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: Evidence for conserved resistance loci across *Solanaceae* and for a large genetic diversity. *Theoretical and Applied Genetics* 106:1473-1485.
- Thabuis A, Palloix A, Servin B, Daubeze AM, Signoret P and Hospital F. 2004. Marker-assisted introgression of 4 *Phytophthora capsici* resistance QTL alleles into a bell pepper line: validation of additive and epistatic effects. *Molecular Breeding* 14:9-20.
- Thines M and Kamoun S. 2010. Oomycete-plant coevolution: recent advances and future prospects. *Current Opinion in Plant Biology* 13:427-433.
- Truong N, Liew E and Burgess L. 2010. Characterization of *Phytophthora capsici* isolates from black pepper in Vietnam. *Fungal Biology* 114:160-170.
- Turelli M, Coulomb C, Coulomb PJ and Roggero JP. 1984. Effects of capsidiol on the lipid and protein content of isolated membranes of *Phytophthora capsici*. *Physiological Plant Pathology* 24: 211-22.
- Tyler B. 2001. Genetics and genomics of the oomycete-host interface. *Trends in Genetics* 17:611-614.

- Ueeda M, Kubota M and Nishi K. 2006. Contribution of jasmonic acid to resistance against *Phytophthora* blight in *Capsicum annuum* cv. SCM334. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67:149-154.
- Vargas MT, Zavaleta ME y Hernández AM. 1996. Rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* Leo. en chile (*Capsicum annuum* L.) serrano CM-34 por *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. *Nematropica* 26:159-166.
- Vásquez LA, Tlapal BB, Yáñez MM, Pérez PR y Quintos EM. 2009. Etiología de la marchitez del “chile de agua” (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32:127-134.
- Velásques VR, Medina AM y Luna RJ. 2001. Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annuum* L.) en el norte-centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:175-181.
- West P, Appiah A and Gow N. 2003. Advances in research on oomycete root pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 62:99-113.
- Widmer T. 2010. *Phytophthora kernoviae* oospore maturity, germination and infection. *Fungal Biology* 114:661-668.
- Zavaleta ME. 2002. Rompimiento de resistencia a hongos fitopatógenos por nematodos fitoparásitos, una hipótesis. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:118-122.