



Artículo Científico

Reducción de la marchitez del chile: sinergia de los hongos micorrízicos arbusculares y nanopartículas de plata

Hilda Karina Sáenz-Hidalgo, ¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Chihuahua, Av. 4^a sur 3820, Delicias, 33089, Chihuahua, México, hsaenz@ciad.mx; **Esteban Sánchez-Chávez**; **Nuvia Orduño-Cruz**, ²Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Calle Escorza 900, Chihuahua, 31000, Chihuahua, México, norduno@uach.mx; **Mahendra Rai**, Department of Biotechnology, SGB Amravati University, Amravati-444 602, Maharashtra, India, mahendrarai7@gmail.com; **Victor Olalde-Portugal**, Cinvestav-Instituto Politécnico Nacional, Libramiento Norte Carretera Irapuato-León Km 9.6, Irapuato, 36821, Guanajuato, México, victor.olalde@cinvestav.mx; **Graciela Dolores Ávila-Quezada***.

*Autor de correspondencia:
Graciela Dolores
Ávila-Quezada
gdavila@uach.mx

Sección:
Número Especial

Recibido:
17 Junio, 2024
Aceptado:
15 Noviembre, 2024
Publicado:
13 Diciembre, 2024

Cita:
Sáenz-Hidalgo HK,
Sánchez-Chávez E,
Orduño-Cruz N, Rai
M, Olalde-Portugal V
and Ávila-Quezada GD.
2024. Reducción de
la marchitez del chile:
sinergia de los hongos
micorrízicos arbusculares y
nanopartículas de plata.
Revista Mexicana de
Fitopatología 42(4): 43.
<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-8>

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. El cultivo de chile chilaca (*Capsicum annuum*) es seriamente afectado por el ataque del oomiceto *Phytophthora capsici* causante de la marchitez del chile. Los métodos actuales para control de esta enfermedad son ineficientes, por lo que la búsqueda de alternativas más respetuosas con el medio ambiente es de gran importancia. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y nanopartículas de plata (AgNPs) para tratar de reducir o postergar la marchitez del chile por *P. capsici*.

Materiales y Métodos. Se midieron parámetros de crecimiento en plantas de chile inoculadas y sin inocular con HMA de un consorcio comercial TM-73 (Biotecnología Microbiana) y se evaluó el efecto protector de los HMA y AgNPs (NanoID®) contra *P. capsici* utilizando una escala de severidad para síntomas de marchitez. La respuesta de la planta a la infección del patógeno se evaluó midiendo las actividades de enzimas antioxidantes: PER, SOD, CAT y H₂O₂.

Resultados. Los resultados indicaron que la aplicación de HMA mejoró los parámetros de crecimiento del cultivo de chile chilaca, mientras que la interacción planta-patógeno indujo una respuesta enzimática antioxidante. Los HMA mantuvieron los síntomas de marchitez en o por debajo del 80%, evitando la muerte de la planta. Mientras que las AgNPs (50ppm) retrasaron la mortalidad de las plantas en comparación con el tratamiento control.



Conclusión. El uso combinado de HMA y AgNPs abre opciones para futuras investigaciones en el manejo de enfermedades del chile.

Palabras clave: Actividad antifúngica, actividad enzimática, estrés oxidativo, marchitez, nanotecnología.

INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum annum*) es uno de los cultivos de gran importancia económica a nivel mundial (Hasan *et al.*, 2020). Esta hortaliza es una de las más importantes en México, puesto que es el país con la mayor variedad de chiles cultivados y es el primer exportador de chile verde en el mundo. En el 2023, se sembraron 165,226 hectáreas de chile en el país, siendo Chihuahua el segundo estado productor nacional de este cultivo (SIAP, 2023). El cultivo es afectado por diversas enfermedades causadas por patógenos de raíz. Estas son muy difíciles de controlar y representan uno de los principales factores que reducen el rendimiento, constituyendo una amenaza para la seguridad alimentaria (Rizzo *et al.*, 2021). En este contexto, el chile chilaca es una de las hortalizas más afectadas por estas enfermedades. Patógenos de los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Phytophthora*, causan reducciones en la producción de hasta 50% (Velarde-Félix *et al.*, 2018). En particular, estudios sobre *Phytophthora capsici* han demostrado que este patógeno es uno de los más devastadores, llevando a la pérdida total del cultivo (Sánchez-Gurrola *et al.*, 2019).

Fumigantes y fungicidas químicos de acción rápida, como el mefenoxam (enantiómero activo del metalaxil), se han utilizado contra estos patógenos (Sánchez-Gurrola *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2022). Sin embargo, su uso ha llevado al desarrollo de resistencia en los patógenos y ha resultado perjudicial para el ecosistema del suelo y salud humana (Ma *et al.*, 2023). En consecuencia, la tendencia actual en la investigación en el mundo se dirige hacia un enfoque más amigable con el ambiente, buscando reducir el uso de productos organosintéticos para el control de enfermedades (Eke *et al.*, 2019).

Así, el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son una opción prometedora dentro del manejo integrado de *P. capsici*. Se ha demostrado que estos hongos actúan como antagonistas de los patógenos (Hashem *et al.*, 2021), además de incrementar el crecimiento y rendimiento de las plantas. Asimismo, proporcionan tolerancia a diversos factores de estrés y toxicidad por metales pesados (Dowarah *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023).

Por otro lado, las nanopartículas metálicas han recibido gran atención por su efecto biocida y su aplicación como antimicrobianos en los cultivos (Bawskar *et al.*, 2021; Ávila-Quezada *et al.*, 2023). El impacto de estas nanopartículas sobre

hongos fitopatógenos se debe principalmente al daño que ocasionan en la dinámica de la membrana de los hongos, lo que puede comprometer su integridad (Athie-García, *et al.*, 2018). Entre las nanopartículas metálicas, las nanopartículas de plata se destacan por su potencial antifúngico, siendo ampliamente estudiadas en el contexto agrícola contra diversos patógenos de raíz, incluido *P. capsici* (Shen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Ávila-Quezada y Rai, 2023a).

Tanto los HMA (Hashem *et al.*, 2021) como las nanopartículas metálicas (El-Shetehy *et al.*, 2021) promueven la defensa sistémica de las plantas. Los HMA inducen actividad de enzimas de defensa como la glutación reductasa y catalasa (CAT), las cuales desempeñan un papel crucial en la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Hashem *et al.*, 2021). Además, influyen en las actividades de CAT, la superóxido dismutasa (SOD) y la peroxidasa (POD) (Wang *et al.*, 2022).

Debido a la importancia del chile a nivel mundial y a la susceptibilidad del cultivo al ataque de *P. capsici*, el objetivo de este estudio fue analizar el efecto de los hongos micorrízicos arbusculares y nanopartículas de plata en la reducción de la marchitez del chile chilaca, así como determinar la actividad de las enzimas SOD, CAT, PER y la concentración de H_2O_2 .

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en condiciones climatológicas no controladas, utilizando malla sombra; la preparación de soluciones, producción de zoosporas y el porcentaje de colonización micorrízica se realizó en la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. El análisis de las actividades enzimáticas se llevó a cabo en el laboratorio de nutrición vegetal del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo en Delicias, Chihuahua.

Producción de plántulas de chile. Semillas de chile chilaca variedad Colegio 64 (Semillas Western, S.A. de C.V.) se colocaron en una charola de poliestireno de 200 cavidades, utilizando una mezcla estéril de vermiculita-perlita (2:1) como sustrato. Doce días después de la germinación, se aplicó una solución nutritiva basada en la fórmula propuesta por Steiner (1961), ajustada a un pH final de 5.5 y con una concentración de fósforo de 22 ppm. La composición de la solución nutritiva es la siguiente: 6 mM de NH_4NO_3 , 0.71 mM de K_2HPO_4 , 0.3 mM de K_2SO_4 , 4.0 mM de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 1.4 mM de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 2 μM de $MnSO_4 \cdot H_2O$, 1.0 μM de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.25 μM de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.3 μM de $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ y 0.5 μM de H_3BO_3 (J.T.Baker, México).

Las plántulas se trasplantaron a macetas de 13x12 cm, empleando la misma mezcla de sustrato, 30 días después de la germinación.

Inoculación con HMA. Durante el trasplante, realizado 30 días después de la germinación, se incorporaron 1000 esporas del consorcio comercial TM-73 (Biotecnología Microbiana, México), que contiene los hongos micorrízicos arbusculares *Gigaspora margarita*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus constrictum*, *Glomus tortuosum*, *Glomus geosporum* y *Acaluspora scrubicurata*, a 20 plantas de chile chilaca. La inoculación de HMA se realizó para determinar su efecto sobre los parámetros de crecimiento. Estas plantas se compararon con 40 plantas de control para evaluar el efecto de HMA en el crecimiento. Las variables de crecimiento fueron evaluadas 30 días después de la aplicación de los HMA (60 días posteriores a la germinación de la semilla): altura de la planta, diámetro de tallo y número de hojas. El diámetro del tallo se midió en la base (mm) utilizando un vernier digital. La altura de la planta se determinó desde la base del tallo hasta el punto de crecimiento más alto (cm). El número de hojas se contabilizó manualmente para cada planta (número de piezas).

Colonización micorrízica. El porcentaje de colonización micorrízica se determinó en tres plantas de chile chilaca, 30 días después de la inoculación de los HMA. Para confirmar la colonización micorrízica en las raíces, éstas se tiñeron con azul de tripano, metodología descrita por Phillips y Hayman (1970) y Muñoz-Márquez et al. (2009). Las raíces se enjuagaron con agua corriente y luego fueron sumergidas en KOH al 10% (J.T. Baker, CTR, México), seguido de un tratamiento de calor húmedo en autoclave a 1 atmósfera de presión durante 10 min. Posteriormente, se eliminó el KOH y se realizaron tres lavados con agua destilada. Luego, las raíces se expusieron al H₂O₂ cubriéndolas y dejándolas en reposo durante 30 min, seguido de un enjuague y adición de HCl al 10% (J.T. Baker, CTR, México), con un tiempo de reposo de 15 min. Después de retirar el exceso de HCl, se añadió una solución de azul de tripano (J.T. Baker, CTR, México), y las raíces se sometieron nuevamente a calor húmedo durante 15 min. a 1 atmósfera de presión.

Posteriormente, las raíces de 1 cm se montaron en portaobjetos, obteniendo un total de 100 raíces por tratamiento. Estas se observaron en un microscopio binocular (ZEISS modelo AxioStar, Alemania). El porcentaje de colonización micorrízica total en las raíces (incluyendo micelio, arbusculos, esporas, vesículas) se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ colonización} = \frac{\text{Número de segmentos colonizados} \times 100}{\text{Número de segmentos totales}}$$

Aplicación de AgNPs. Sesenta días después de la germinación de las semillas, se inició el tratamiento con NanoID® (Investigación y Desarrollo de nanomateriales S.A de C.V.), que contiene AgNPs de tamaño 20nm y una concentración 3400 mg/L.

Se aplicaron 0.5 mL de AgNPs en solución coloidal a una concentración de 50 ppm a una profundidad de 1 cm bajo la superficie del suelo, directamente sobre las raíces secundarias de las plantas.

Producción de zoosporas e inoculación de *P. capsici*. El crecimiento de *P. capsici* aislada previamente de raíces enfermas de bell pepper en Delicias Chihuahua (NCBI: KM369965), se realizó en medio de agar avena a 28 °C durante 7 días de crecimiento. Una porción de este crecimiento se transfirió a una caja Petri nueva, se cubrió con una solución amortiguadora de fosfatos estéril y se incubó a 28 °C durante 72 h. Posteriormente, se incubó a 4 °C durante 1 h, seguido de una hora de incubación a 25-28 °C. Las zoosporas emergieron de los esporangios, lo cual se confirmó mediante observación en el microscopio óptico (ZEISS, modelo Axiostar, Alemania).

La inoculación del patógeno se realizó agregando 1 mL de una solución de zoosporas de *P. capsici* a una concentración de 1×10^6 , junto a la raíz de cada planta, en el mismo lugar donde se aplicaron las AgNPs a una profundidad de 2 cm bajo la superficie de suelo, 61 días después de la germinación de las semillas, 24 horas posteriores a la aplicación de AgNPs.

Severidad de la enfermedad. La severidad de la enfermedad se evaluó diariamente después de la inoculación de *P. capsici* utilizando la escala de Sunwoo *et al.* (1996) con ligeras modificaciones (Cuadro 1).

Cuadro 1. Escala de severidad de marchitez por *P. capsici* en *C. annuum*.

Escala	Síntomas	Porcentaje
0	Planta sana	0
1	Hojas ligeramente marchitas, extendidas inclinadas hacia abajo	1-20
2	Planta con hojas extendidas en superficie y las de abajo enroscadas	21-40
3	Planta con todas las hojas enroscadas	41-60
4	Planta defoliada, tallo vivo verde	61-80
5	Tallo vivo café hasta planta muerta	81-100

Diseño experimental y tratamientos. Cada tratamiento incluyó 10 plantas.

- I. AgNPs + *P. capsici*
- II. HMA + *P. capsici*
- III. Control positivo con *P. capsici*
- IV. Control negativo (testigo absoluto)
- V. HMA
- VI. AgNPs

Se estableció un diseño completamente al azar con diferentes repeticiones por tratamiento para evaluar la severidad de la enfermedad, la cual se midió diariamente desde la inoculación de *P. capsici* hasta el día 12.

Actividad enzimática. La actividad enzimática se midió en hojas jóvenes tres días posteriores a la infección con el patógeno, las cuales fueron congeladas para su posterior procesamiento.

Cuatro parámetros bioquímicos se midieron para investigar la respuesta de las plantas a la colonización de micorrizas y a *P. capsici* en los seis tratamientos, incluyendo las actividades enzimáticas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), peroxidasa (PER) y la concentración de peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Superóxido Dismutasa (SOD). Se utilizó entre 0.3-0.5 g de tejido vegetal congelado de cada tratamiento. La muestra se homogenizó en 5 mL de regulador Heppes-CIH 50 mM a pH 7.6 y se centrifugó a 11000 rpm durante 10 min. Se emplearon 100 μ L del extracto enzimático (sobrenadante) y 5 mL de buffer de reacción para la determinación de la actividad enzimática. Las lecturas se realizaron a 560 nm en un espectrofotómetro equipado con una lámpara de día azul con intensidad lumínica de 380 μ mol $m^{-2} s^{-1}$ (Giannopolitis y Ries, 1977). La actividad enzimática se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad SOD} = \text{Unidades SOD} / \text{mg Proteína}$$

Concentración de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Se utilizó entre 0.5-1 g de tejido vegetal congelado de cada tratamiento. La muestra se homogenizó en 5 mL de acetona fría, se filtró, y se realizaron dos lavados adicionales con acetona fría. Posteriormente, se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min. Se tomó 2.5mL del filtrado al cual se le adicionaron 0.5mL de $TiCl_4$ al 20% y se agitó vigorosamente. Luego, se agregaron 2.5mL de NH_4OH al 20% a la mezcla y se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min. Se descartó el sobrenadante y el precipitado se lavó con acetona fría. El precipitado se resuspendió en 7.5mL de H_2SO_4 2N y se aforó a 12.5mL con agua destilada. La concentración de H_2O_2 se determinó utilizando una curva de calibración en un rango de 0.1-0.75nM de H_2O_2 con una absorbancia medida a 485 nm (Brennan y Frenkel, 1977). La concentración de H_2O_2 se expresó como:

$$H_2 O_2 = \mu\text{mol de } H_2 O_2 / \text{mg}$$

Catalasa (CAT). Se pesaron 0.5-1 g de tejido vegetal congelado de cada tratamiento. La muestra se homogenizó en 5 mL de buffer Heppes-CIH 25mM (pH 7.8). Posteriormente, se filtró a través de cuatro capas de gasa y se centrifugó a 11500 rpm

durante 20 min. Se utilizó 500 μL del extracto enzimático (sobrenadante), al cual se le añadieron 0.75 mL de regulador fosfato sódico 25 mM, 0.75 mL EDTA-Na 0.8 mM y 1 mL de H_2O_2 20 mM para la determinación de la actividad enzimática. La actividad de CAT se midió por la cantidad de H_2O_2 oxidado, utilizando una absorbancia medida a 240 nm (Buturi *et al.*, 2022).

La actividad enzimática se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad CAT} = \mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 / \text{mg Proteína} \times \text{min}$$

Peroxidasa (PER). La actividad de la peroxidasa se determinó midiendo el cambio en la absorbancia a 485 nm debido a la oxidación de guaiacol, de acuerdo al siguiente procedimiento. Se utilizó 0.5-1 g de tejido vegetal congelado de cada tratamiento. La muestra se homogenizó en 5 mL de regulador Heppes-CIH 25 mM (pH 7.8) y PVPP. Posteriormente, se filtró y se centrifugó a 11500 rpm durante 10 min. Se emplearon 500 μL del extracto enzimático (sobrenadante), al cual se le añadieron 0.5 mL de regulador fosfato sódico 25 mM, 0.5 mL EDTA-Na 1 μmol , 0.75 mL de guaiacol 0.05 % y 0.75 mL de H_2O_2 10 mM. La actividad de la enzima guaiacol peroxidasa se cuantificó midiendo la absorbancia de 485 nm (Kalir *et al.*, 1984). Esta se expresó como unidades de PER, definidas como el cambio en una unidad de absorbancia por min. y se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{PER} = \mu\text{mol guaiacol} / \text{mg prot} \times \text{min}$$

Análisis estadístico. Para comparar los efectos de los tratamientos con HMA en los parámetros de crecimiento, se realizó un análisis de diferencia de medias mediante la prueba t-Student ($p < 0.05$), utilizando un total de 60 plantas de chile chilaca. Este análisis se llevó a cabo con el apoyo del paquete estadístico SAS.

El análisis de la severidad de la enfermedad se basó en un número variable de plantas de chile por tratamiento, siendo cada planta una repetición. Se graficaron las curvas de cada tratamiento con los promedios diarios y se calculó el área bajo la curva para cada una. Estos datos fueron sometidos a un análisis de varianza ($p \leq 0.05$) y una comparación de medias utilizando la prueba de Tukey (95%) con el paquete estadístico SAS.

Para el análisis de la actividad enzimática, se utilizó un total de tres plantas de chile por tratamiento, considerando cada planta como una repetición. Los datos obtenidos de la actividad de CAT, SOD, PER y concentración de H_2O_2 se analizaron mediante un análisis de varianza ($p \leq 0.05$) y una comparación múltiple de medias por Tukey utilizando el paquete estadístico SAS.

RESULTADOS

Colonización micorrízica. En este estudio, se encontró que las raíces de chile chilaca inoculadas con el consorcio de HMA (*G. margarita*, *G. fasciculatum*, *G. constrictum*, *G. tortuosum*, *G. geosporum* y *A. scrubicurata*), presentaron una colonización micorrízica del 36%. Esta colonización se distribuyó con un 71% de hifas, 18% de vesículas y 11% de arbuscúlos.

La confirmación de la colonización micorrízica se realizó mediante tinción con azul de tripano, permitiendo la observación de una diversidad de estructuras de HMA (Figura 1). Además, se descartó la contaminación cruzada en los tratamientos (I, III, IV y VI) que no incluían HMA, ya que no se observaron estructuras micorrízicas en las raíces de estas plantas.

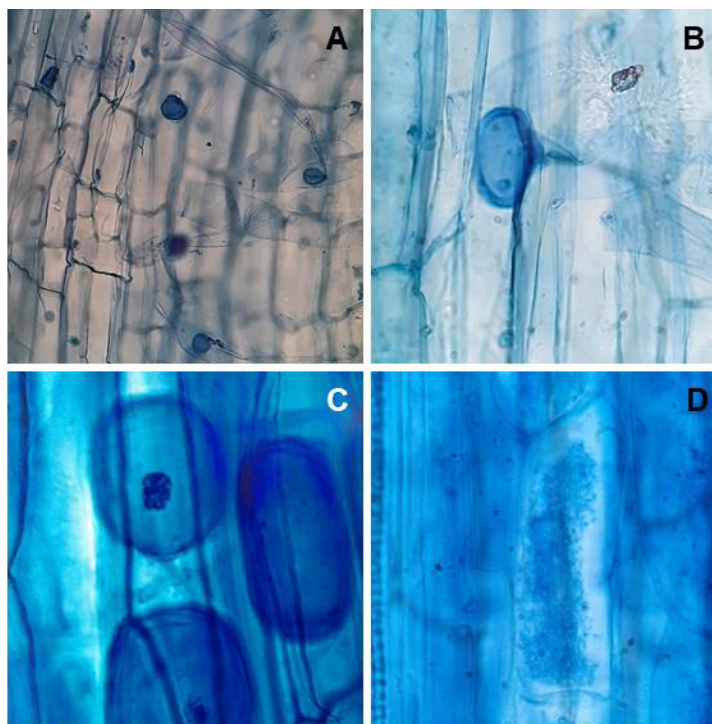


Figura 1. Estructuras micorrízicas en raíces de chile chilaca inoculadas con HMA: A, B, C) Hifas (H) y Vesículas (V), d) Arbuscúlos (A).

Parámetros de crecimiento. El efecto de los HMA en el desarrollo de plantas de chile chilaca se presenta en el Cuadro 2. Se observó que las plantas con inoculación de HMA mostraron incrementos estadísticamente significativos ($p \leq 0.05$) en todos los parámetros de crecimiento evaluados. Específicamente se registró un aumento del 25.4, 32.67 y 17.2% en la altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas, respectivamente, en comparación con las plantas sin HMA.

Cuadro 2. Efecto de HMA en el desarrollo de plantas de chile chilaca (*Capsicum annuum*).

Tratamiento ^x	Número de hojas	Altura planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)
Con HMA	16.8±2.1 ^a	19.9±3.9 ^a	3.4±0.5 ^a
Sin HMA	13.4±2.7 ^b	15.0±2.9 ^b	2.9±0.6 ^b

^xTratamientos: con inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), sin inoculación de HMA.

[†]Diferencia de medias obtenida mediante la prueba t de Student. Letras diferentes en cada columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Severidad de la enfermedad. Los primeros síntomas de la enfermedad causada por *P. capsici*, aparecieron cuatro días después de la inoculación en los tratamientos I (AgNPs + *P. capsici*), II (HMA + *P. capsici*) y III (Control positivo con el patógeno). Al séptimo día, los tres tratamientos presentaron un 60% en la severidad de síntomas. Sin embargo, al noveno día de la inoculación, todas las plantas del tratamiento control (*P. capsici*) mostraron una severidad superior al 96%, debido a la agresividad del patógeno. En contraste, las plantas tratadas con HMA permanecieron con los mismos síntomas de severidad (60%), mientras que el tratamiento con AgNPs mostró un control menos efectivo que el de los HMA con un promedio de severidad del 80% en el mismo periodo. A pesar de ello, las AgNPs lograron reducir los síntomas de marchitez en un 16.4 % respecto al control a los 9 días después de la inoculación. En la Figura 2 se ilustra el incremento de los síntomas de la enfermedad conforme al promedio diario de la escala de severidad previamente descrita.

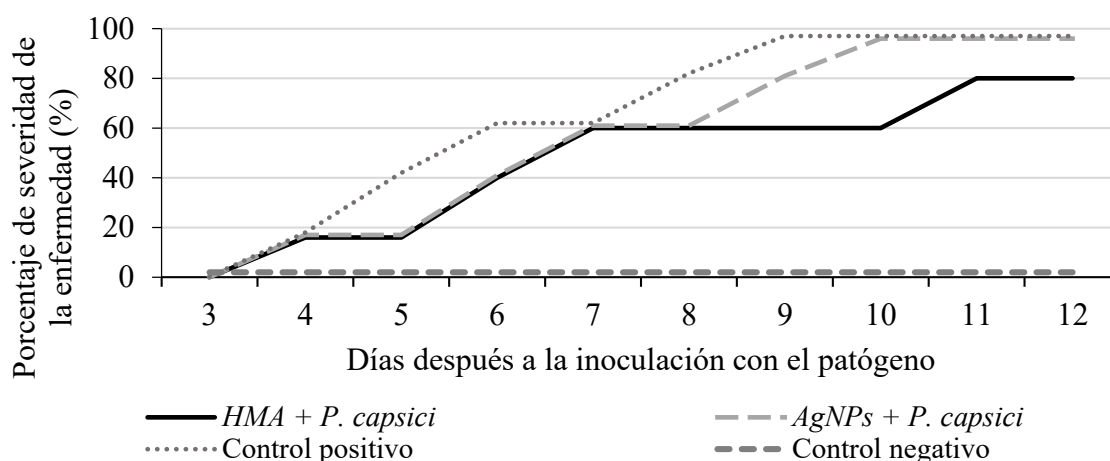


Figura 2. Porcentaje de severidad de la enfermedad causada por *P. capsici* en chile chilaca. La severidad se evaluó con una escala, durante 12 días después de la inoculación del patógeno.

Los resultados del área bajo la curva de este experimento mostraron una diferencia estadística significativa entre el tratamiento con HMA y el control con patógeno. Se observó que las micorrizas arbusculares lograron retardar y reducir la severidad de la enfermedad (Figura 3). Al finalizar el experimento, las plantas micorrizadas no superaron el 80% de severidad, en comparación con las plantas correspondientes al control positivo que mostraron 100% de severidad reduciendo en un 17.5 % la severidad en el total de plantas analizadas a los 12 días posteriores a la inoculación.

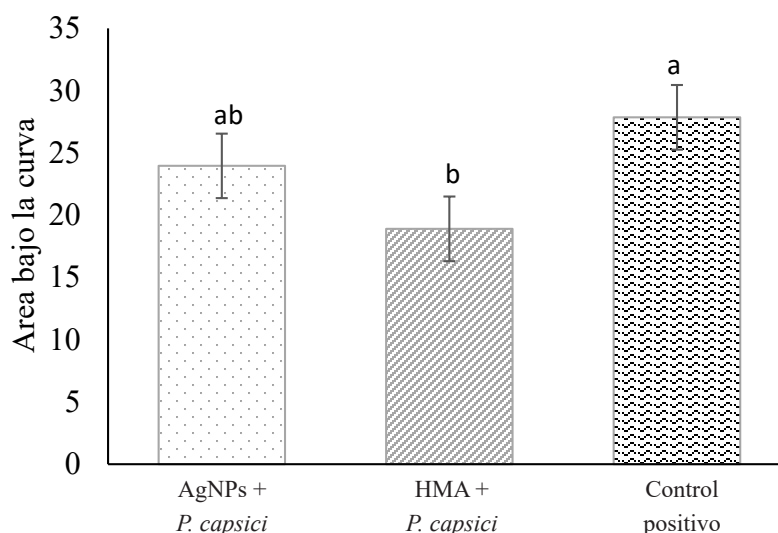


Figura 3. Comparación de medias del área bajo la curva de la escala de síntomas de severidad de la enfermedad causados por *P. capsici* en chile chilaca. Error estándar 5%. Letras diferentes en cada columna indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Actividad enzimática

Superóxido dismutasa (SOD). El análisis de varianza no reveló diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos para la actividad enzimática de SOD. Se observó que los tratamientos correspondientes a AgNPs+*P. capsici*, HMA+*P. capsici* y control positivo presentaron mayor actividad enzimática con (214.8, 199.8 y 181.8 U/mg prot) respectivamente. Representado un aumento del 84%, 70% y 54% con respecto al control negativo en la actividad de SOD, 3 días posteriores a la inoculación con *P. capsici* (Figura 4).

Peróxido de hidrógeno (H₂O₂). La mayor concentración de H₂O₂ se observó en los tratamientos inoculados con el patógeno (AgNPs+*P. capsici*, HMA+*P. capsici*

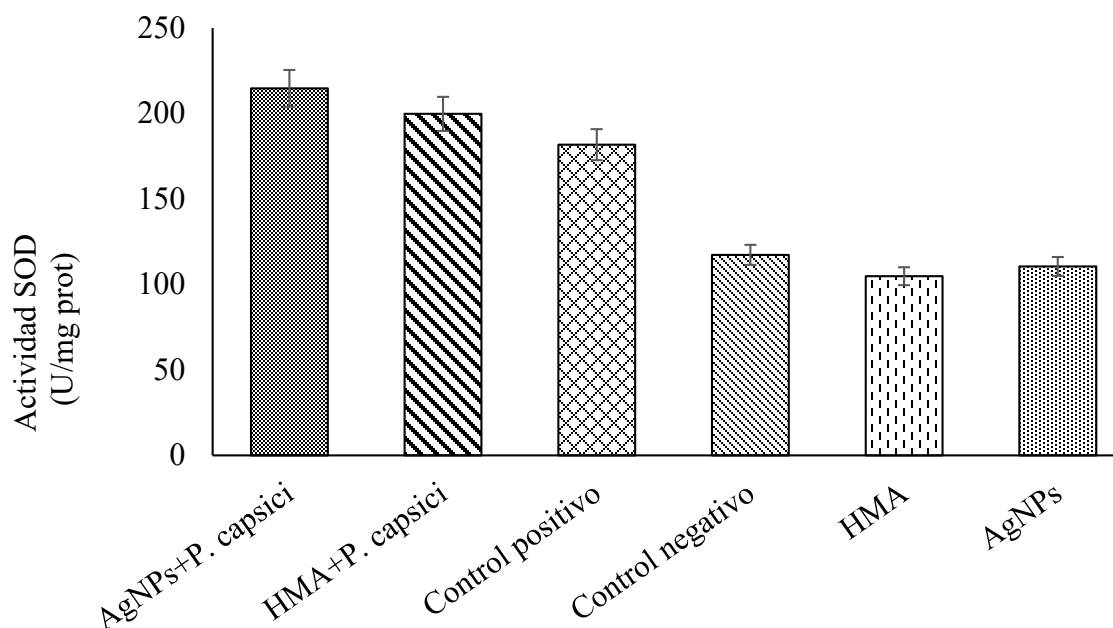


Figura 4. Actividad de Superóxido dismutasa (SOD) en plantas de chile chilaca inoculadas con *P. capsici* tratadas con HMA y AgNPs.

y control positivo) con una concentración de 14.9, 13.8 y 12.5 $\mu\text{mol g}^{-1}$ respectivamente, atribuible a una elevada actividad de la SOD como mecanismo de defensa de la planta. En contraste, los tratamientos con HMA y AgNPs sin patógeno mostraron una reducción en la acumulación de H_2O_2 en comparación con las plantas sanas (Figura 5).

Catalasa (CAT). El análisis estadístico no mostró diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) en la actividad enzimática de la CAT entre tratamientos. Sin embargo, se observó una reducción significativa en la actividad de la enzima en los tratamientos inoculados con *P. capsici* cuatro días después de la inoculación. La mayor actividad de CAT en este estudio se observó en el tratamiento control negativo con $0.28 \mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ mg prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$, seguido de los tratamientos con AgNPs y HMA ambos con $0.27 \mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ mg prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (Figura 6).

Peroxidasa (PER). Aunque la actividad de peroxidasa no mostró diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p > 0.05$), se observa una tendencia hacia una mayor producción de PER en los tratamientos AgNPs+*P. capsici*, HMA+*P. capsici* y control positivo con una concentración de 0.024, 0.024 y 0.025 $\mu\text{Mol guaiacol mg prot}^{-1} \text{ min}^{-1}$ respectivamente (Figura 7).

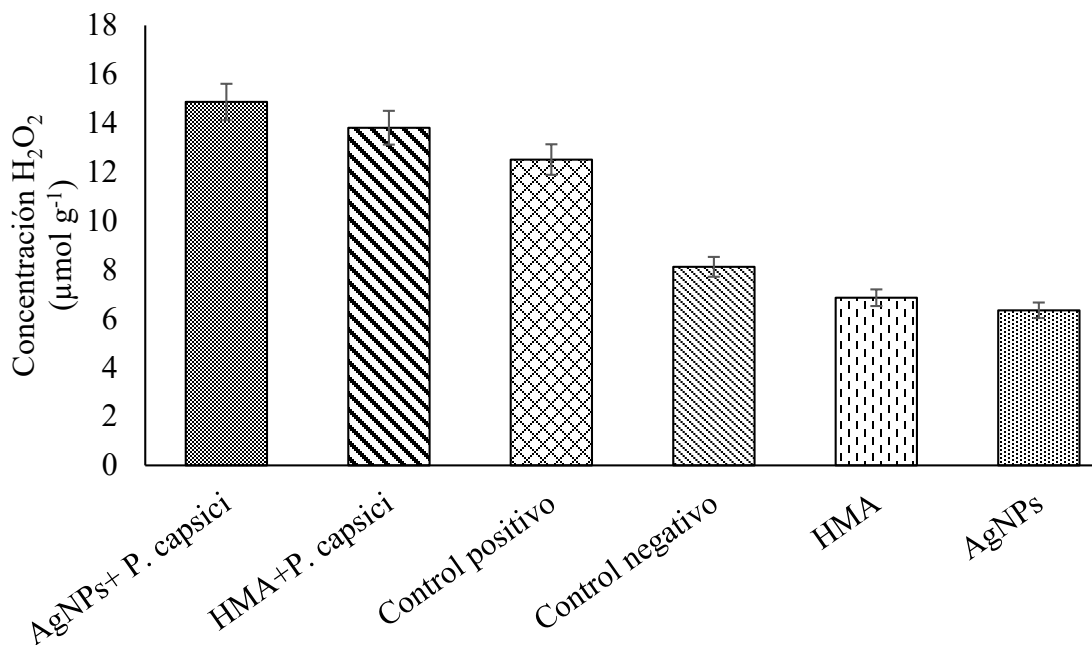


Figura 5. Concentración de H₂O₂ en plantas de chile chilaca inoculadas con *P. capsici* tratadas con HMA y Ag-NPs.

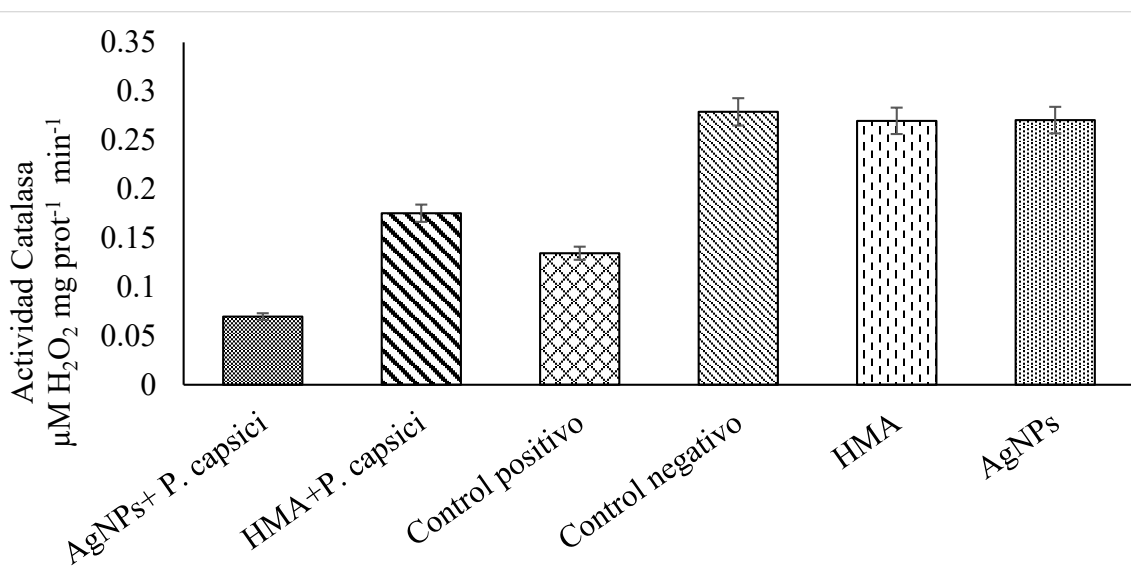


Figura 6. Actividad de catalasa (CAT) en plantas de chile chilaca inoculadas con *P. capsici* tratadas con HMA y Ag-NPs.

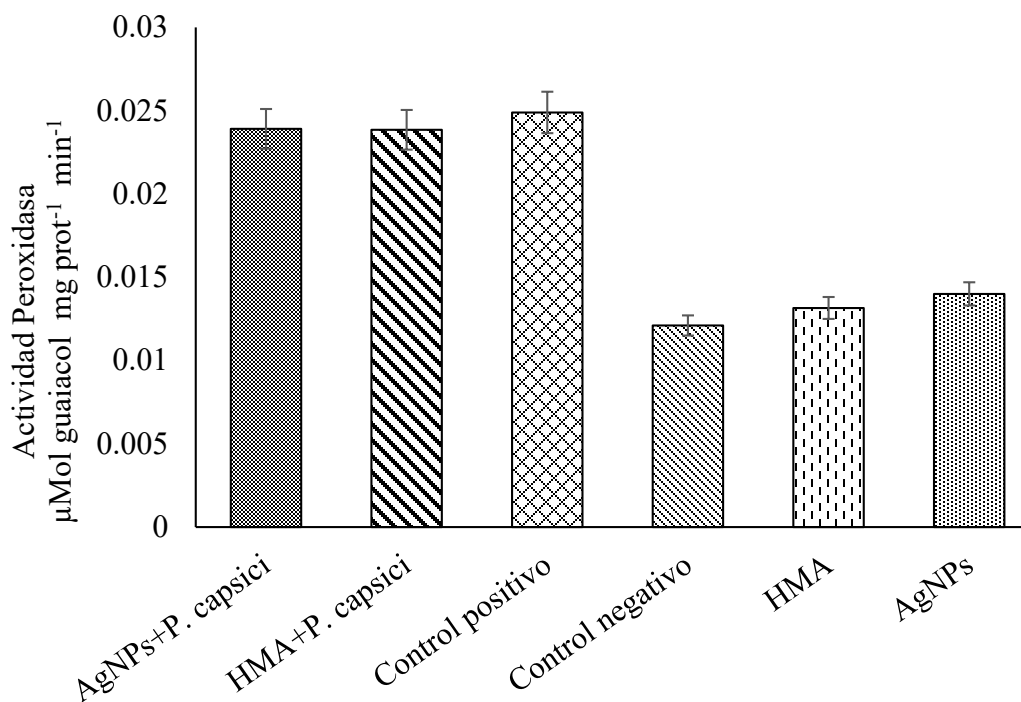


Figura 7. Actividad de peroxidasa (PER) en plantas de chile chilaca inoculadas con *P. capsici* tratadas con HMA y AgNPs.

Nuestros resultados en su conjunto indican que, frente al estrés inducido por el patógeno, la planta emplea la actividad enzimática de peroxidasa para la descomposición de H_2O_2 en H_2O , dado que la actividad de CAT se encuentra inhibida en los tratamientos con patógeno (Figura 8).

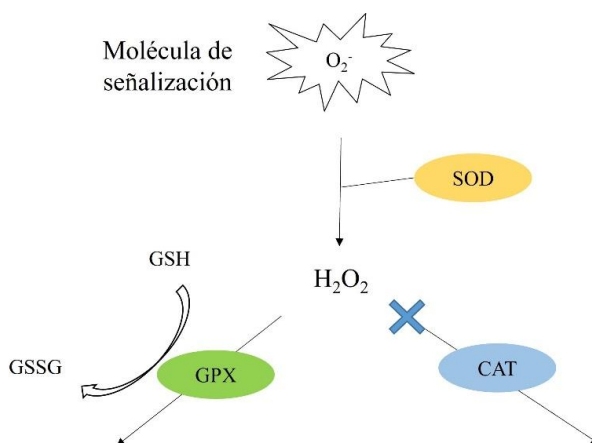


Figura 8. Efecto en la actividad enzimática en chile chilaca en plantas inoculadas con *P. capsici*. Superóxido Dismutasa (SOD), Catalasa (CAT), Peroxidasa (PER).

DISCUSIÓN

En este estudio, se observó la presencia de hifas, micelio y arbuscúlos en áreas discontinuas del sistema radicular. Los arbuscúlos tienen un papel muy importante al facilitar el intercambio de minerales inorgánicos y compuestos de carbono y fósforo dentro de las células, proporcionando nutrientes esenciales a la planta hospedante (Prasad *et al.*, 2017). La capacidad demostrada de las plantas micorrizadas para mitigar enfermedades se atribuye a varios mecanismos como la mejora de la nutrición vegetal, la competencia por sitios de penetración, alteraciones en la morfología y estructura de las raíces, modificaciones en la microbiota de la rizosfera, liberación de compuestos antimicrobianos, e inducción de resistencia en las plantas (Huang *et al.*, 2003).

La simbiosis efectiva observada en nuestro estudio se refleja notablemente en la mejora del desarrollo, como lo evidencian los parámetros de crecimiento medidos: diámetro del tallo, altura de la planta y número de hojas. Este hallazgo es consistente con investigaciones previas que han documentado efectos positivos de las micorrizas en el desarrollo de las plantas (Fauziyah *et al.*, 2017; Malik *et al.*, 2022). Se ha sugerido que estas mejoras pueden atribuirse, en parte, al incremento de la superficie de absorción de nutrientes del suelo mediante las hifas del hongo, que extienden su exploración en el suelo y expresan proteínas de afinidad específica al fósforo. Además, los HMA mejoran la absorción y transporte de otros elementos esenciales como N, K, Mg y Zn, así como la tasa fotosintética y la eficiencia en el uso del agua (Begum *et al.*, 2019; Olalde-Portugal *et al.*, 2020; Madrid-Delgado *et al.*, 2021).

Este estudio demostró el efecto benéfico de la aplicación del consorcio de HMA en el crecimiento de chile chilaca, hallazgo que coincide con investigaciones previas en agave inoculado con HMA (Carballar-Hernández *et al.*, 2018). Además, los HMA en esta investigación lograron reducir la severidad de la enfermedad causada por *P. capsici*, siendo nuestros resultados similares a los reportados por Reyes-Tena *et al.* (2017), quienes observaron que a mayor colonización micorrízica, menor porcentaje de infección de *P. capsici* en raíces de pimiento. Estos autores sugieren un posible mecanismo de competencia por los sitios de penetración en las raíces del pimiento.

El efecto protector de los HMA también ha sido demostrado en otros cultivos como frijol y tomate, donde el HMA *R. irregularis* indujo protección contra *S. sclerotiorum* al reducir el tamaño de las lesiones (Mora-Romero *et al.*, 2015). Además, se han identificado otros mecanismos de protección de los HMA, incluyendo el aumento de la resistencia de la planta frente a patógenos mediante la inducción a la expresión de los genes relacionados con la patogenicidad como cAPX, Osmotin, β -1,3-glucanasa, fenilalanina amoníaco-lyasa y NPR 1 (Sarathambal *et al.*, 2023).

Además, los HMA estimulan la Resistencia Sistemática Inducida (ISR), activando así los mecanismos de defensa de las plantas, promoviendo el establecimiento de microorganismos benéficos y modificando los niveles de exudación de las raíces (Reyes-Tena *et al.* 2017).

Entre los compuestos de los exudados radiculares inducidos por los HMA se encuentra la síntesis de la fitoalexina capsidiol en *C. annuum*, que retrasa los síntomas de marchitez; y equilibra el estrés oxidativo (Reyes-Tena *et al.* 2017). También se han identificado ácidos grasos como el ácido tetradecanoico, ácido n-hexadecanoico, ácido octadecanoico y nonacos-1-eno en raíces de pimienta negra (Sarathambal *et al.* 2023), los cuales poseen propiedades antifúngicas contra *P. nicotianae* (Zhang *et al.*, 2020).

En contraste, en raíces infectadas por *P. capsici*, se han identificado otros compuestos en los exudados como hidrocarburos alcanos como (z)-3-tetradeceno, octilciclohexano, 4-ciclohexilundecano y decilciclohexano (Sarathambal *et al.*, 2023). La presencia de estos hidrocarburos estimula el crecimiento micelial de este oomiceto (Zhang *et al.*, 2020). No obstante, la relación entre los exudados radiculares y la resistencia de las plantas sigue siendo compleja y aun incomprensible.

En relación con el reciente término “Nanofitopatología” acuñado por Ávila-Quezada y Rai (2023b), que se refiere al uso de nanomateriales para reducir o erradicar patógenos de plantas, este estudio mostró reducción en la severidad de la enfermedad al emplear AgNPs en comparación con el tratamiento de control positivo (planta+*P. capsici*). Hasta el quinto día después de la inoculación del patógeno, el tratamiento (planta+*P. capsici*+AgNPs) redujo en un 50% el desarrollo de la enfermedad, sugiriendo que aplicaciones adicionales de AgNPs podrían retardar aún más los síntomas de marchitez en Chile.

A los 9 días, la planta alcanzó una severidad de marchitez superior al 90%, mientras que el tratamiento con AgNPs logró detener al patógeno manteniendo el tallo aun verde en un 80%. Este tratamiento permitió prolongar la vida de las plantas de Chile. Ali *et al.* (2015), realizaron un estudio en plantas de tabaco para demostrar el efecto de las AgNPs contra *P. parasitica*, observando un 96.3% y un 77.8% de sobrevivencia de las plantas tratadas con 100 y 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AgNPs, respectivamente, comparado con el control, 5 días después de la inoculación. Otro estudio demostró el efecto protector de las AgNPs en plantas de pimiento, encontrando una reducción significativa de los síntomas de la enfermedad (53.3 y 95%) en la infección por *P. capsici* en los tratamientos de 1 y 10ppm (Luan y Xo, 2018).

La actividad antifúngica de las AgNPs ha sido reportada previamente, y su efecto de protección en las plantas contra patógenos se atribuye a su impacto en la membrana celular de los hongos (Abdel-Azi *et al.*, 2018; Ávila-Quezada *et al.*, 2022; Ávila-Quezada *et al.*, 2023). Sin embargo, la efectividad antifúngica de las AgNPs puede variar dependiendo de la forma, tamaño de la partícula, concentra-

ción utilizada y método de aplicación en la planta (Le *et al.*, 2019), por lo cual es necesario considerar estas características y explorarlas en futuros estudios.

Los resultados de esta investigación muestran que tanto los tratamientos con HMA como con AgNPs son prometedores. Aunque no se logró evitar el daño causado por *P. capsici* en el chile chilaca, se consiguió retrasar la aparición de los síntomas de la enfermedad. Para mejorar estos resultados, se sugiere en futuros estudios aplicar tratamientos múltiples a intervalos de tiempo para prolongar aún más la fase sintomática de la marchitez en el chile.

La comprensión de la actividad enzimática de la planta en respuesta al estrés biótico sigue siendo compleja; sin embargo, estudios previos ha demostrado que los genes relacionados con la defensa de las plantas se sobreexpresan ante la presencia de *P. capsici*, lo cual conduce a la producción de enzimas de defensa y exudados en la raíz (Sarathambal *et al.*, 2023).

Por un lado, la expresión de SOD ante *P. capsici* puede relacionarse con la inducción de vías de transducción de señales (Karipçin *et al.*, 2018) para mitigar los efectos del estrés oxidativo provocado por el patógeno (Ingle *et al.*, 2017). Se sabe que SOD forma parte de la primera línea de defensa contra las especies reactivas de oxígeno (ROS), y su sobreexpresión ocurre en plantas que muestran cierta tolerancia al oomiceto (Mohammadbagheri *et al.*, 2021). Por lo tanto, un aumento en la actividad enzimática de SOD puede beneficiar a la planta al contrarrestar los efectos nocivos de las ROS (Kapoor *et al.* 2019).

Nuestros resultados sobre la actividad de SOD son consistentes con los hallazgos de Hashem *et al.* (2021) en tomate inoculado con HMA y *Fusarium oxysporum*, donde las plantas infectadas mostraron un incremento en la actividad de SOD y otras enzimas en comparación con el tratamiento control y las plantas tratadas con HMA. De manera similar, nuestro estudio reveló una acumulación significativa de SOD en las plantas afectadas por *P. capsici* en comparación con las plantas sanas.

En contraste, nuestros resultados muestran que las plantas inoculadas con *P. capsici* presentaron una disminución en la actividad enzimática de CAT. Esta reducción en plantas tratadas con microorganismos ha sido documentada previamente (Duc *et al.*, 2018), ya que CAT favorece la supervivencia del patógeno al inhibir el estrés oxidativo producido por el hospedero (Sharma *et al.*, 2019). Aunque el equilibrio entre las actividades de SOD y CAT es crucial para mitigar los niveles tóxicos de las enzimas reactivas de oxígeno en la célula, una baja actividad de CAT podría indicar que la planta induce otros mecanismos compensatorios que involucran enzimas como ascorbato peroxidasa y glutatión peroxidasa para reducir los niveles de SOD (Banerjee y Roychoudhury, 2019).

Es conocido que la producción de ROS en las plantas se induce en respuesta a desequilibrios metabólicos provocados por el estrés, incluido el primer contacto con micorrizas, que es necesario para el establecimiento de la simbiosis micorrizica

(Branco *et al.*, 2022). Sin embargo, en este estudio, las plantas de chile chilaca inoculadas con HMA aunque sin infección por *P. capsici* mostraron una actividad en PER, CAT y SOD similar a las plantas sanas, lo que sugiere que el estrés generado por el contacto con las micorrizas ya había sido regulado por la planta.

Respecto a la interacción de las AgNPs a 50 ppm en las plantas de chile chilaca, se observó que no inducen un desequilibrio en la actividad de las enzimas antioxidantes analizadas. Por el contrario, se ha demostrado que las AgNPs poseen capacidad antioxidante al dismutar el H₂O₂ en agua y oxígeno (Bharathi *et al.*, 2018).

Para comprender la respuesta de la planta, son necesarios estudios adicionales que incluyan la medición de la expresión genética y la actividad enzimática en chile chilaca en varios intervalos posteriores a la inoculación de HMA y patógenos, preferiblemente cada 24 horas durante un periodo de cinco días o más. Este enfoque temporal permitirá obtener una comprensión detallada de las respuestas dinámicas de la planta en su interacción con HMA y patógenos.

CONCLUSIONES

La aplicación de hongos micorrízicos arbusculares incrementó significativamente el número de hojas, diámetro de tallo y altura de las plantas de chile chilaca. Además, estos microorganismos confirieron cierta protección contra *P. capsici*. Asimismo, las AgNPs otorgaron protección contra *P. capsici* retrasando el avance de la enfermedad.

La interacción planta-patógeno indujo una respuesta enzimática antioxidante. Esto se reflejó en el aumento de la actividad de SOD y PER, acompañada de una inhibición de la actividad enzimática CAT y una acumulación de H₂O₂. Estos mecanismos enzimáticos se comportaron opuesto en comparación con la aplicación de HMA y AgNPs. La combinación de HMA y AgNP surgió como una estrategia prometedora, proporcionando un mecanismo de defensa mejorado contra los patógenos de las plantas.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Aziz SM, Prasad R, Hamed AA and Abdelraof M. 2018. Fungal nanoparticles: A novel tool for a green biotechnology? In: Fungal Nanobionics: Principles and Applications. Singapore: Springer Singapore. p61–87. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8666-3_3
- Ali M, Kim B, Belfield KD, Norman D, Brennan M and Ali GS. 2015. Inhibition of *Phytophthora parasitica* and *P. capsici* by Silver Nanoparticles Synthesized Using Aqueous Extract of *Artemisia absinthium*. Phytopathology 105(9):1183–90. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-01-15-0006-R>

- Athie-García MS, Piñón-Castillo HA, Muñoz-Castellanos LN, Ulloa-Ogaz AL, Martínez-Varela PI, Quintero-Ramos A, et al. 2018. Cell wall damage and oxidative stress in *Candida albicans* ATCC10231 and *Aspergillus niger* caused by palladium nanoparticles. *Toxicol In Vitro*. 48:111–20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2018.01.006>
- Ávila-Quezada GD, Golinska P, Rai M. 2022. Engineered nanomaterials in plant diseases: can we combat phytopathogens? *Appl Microbiol Biotechnol*. 106(1):117–29. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-021-11725-w>
- Ávila-Quezada GD y Rai M. 2023a. Novel nanotechnological approaches for managing *Phytophthora* diseases of plants. *Trends Plant Sci*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2023.03.022>
- Ávila-Quezada GD y Rai M. 2023b. *Nanophytopathology*. CRC Press Taylor & Francis, USA. p246. <http://dx.doi.org/10.1201/9781003344513>
- Ávila-Quezada GD, Rai M, Orduño-Cruz N, Mercado-Meza D, Sáenz-Hidalgo HK. 2023. Strategic Role of Myconanotechnology in Agriculture for Control of Fungal Pathogens. In Eds Mahendra Rai, Patrycja Golinska. *Myconanotechnology*. p171-192.
- Banerjee A y Roychoudhury A. 2019. Role of selenium in plants against abiotic stresses: Phenological and molecular aspects. *Molecular Plant Abiotic Stress*. Wiley. p123–33. <http://dx.doi.org/10.1002/9781119463665.ch7>
- Bawskar M, Bansod S, Rathod D, Santos CA dos, Ingle P, Rai M, et al. 2021. Silver nanoparticles as nanofungicide and plant growth promoter: Evidence from morphological and chlorophyll ‘a’ fluorescence analysis. *Adv Mater Lett*. 12(10):1–7. <http://dx.doi.org/10.5185/aml.2021.15702>
- Bharathi D, Diviya Josebin M, Vasantharaj S, Bhuvaneshwari V. 2018. Biosynthesis of silver nanoparticles using stem bark extracts of *Diospyros montana* and their antioxidant and antibacterial activities. *J Nanostructure Chem*. 8(1):83–92. <http://dx.doi.org/10.1007/s40097-018-0256-7>
- Begum N, Qin C, Ahanger MA, Raza S, Khan MI, Ashraf M, et al. 2019. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: Implications in abiotic stress tolerance. *Front Plant Sci*. 10:1068. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2019.01068>
- Branco S, Schauster A, Liao H-L, Ruytinx J. 2022. Mechanisms of stress tolerance and their effects on the ecology and evolution of mycorrhizal fungi. *New Phytol*. 235(6):2158–75. <http://dx.doi.org/10.1111/nph.18308>
- Brennan T, Frenkel C. 1977. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. *Plant Physiol*. 59(3):411-6. doi: 10.1104/pp.59.3.411. PMID: 16659863; PMCID: PMC542414.
- Buturi CV, Sabatino L, Mauro RP, Navarro-León E, Blasco B, Leonardi C, et al. 2022. Iron biofortification of greenhouse soilless lettuce: An effective agronomic tool to improve the dietary mineral intake. *Agronomy (Basel)*. 12(8):1793. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy12081793>
- Carballar-Hernández S, Hernández-Cuevas LV, Montañón NM, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A. 2018. Species composition of native arbuscular mycorrhizal fungal consortia influences growth and nutrition of poblano pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Appl Soil Ecol*. 130:50–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.05.022>
- Dowarah B, Gill SS, Agarwala N. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi in conferring tolerance to biotic stresses in plants. *J Plant Growth Regul*. 41(4):1429–44. <http://dx.doi.org/10.1007/s00344-021-10392-5>
- Duc, N.Y, Csintalan, Z., Posta, K. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants, *Plant Physiology and Biochemistry*. 132:297-307. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.011>.
- Eke P, Wakam LN, Fokou PVT, Ekounda TV, Sahu KP, Kamdem Wankeu TH, et al. 2019. Improved nutrient status and Fusarium root rot mitigation with an inoculant of two biocontrol fungi in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Rhizosphere*. 12(100172):100172. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100172>
- El-Shetehy M, Moradi A, Maceroni M, Reinhardt D, Petri-Fink A, Rothen-Rutishauser B, et al. 2021. Silica nanoparticles enhance disease resistance in *Arabidopsis* plants. *Nat Nanotechnol*. 16(3):344–53. <http://dx.doi.org/10.1038/s41565-020-00812-0>
- Fauziyah N, Hadisutrisno B, Suryanti S. 2017. The roles of arbuscular mycorrhizal fungi in the intensity of the foot rot disease on pepper plant from the infected soil. *J Degrad Min Lands Manag*. 04(04):937–43. <http://dx.doi.org/10.15243/jdmlm.2017.044.937>
- Giannopolitis CN y Ries SK. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*. 59: 309–314.
- Hashem A, Akhter A, Alqarawi AA, Singh G, Almutairi KF, Abd Allah EF. 2021. Mycorrhizal fungi induced activation of tomato defense system mitigates *Fusarium* wilt stress. *Saudi J Biol Sci*. 28(10):5442–50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.025>
- Huang J, Luo S, Zeng R. 2003. Mechanisms of plant disease resistance induced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 14(5):819-22. Chinese. PMID: 12924148.

- Ingle A, Rathod D, Varma A, Rai M. 2017. Understanding the Mycorrhiza-Nanoparticles Interaction. En: Mycorrhiza - Eco-Physiology, Secondary Metabolites, Nanomaterials. Cham: Springer International Publishing; p311–24. https://doi.org/10.1007/978-3-319-57849-1_18
- Kalir A, Omri G, Poljakoff-Mayber A. 1984. Peroxidase and catalase activity in leaves of *Halimione portulacoides* exposed to salinity. *Physiologia Plantarum*. 62:238–244.
- Kapoor D, Singh S, Kumar V, Romero R, Prasad R, Singh J. 2019. Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene*. 19(100182):100182. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100182>
- Karipçin Muhemet & Seyitoglu, G. & Mikail, Nazire. 2018. Characterization of phytophthora capsici leonian resistance in some pepper genotypes by principal component analysis. *Applied Ecology and Environmental Research*. 16. http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1605_68856901
- Le VT, Bach LG, The Trinh Pham, Le NTT, Ngoc UTP, Tran D-HN, *et al.* 2019. Synthesis and antifungal activity of chitosan-silver nanocomposite synergize fungicide against *Phytophthora capsici*. *J Macromol Sci Part A Pure Appl Chem*. 56(6):522–8. <http://dx.doi.org/10.1080/10601325.2019.1586439>
- Li L, Pan H, Deng L, Qian G, Wang Z, Li W, *et al.* 2022. The antifungal activity and mechanism of silver nanoparticles against four pathogens causing kiwifruit post-harvest rot. *Front Microbiol*. 13:988633. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.988633>
- Liu X-Q, Xie M-M, Hashem A, Abd-Allah EF, Wu Q-S. 2023. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia synergistically promote root colonization, plant growth, and nitrogen acquisition. *Plant Growth Regul*. <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-023-00966-6>
- Luan LQ y Xo DH. 2018. In vitro and in vivo fungicidal effects of γ -irradiation synthesized silver nanoparticles against *Phytophthora capsici* causing the foot rot disease on pepper plant. *J Plant Pathol*. 100(2):241–8. <http://dx.doi.org/10.1007/s42161-018-0064-4>
- Ma M, Taylor PWJ, Chen D, Vaghefi N, He J-Z. 2023. Major soilborne pathogens of field processing tomatoes and management strategies. *Microorganisms*. 11(2):263. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms11020263>
- Madrid-Delgado G, Orozco-Miranda M, Cruz-Osorio M, Adriana Hernández-Rodríguez O, Rodríguez-Heredia R, Roa-Huerta M, *et al.* 2021. Pathways of phosphorus absorption and early signaling between the mycorrhizal fungi and plants. *Phyton (B Aires)*. 90(5):1321–38. <http://dx.doi.org/10.32604/phyton.2021.016174>
- Malik JA, AlQarawi AA, Dar BA, Hashem A, Alshahrani TS, AlZain MN, *et al.* 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi isolated from highly saline “Sabkha habitat” soil alleviated the NaCl-induced stress and improved *Lasiurus scindicus* henr. Growth. *Agriculture*. 12(3):337. <http://dx.doi.org/10.3390/agriculture12030337>
- Mohammadbagheri L, Nasr-Esfahani M, Abdossi V, Naderi D. 2021. Genetic diversity and biochemical analysis of *Capsicum annuum* (Bell pepper) in response to root and basal rot disease, *Phytophthora capsici*. *Phytochemistry*. 190(112884):112884. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112884>
- Mora-Romero GA, Cervantes-Gómez RG, Galindo-Flores H, González-Ortiz MA, Félix-Gastélum R, Maldonado-Mendoza IE, *et al.* 2015. Mycorrhiza-induced protection against pathogens is both genotype-specific and graft-transmissible. *Symbiosis*. 66(2):55–64. <http://dx.doi.org/10.1007/s13199-015-0334-2>
- Muñoz-Márquez E, Macías-López B, Franco-Ramírez A, Sánchez-Chávez E, Jiménez-Castro J, González-García J. 2009. Identificación y colonización natural de hongos micorrízicos arbusculares en nogal. *Terra Latinoamericana*. 27(4):355-361. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792009000400010&lng=es&tlng=es.
- Olalde-Portugal V, Cabrera-Ponce JL, Gastelum-Arellanes A, Guerrero-Rangel A, Winkler R, Valdés-Rodríguez S. 2020. Proteomic analysis and interactions network in leaves of mycorrhizal and nonmycorrhizal sorghum plants under water deficit. *PeerJ [Internet]*. 8(e8991):e8991. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.8991>
- Phillips JM y Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc*. 55:158-161.
- Prasad R, Bholra D, Akdi K, Cruz C, Kvss S, Tuteja N, *et al.* 2017. Introduction to mycorrhiza: Historical development. En: Mycorrhiza - Function, Diversity, State of the Art. Cham: Springer International Publishing. p 1–7.
- Reyes-Tena A. 2017. Effect of mycorrhizae and actinomycetes on growth and bioprotection of *Capsicum annuum* L. against *Phytophthora capsici*. *Pak J Agric Sci*. 54(03):513–22. <http://dx.doi.org/10.21162/pakjas/17.4245>

- Rizzo DM, Lichtveld M, Mazet JAK, Togami E, Miller SA. 2021. Plant health and its effects on food safety and security in a One Health framework: four case studies. *One Health Outlook*. 3:6. <http://dx.doi.org/10.1186/s42522-021-00038-7>
- Sánchez-Gurrola C, Gómez-Dorantes N, Rodríguez-Alvarado G, Fernández-Pavía SP, Ávila-Quezada G. 2019. Variabilidad morfológica y sensibilidad de *Phytophthora capsici* causando marchitez en chile pimiento morrón en Chihuahua, México. *Rev Mex Fitopatol*. 37(1). <http://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1904-4>
- Sarathambal C, Jeevalatha A, Sivaranjani R, Biju CN, Charles S, Srinivasan V, et al. 2023. Arbuscular mycorrhizal colonization alters biochemical, molecular defense responses and root exudate composition against *Phytophthora capsici* infection in black pepper. *Rhizosphere*. 25(100651):100651. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100651>
- Sharma S, Singh VK, Kumar A, Mallubhotla S. 2019. Effect of nanoparticles on oxidative damage and antioxidant defense system in plants. *Molecular Plant Abiotic Stress*. Wiley; p315–33. <http://dx.doi.org/10.1002/9781119463665.ch17>
- Shen T, Wang Q, Li C, Zhou B, Li Y, Liu Y. 2020. Transcriptome sequencing analysis reveals silver nanoparticles antifungal molecular mechanism of the soil fungi *Fusarium solani* species complex. *J Hazard Mater*. 388(122063):122063. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122063>
- Shi Z, Zhu J, Wu J, Cao A, Fang W, Yan D, et al. 2022. Effects of chloropicrin, dimethyl disulfide and Metham sodium applied simultaneously on soil-born bacteria and fungi. *Agriculture*. 12(12):1982. <http://dx.doi.org/10.3390/agriculture12121982>
- SIAP, 2023. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. (Último acceso: noviembre del 2024) <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Steiner AA. 1961. A Universal Method for Preparing Nutrient Solutions of a Certain Desired Composition. *Plant Soil*. 15:134-154.
- Sunwoo JY, Lee YK, Hwang BK. 1996. Induced resistance against *Phytophthora capsici* in pepper plants in response to DL- β -amino-n-butyric acid. *Eur J Plant Pathol*. 102(7):663–70. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01877247>
- Velarde-Félix S, Garzón-Tiznado JA, Hernández-Verdugo S, López-Orona CA, Retes-Manjarrez JE. 2018. Occurrence of *Fusarium oxysporum* causing wilt on pepper in Mexico. *Can J Plant Pathol*. 40(2):238–47. <http://dx.doi.org/10.1080/07060661.2017.1420693>
- Wang L, Jia X, Zhao Y, Zhang C, Zhao J. 2022. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi in roots on antioxidant enzyme activity in leaves of *Robinia pseudoacacia* L. seedlings under elevated CO₂ and Cd exposure. *Environ Pollut*. 294(118652):118652. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118652>
- Zhang C-S, Zheng Y, Peng L, Cao J. 2020. Rootstock-scion interaction affects the composition and pathogen inhibitory activity of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) root exudates. *Plants*. 9(12):1652. <http://dx.doi.org/10.3390/plants9121652>