



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

**RESISTENCIA DE *Solanum phureja* a TIZÓN TARDÍO
(*Phytophthora infestans*)**

Tesis

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Sánchez Coronado Emmanuel

Bajo la supervisión de: Héctor Lozoya Saldaña Ph. D

Chapingo, Estado de México, junio de 2025



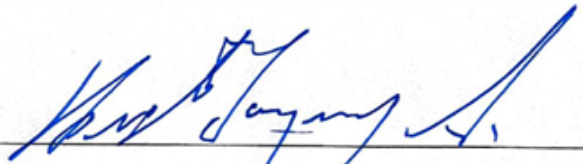
HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

RESISTENCIA DE *Solanum phureja* a TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*).

Tesis realizada por Emmanuel Sánchez Coronado, bajo la supervisión del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



DR. HECTOR LOZOYA SALDAÑA

ASESOR:



DR. GABRIELA DÍAZ GARCÍA

ASESOR:



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

Contenido

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE APENDICES	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
DATOS BIOGRÁFICOS	ix
RESUMEN GENERAL	1
1. INTRODUCCION GENERAL.....	3
2. REVISION DE LITERATURA.....	5
2.1. <i>Solanum phureja</i>	5
2.2. Evolución de los mecanismos de defensa de plantas silvestres.....	5
2.3. Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>).....	6
2.3.1. Origen.....	7
2.3.2. Ciclo biológico.....	8
2.3.3. Reproducción Sexual y Asexual de <i>Phytophthora infestans</i>	8
2.3.4. Síntomas.....	9
2.4. Mecanismos de defensa de las plantas.....	10
2.5. Especies reactivas de oxígeno (ROS).....	11
2.6. Super oxido dismutasa (SOD: EC 1.15.1.1).....	12
2.7. Catalasa (CAT; EC 1.11.1.6).....	14
2.8. Peroxidasa (POD, EC.1.11.1.7).....	16
2.9. Polifenol oxidasa (PPO, EC. 1.14.18.1).....	18
2.10. Compuestos fenólicos.....	19
2.11. Proteínas.....	21
2.12. Fenilalanina amonio-liasa (PAL, EC.4.3.1.5).....	22
2.13. Acido salicílico (SA).....	23
2.14. Literatura citada.....	25
3. REACCIONES ENZIMÁTICAS DE DEFENSA DE <i>Solanum phureja</i> AL TIZÓN TARDÍO (<i>Phytophthora infestans</i> MONT. DE BARY) EN PAPA.....	43
3.1. RESUMEN.....	43
3.2. ABSTRACT.....	44
3.3. INTRODUCCIÓN.....	45

3.4.	MATERIALES Y METODOS.....	46
3.4.1.	Diseño experimental.....	46
3.4.2.	Muestreo.....	46
3.4.3.	Determinación enzimática	47
3.4.4.	Fenoles totales.....	47
3.4.5.	Fenilalanina amonioliasa.....	47
3.4.6.	Peroxidasa.....	48
3.4.7.	Superóxido dismutasa.....	48
3.4.8.	Ácido salicílico.....	49
3.4.9.	Catalasa	49
3.4.10.	Polifenol oxidasa	50
3.4.11.	Análisis estadístico.....	50
3.5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
3.5.1.	Fenoles Totales (FEN).....	53
3.5.2.	Fenilalanina amonio liasa (PAL).....	55
3.5.3.	Peroxidasa (PER)	57
3.5.4.	Superóxido dismutasa (SOD).....	59
3.5.5.	Ácido salicílico.....	61
3.5.6.	Catalasa (CAT).....	63
3.5.7.	Polifenol oxidasa	65
3.5.8.	Correlaciones enzimáticas.....	67
3.5.9.	Discusión	67
3.5.10.	Conclusiones	68
3.6.	LITERATURA CITADA.....	70
	APÉNDICES	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntomas avanzados de tizón tardío en el valle de Toluca, Méx. Fotos del autor.....	10
Figura 1. Curva de progreso de <i>P. infestans</i> . dtp, días desde el trasplante.....	52
Figura 3. Contenido de los fenoles totales en función del tiempo.	54
Figura 4. Actividad de la fenil alanina amonio liasa (PAL) en función del tiempo.....	56
Figura 5. Actividad de peroxidasas en función del tiempo.	58
Figura 6. Actividad de superóxido dismutasa en función del tiempo.....	60
Figura 7. Contenido del ácido salicílico.	62
Figura 8. Contenido de catalasa en función del tiempo.	64
Figura 9. Actividad de la polifenol oxidasa en función del tiempo.	66

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de medias del contenido de fenoles a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales).	54
Cuadro 2. Comparación de medias de la actividad de Fenilalanina amonio liasa, a 84 días dtp... (*) cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.....	56
Cuadro 3. Comparación de medias, en la lectura de peroxidasa separada por grupos, a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.	58
Cuadro 4. Comparación de medias de la actividad de la superóxido dismutasa, a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.....	60
Cuadro 5. Comparación de medias del contenido de ácido salicílico 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.	62
Cuadro 6. Comparación de medias, en la lectura de catalasa a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.	64
Cuadro 7. Comparación de medias, en la lectura de polifenol oxidasa separada por grupos, a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.....	66
Cuadro 8. Correlaciones enzimáticas.....	69
Cuadro 9. Lectura de enzimas	76
Cuadro 10. Entrada de SAS para comparación de medias.....	77
Cuadro 11. Salida de SAS para comparación de medias.....	78
Cuadro 12. Salida de SAS correlaciones enzimáticas.....	88

LISTA DE APENDICES

APENDICE 1. COMPARACION DE MEDIAS.....	76
APENDICE 2. CORRELACIONES.....	88

DEDICATORIA

Dios, principalmente, por permitirme vivir y darme la sabiduría para cumplir mis metas.

A mis padres, Hermilo Sánchez y Felicitas Coronado, por siempre apoyarme y brindarme su confianza en todo momento. Eternamente agradecido.

A mi hermana Melissa, por ayudarme y brindarme tu apoyo incondicional.

A mi familia, por estar siempre presente en mi vida y ofrecerme su apoyo incondicional.

A mi pareja, Diana Laura, por apoyarme en los momentos más difíciles y por estar siempre a mi lado. Siempre te estaré agradecido.

A mis amigos, por brindarme consejos cuando más los necesité. Gracias por su amistad: Axel, Saúl, Cristian, Alberto y Miranda. En especial, a mi gran amigo Enedino: gracias por siempre brindarme tu amistad incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por otorgarme la beca de estudios.

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Departamento de Parasitología Agrícola, y en especial al Posgrado en Protección Vegetal, por brindarme una formación humanista y profesional. Espero algún día poder corresponder todo lo que me han dado.

A los profesores del Posgrado en Protección Vegetal, por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias.

Al PhD. Héctor Lozoya Saldaña, por su excelente dirección de esta tesis. Gracias por su paciencia, apoyo y enseñanzas en el ámbito de la investigación.

A la Dra. Gabriela Díaz García, por sus atinadas observaciones, así como por la confianza, el tiempo y la dedicación brindados durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, por su valioso tiempo y dedicación en el desarrollo de esta investigación.

Al I.Q. Cecilio Bautista, gracias por su tiempo, paciencia, dedicación y enseñanzas que hicieron posible la culminación de este trabajo.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Emmanuel Sánchez Coronado

Fecha de nacimiento: 24 de enero de 1999

Lugar de nacimiento: Texcoco, Estado de México

Cédula profesional: 13059829

Desarrollo académico



Bachillerato:

Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo (UACH)

Licenciatura:

Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo (UACH)

RESISTENCIA DE *Solanum phureja* a TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*)

RESUMEN GENERAL

El tizón tardío de la papa, causado por el oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, es una de las enfermedades más devastadoras del cultivo, siendo el mejoramiento genético una opción de manejo, por lo que es continua la búsqueda de la resistencia en especies silvestres del género *Solanum*. La presente investigación evaluó algunos mecanismos de defensa de 27 accesiones de *S. phureja*; Juz. & Bukasov, una especie silvestre de papa, expuesta a la infección natural del oomiceto en el valle de Toluca y en Chapingo, Mex. El objetivo fue identificar su resistencia mediante el análisis de la actividad de enzimas antioxidantes (fenilalanina amonio-liasa, peroxidasas, superóxido dismutasa, catalasa, polifenol oxidasa) y metabolitos secundarios (fenoles totales, ácido salicílico), correlacionándolos con la severidad de la enfermedad. El diseño experimental fue completamente al azar, incluyó un ensayo en campo utilizando como testigo la especie susceptible *Solanum tuberosum*; L., var. Fianna. Las accesiones limitaron la severidad del tizón tardío a un máximo del 17%, en contraste con el 100% observado en el testigo. Los análisis bioquímicos revelaron que las accesiones resistentes presentaron concentraciones significativamente mayores de fenoles totales y una actividad enzimática elevada, destacando la superóxido dismutasa y la catalasa. Además, se identificó una correlación positiva entre la actividad de la fenilalanina amonio-liasa, las peroxidasas y el ácido salicílico, lo que sugiere una respuesta coordinada para neutralizar el estrés oxidativo y limitar la propagación del patógeno. Estas respuestas resaltan el potencial de *S. phureja* como recurso genético a considerar para programas de mejoramiento genético orientados a desarrollar variedades de papa resistentes a la enfermedad.

Palabras clave: Actividad enzimática de defensa, agobio oxidativo

Resistance of *Solanum phureja* to Late Blight (*Phytophthora infestans*)

GENERAL ABSTRACT

Late blight of potato, caused by the oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, is one of the most devastating diseases of the crop, with genetic improvement being a management option. Thus, there is a continuous search for resistance in wild species of the genus *Solanum*. This study evaluated defense mechanisms in 27 accessions of *Solanum phureja* Juz. & Bukasov, a wild potato species, under natural infection by the oomycete in Toluca Valley and Chapingo, Mexico. The objective was to identify resistance by analyzing the activity of antioxidant enzymes (phenylalanine ammonia-lyase, peroxidases, superoxide dismutase, catalase, polyphenol oxidase) and secondary metabolites (total phenols, salicylic acid), correlating them with disease severity. The experimental design was completely randomized, including a field trial using the susceptible potato species *Solanum tuberosum* L., var. Fianna, as a control. The accessions limited late blight severity to a maximum of 17%, in contrast to 100% observed in the control. Biochemical analyses revealed that resistant accessions had significantly higher concentrations of total phenols and elevated enzymatic activity, particularly in superoxide dismutase and catalase. Additionally, a positive correlation was identified between phenylalanine ammonia-lyase activity, peroxidases, and salicylic acid, suggesting a coordinated response to neutralize oxidative stress and limit pathogen spread. These responses highlight the potential of *S. phureja* as a genetic resource to be considered in breeding programs aimed at developing potato varieties resistant to the disease.

Keywords: Enzymatic defense activity, oxidative stress.

1. INTRODUCCION GENERAL

Características como altos rendimientos, adaptación a una gran variedad de climas y su alto contenido nutrimental hacen de la papa el tercer cultivo con mayor consumo a nivel mundial (FAO, 2024). Dentro de la gran cantidad de variedades de papa que se cultivan en el mundo, las papas silvestres son unas de las más destacadas, debido a su gran variabilidad genética, que las hace resistentes a una gran cantidad de organismos antagonistas. Una de las más cultivadas en Sudamérica es *Solanum phureja* Juz. & Bukasov, a la cual se le atribuyen características agronómicas deseables (Ñustez & Rodríguez, 2024). Características como el alto contenido de hierro, zinc, proteínas y minerales hacen que *S. phureja* destaque y sea un cultivo atractivo para los agricultores (Seminario-Cunya *et al.*, 2018). Una de las cualidades por las que destaca esta variedad silvestre es su resistencia ante enfermedades (Gómez *et al.*, 2012). Entre los genes de resistencia a organismos antagonistas que se han observado en *phureja*, destaca la resistencia ante el oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, causante de la enfermedad conocida como tizón tardío (Seminario-Cunya *et al.*, 2018). Esta enfermedad es una de las más importantes para la familia Solanaceae, principalmente en papa y jitomate, causando pérdidas considerables a los agricultores, ya que puede secar hojas y propiciar la infección que se extiende hasta los tubérculos (Orozco *et al.*, 2013). Una de las principales causas de la agresividad de esta enfermedad son sus múltiples herramientas que le ayudan a sobrevivir y desplazarse, así como la presión de selección generada por el uso excesivo de fungicidas, que da lugar a variedades resistentes, más difíciles de controlar y más agresivas al momento de infectar el cultivo. Su principal fuente de variabilidad genética es que presenta reproducción tanto sexual como asexual (Vásquez-Castillo *et al.*, 2022). Al tizón tardío lo favorecen climas con bajas temperaturas y alta humedad; cuando se presentan estas condiciones ambientales, esta enfermedad puede ser devastadora para el cultivo, causando su destrucción en cuestión de días (Delesma-Morale *et al.*, 2019). Por lo anterior, es prioritaria la aplicación de medidas de control para mitigar los daños de este patógeno, ya que, si no se implementa ninguna estrategia de manejo, las pérdidas

pueden ser totales. Dentro de las medidas utilizadas para controlar esta infección, la principal es el uso de fungicidas. Si bien esta resulta ser efectiva, la variabilidad genética del patógeno le permite desarrollar mecanismos para superar los fungicidas, haciendo que su uso se vuelva ineficaz (Tello *et al.*, 2023). Por ello, se opta por un manejo integrado, que abarca el uso de varias medidas de control, incluyendo el uso de variedades resistentes. La base de este manejo es que las plantas cuentan con estrategias de defensa que conforman su sistema inmune, el cual incluye barreras físicas, químicas y respuestas metabólicas activas (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003). Cuando las plantas son atacadas por patógenos, se activan las defensas inducidas; entre estas se encuentra la activación de un gran número de enzimas. En este caso, las plantas liberan enzimas para contrarrestar el efecto de la muerte celular programada que se genera al detectar una infección, limitando así la propagación del patógeno (Prasannath, 2017). Entre las enzimas y compuestos antioxidantes que mitigan el avance de la infección destacan: fenoles (FEN), superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa (POX), polifenol oxidasa (PPO), catalasa (CAT), fenilalanina amoníaco liasa (PAL) y ácido salicílico (AS). Estas moléculas ayudan a descomponer las especies reactivas de oxígeno, las cuales, en altas concentraciones, causan daños a nivel celular (Serrano, 2016). En el presente trabajo se analizó de cerca la actividad de estas enzimas para determinar su comportamiento ante la presencia de una infección provocada por *P. infestans*. Se cuantificó la cantidad de fenoles totales y proteínas totales, así como la actividad enzimática antioxidante. El objetivo fue evaluar el contenido de fenoles totales y la actividad de las enzimas PAL, CAT, POX, SOD, PPO y AS en accesiones silvestres de papa *Solanum phureja* en respuesta a *Phytophthora infestans*.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. *Solanum phureja*

La papa *Solanum phureja* se caracteriza por presentar una cáscara de color piel o carne de color amarillo, también denominada “yema de huevo” por esta característica. Se distingue principalmente por su adaptación a días cortos, la brotación al cosechar y por ser diploide ($2n = 24$ cromosomas). Se considera su centro de origen a la región sur de Colombia y parte del norte de Ecuador (Ñustez & Rodríguez, 2024). Su diploidía es importante, ya que se presume que la resistencia de *Solanum phureja* es cuantitativa y altamente poligénica. Al ser diploide, se pueden generar híbridos fértiles (Ghislain *et al.*, 2001). En cultivos de *phureja* se ha reportado el bajo uso de fungicidas para el control del tizón tardío o, en ocasiones, la abstinencia del uso de químicos, para obtener rendimientos aceptables en papas de esta variedad, en relación con otras variedades de *Solanum tuberosum* bajo las mismas condiciones; debido a esto, se está utilizando como fuente genética de resistencia (Ghislain *et al.*, 2001). La primera vez que se reportaron germoplasmos resistentes de *S. phureja* al tizón tardío fue en 1962; esta resistencia se atribuyó principalmente a genes menores, los cuales son altamente heredables en poblaciones híbridas diploides de *S. phureja* y *Solanum stenotomum* (phu-stn) (Haynes *et al.*, 2013). Debido a su precocidad, puede dar hasta tres ciclos por año, lo que la hace muy atractiva para los agricultores en la región de Colombia; de igual manera, es muy aceptada en la industria alimentaria por su buen sabor (Ñustez & Rodríguez, 2020).

2.2. Evolución de los mecanismos de defensa de plantas silvestres

El principal alimento para la mayoría de los organismos son las plantas; estos se alimentan de ellas para obtener energía. Sin embargo, existen organismos patogénicos que causan infecciones en las plantas. Estos patógenos tienen diversos estilos de vida y, debido a ello, su interacción con las plantas resulta en una carrera evolutiva de adaptaciones en ambos organismos: las plantas desarrollan defensas para protegerse y, por otro lado, los patógenos deben

evolucionar estrategias para superar estas defensas. Gracias a esta coevolución, se han logrado desarrollar estrategias de ataque y defensa en ambos; es decir, una depende de la otra, ya que, al generarse herramientas de defensa en las plantas, los patógenos deben generar mecanismos para contrarrestarlas, y viceversa (Gutiérrez & De la Torre, 2016). Se aprecia que estas interacciones son más frecuentes en plantas silvestres debido a su coexistencia con múltiples organismos, lo que da como resultado asociaciones tanto benéficas como perjudiciales. Se han estudiado interacciones simbióticas y, gracias a ello, se ha demostrado que estas también contribuyen a la generación de mecanismos de defensa. Anteriormente se creía que únicamente la interacción con organismos patogénicos inducía la generación de defensas en las plantas; sin embargo, estos estudios han demostrado que no sólo las interacciones patogénicas impulsan la evolución del sistema inmune en las plantas (Mesny *et al.*, 2023). Un ejemplo claro de este sistema de interacción se aprecia en especies silvestres de papa (*Solanum* spp.), las cuales han desarrollado múltiples sistemas de defensa frente a numerosos patógenos, destacándose la enfermedad más agresiva en este cultivo: el tizón tardío, la cual, a su vez, ha evolucionado para poder superar los mecanismos de defensa presentes en las plantas (Enciso-Maldonado *et al.*, 2021).

2.3. Tizón tardío (*Phytophthora infestans*)

El tizón tardío es la enfermedad más agresiva en el cultivo de papa y en muchas Solanáceas. Esta enfermedad es causada por un oomiceto, *Phytophthora infestans*. Este organismo fue identificado por primera vez a finales del siglo XIX y, en la actualidad, sigue representando un gran problema debido a su agresividad y capacidad de adaptación ante condiciones adversas. Además, al presentar ambos tipos de apareamiento, se favorece una mayor variabilidad genética, lo que genera variedades más virulentas y resistentes al control convencional (Whisson *et al.*, 2016). A lo largo de la historia de la humanidad, esta enfermedad ha generado grandes hambrunas, como la que se dio en 1840 en Irlanda. La causa principal de esta devastación por el oomiceto se debió a que la principal fuente

de alimentación en esos poblados era la papa y, debido a que solo se cosechaba material genético susceptible, las pérdidas fueron devastadoras, generando hambruna por la devastación del tizón en estos cultivos (Arora *et al.*, 2014). Esta enfermedad sigue representando una seria amenaza para los agricultores, debido a su potencial de adaptación y variabilidad genética, por lo que se opta por utilizar variedades resistentes como estrategia de control (Fry, 2008).

2.3.1. Origen

A lo largo del tiempo se ha considerado al altiplano de México, principalmente al valle de Toluca, como el centro de origen del tizón tardío, debido a la gran variabilidad genética encontrada en esta región en comparación con el resto del mundo (Wang *et al.*, 2017). Se han postulado dos hipótesis sobre la propagación de este patógeno. La primera señala que el desplazamiento inició desde el centro de origen hacia Estados Unidos y, posteriormente, se distribuyó a otras regiones. La segunda hipótesis indica que la distribución inició de México a Perú, luego a Estados Unidos y, finalmente, a otras regiones del mundo (Majeed *et al.*, 2022). Antes de 1980, en el mundo prevalecía un solo linaje clonal del tizón tardío (A1), el cual se reproducía asexualmente, mientras que en México se encontraban dos linajes, A1 y A2, con la capacidad de reproducirse de forma sexual y asexual. Esto facilitó la rápida propagación del linaje A2 y, con ello, la introducción de la reproducción sexual en poblaciones europeas (Majeed *et al.*, 2022). La introducción del linaje A2 generó una mayor diversidad genética; por lo tanto, se desarrollaron cepas más agresivas y resistentes, lo que incrementa la prevalencia y dificulta el manejo de la enfermedad (Caruana *et al.*, 2023).

2.3.2. Ciclo biológico

P. infestans se caracteriza por ser cenocítico, con núcleos diploides, lo que lo diferencia de los hongos verdaderos, ya que carece de quitina en su pared celular (Katembo *et al.*, 2024). Es hemibiótrofico y no es un parásito obligado, lo que le permite sobrevivir en el suelo en forma de oosporas en ausencia del huésped. Además, gracias a su capacidad para reproducirse tanto sexual como asexualmente, posee una gran adaptación para sobrevivir a condiciones desfavorables (Berhan, 2021). Cuando se presentan temperaturas nocturnas frescas, alta humedad y hay presencia de rocío, niebla o lluvias ligeras, se favorece el desarrollo de la infección por tizón tardío. Para lograr su germinación se requieren temperaturas entre 13 y 21 °C y, al menos, de 7 a 10 horas de humedad para producir esporas localizadas en el envés de las hojas, cerca de las lesiones. Estas esporas se dispersan por el viento y la lluvia, generando así nuevas infecciones (Tiwari *et al.*, 2021). La reproducción de *P. infestans* se verá regulada principalmente por la temperatura. En condiciones de alta humedad se liberan zoosporas móviles, las cuales logran infectar la planta al ingresar por los estomas o por contacto directo. Cuando se presentan condiciones favorables, se pueden formar nuevos esporangios en tan solo 4 días. Estos esporangios se dispersan por el viento, permitiendo que se desarrollen varios ciclos de infección (Rhouma *et al.*, 2024).

2.3.3. Reproducción Sexual y Asexual de *Phytophthora infestans*

El tizón tardío presenta dos tipos de reproducción, tanto sexual como asexual, lo cual ayuda a adaptarse y sobrevivir en una gran variedad de ambientes (Lamichhane *et al.*, 2024). Su fase asexual se da mediante esporangios, los cuales germinan en presencia de agua libre y al presentarse temperaturas entre 13 y 21 °C. Posteriormente, estos esporangios liberan zoosporas biflageladas que nadan en busca de un hospedero. Una vez localizado, el patógeno se enquistas y germina, iniciando así el proceso de infección. Este proceso de reproducción

asexual generalmente concluye en aproximadamente 5 días y finaliza con la producción masiva de esporangios, que se dispersan por viento y agua (Fry, 2015; Leesutthiphonchai *et al.*, 2018; Ruiz-Chutan *et al.*, 2018; Vásquez-Castillo *et al.*, 2022). Por otra parte, la fase sexual de *P. infestans*, debido a que es un organismo heterotálico, requiere la presencia de ambos tipos de apareamiento, A1 y A2. La presencia de estos tipos de apareamiento genera, como resultado, la producción de oosporas, gracias a la fertilización entre oogonio y anteridio (Pérez & Forbes, 2008; Vásquez-Castillo *et al.*, 2022). Estas oosporas se caracterizan por poseer paredes gruesas, lo que les confiere la capacidad de sobrevivir durante largos periodos en el suelo y resistir condiciones ambientales adversas. De esta forma se conserva el inóculo para futuras infecciones cuando este germine (Leesutthiphonchai *et al.*, 2018; Pérez & Forbes, 2008). La formación de oosporas dependerá de la densidad de cada tipo de apareamiento; este fenómeno se conoce como efecto Allee (Yuen & Andersson, 2013).

2.3.4. Síntomas

La enfermedad del tizón tardío genera daños principalmente en los cultivos de papa y jitomate, afectando hojas, tallos, frutos y tubérculos, dependiendo del cultivo hospedero. Cuando no se implementa un manejo adecuado y se presentan condiciones favorables, se pueden producir pérdidas considerables, incluso devastadoras, en cuestión de 10 días (Olave-Achury *et al.*, 2022). El primer síntoma de la infección se manifiesta en las hojas inferiores como manchas irregulares con aspecto húmedo, que van cambiando de tonalidad a un marrón oscuro o negro púrpura (UC IPM, 2017). En condiciones de alta humedad se presenta un halo clorótico que rodea estas lesiones marrones (NDSU, 2022). Las lesiones avanzan recorriendo los pecíolos, lo cual propicia la marchitez y una necrosis extensa (UMN, 2021). La esporulación se evidencia como un crecimiento algodonoso de color blanquecino en el envés de la hoja (UW, 2023). En condiciones de clima seco, las lesiones se tornan coráceas y no se observan esporas (NDSU, 2022). En tubérculos se aprecian lesiones de color marrón y

hundidas, que pueden alcanzar hasta 0.5 pulgadas de profundidad; en algunas ocasiones, se puede presentar una podredumbre granular (UW, 2023; NDSU, 2022). En los pecíolos y tallos, las zonas necróticas pueden alcanzar hasta 10 cm, generando así problemas en la estructura completa de la planta (Pérez y Forbes, 2008). Además de causar daño en la planta, las heridas producidas pueden servir como puerta de entrada a bacterias oportunistas (NDSU, 2022).



Figura 1. Síntomas avanzados de tizón tardío en el valle de Toluca, Méx. Fotos del autor.

2.4. Mecanismos de defensa de las plantas

La base del sistema de defensa vegetal ante patógenos está constituida por barreras químicas y físicas, las cuales brindan defensas constitutivas (permanentes) e inducidas (se activan ante el ataque) (Morales & Sánchez, 2022). Dentro de las defensas constitutivas se encuentran diversas estructuras como la cera cuticular, pared celular y compuestos químicos preexistentes como fenólicos, saponinas y lectinas (Cruz-Borrueal *et al.*, 2006). Cuando estas barreras llegan a ser superadas, la planta da inicio a la activación de respuestas inducidas, dentro de las cuales se encuentran estructuras histológicas, celulares y citoplasmáticas; de igual forma, mecanismos bioquímicos como las reacciones de hipersensibilidad (Cruz-Borrueal *et al.*, 2006). Las plantas son capaces de detectar señales internas y externas gracias a un reconocimiento molecular específico. El primer nivel de defensa se conoce por el nombre de PTI (PAMP-Triggered Immunity); estas se activan tras detectarse PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns) mediante los PRRs (Pattern Recognition Receptors), o

también pueden detectarse por señales de daño DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns), como fragmentos de cutina o pared celular (Aragón-Gómez *et al.*, 2024). Cuando los patógenos llegan a sobrepasar estas defensas con sus efectores que suprimen la inmunidad ETS (Effector-Triggered Susceptibility), la planta activa ETI (Effector-Triggered Immunity) en respuesta a estos, los cuales se activan gracias a receptores NLR (Nucleotide-binding Leucine-rich Repeat), conduciendo a un incremento de la defensa, muerte celular programada (HR) y resistencia sistémica adquirida (SAR) (Aragón-Gómez *et al.*, 2024). Tras la identificación de PAMPs, DAMPs y efectores, se desencadena una producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), señales intracelulares arbitradas por calcio y MAPK, de igual forma la síntesis de fitoalexinas y el depósito de calosa (Aragón-Gómez *et al.*, 2024). El sistema de defensa de las plantas cuenta con cuatro fases: activación de la PTI, inhibición de esta por medio de efectores (ETS), activación de la ETI por NLR y, finalmente, la coevolución planta-patógeno, con modificaciones en genes efectores y genes de resistencia (Ojito-Ramos & Portal, 2010).

2.5. Especies reactivas de oxígeno (ROS)

Al ser detectado algún patógeno por las plantas, estas desencadenarán una respuesta de hipersensibilidad (HR) en la zona afectada, lo que produce una necrosis localizada. Esta necrosis se debe a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ERO), como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH), lo cual mitiga la proliferación de aquellos patógenos que logran atravesar las barreras físicas de las plantas (Benezer-Benezer *et al.*, 2008; Sanzón & Zavaleta, 2011). Las reacciones de hipersensibilidad son una forma de muerte celular programada, la cual se mide mediante la autofagia lisosomal (Sanzón & Zavaleta, 2011). Asimismo, las ERO aumentan debido al estrés generado por factores abióticos (sequía, salinidad, temperatura extrema), incluyendo tanto radicales libres (anión superóxido, hidroperóxido) como no radicales (oxígeno singlete) (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). Varios orgánulos de la planta producen ERO; entre ellos se encuentran los cloroplastos, las mitocondrias (a través de

complejos NADH de hidrogenasa) y los peroxisomas. Además, la pared celular produce peroxidasas y la membrana plasmática, mediante oxidasas de amina (Mansoor *et al.*, 2022; Singh, 2016). En los tejidos que no fotosintetizan, como las raíces y semillas, la NADPH oxidasa es fundamental para la producción de ERO (Cadenas, 2025). La generación de ERO causada por estrés abiótico propicia fitotoxicidad, mermando el crecimiento y la fotosíntesis en cultivos como el maíz y la soja (Moreno & Peñaranda, 2023; Mansoor *et al.*, 2022). Investigaciones recientes señalan el rol dual de las ERO: además de provocar daño oxidativo, actúan como moléculas señalizadoras. Un ejemplo claro es el H_2O_2 , el cual regula genes de defensa y la apertura estomática durante períodos de sequía (Revilla-Flores, 2021). En plantas de tabaco infectadas con *Pseudomonas syringae*, el H_2O_2 modifica quinasas MAP para activar respuestas inmunes (Cruz, 2020). Esto refleja mecanismos evolutivos que equilibran la toxicidad con funciones beneficiosas (Singh, 2016).

2.6. Super oxido dismutasa (SOD: EC 1.15.1.1)

La defensa antioxidante en las plantas está compuesta por sustancias presentes en bajas concentraciones en comparación con el sustrato oxidable; a pesar de ello, esta barrera antioxidante retrasa de manera significativa la oxidación inducida por las ERO. La regulación de estas moléculas es uno de los mecanismos más importantes para su control. En ese sentido, la primera enzima que interviene en esta regulación es el superóxido dismutasa (SOD), la cual cataliza el anión superóxido para convertirlo en oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno (Gonzales y León, 2017). La función primordial de las SOD es descomponer el O_2^- , transformándolo en O_2 y H_2O_2 , anulando así la formación de radicales hidroxilos (OH) gracias a la reacción Haber-Weiss (Zhou *et al.*, 2022). La SOD es una metaloenzima, por lo que requiere un cofactor metálico para poder activarse. Entre los iones que comúnmente se asocian a esta enzima se encuentran el hierro (Fe), el zinc (Zn), el cobre (Cu) y el manganeso (Mn). Con base en lo anterior, se han identificado tres isoformas principales de la SOD:

- La Fe-SOD se encuentra principalmente en organismos procariotas y en plantas, en algunos orgánulos como los cloroplastos.
- La Mn-SOD está presente tanto en procariotas como en las mitocondrias de organismos eucariotas.
- La isoforma Cu/Zn-SOD se localiza principalmente en organismos eucariotas dentro del citosol; sin embargo, también se halla en cloroplastos y peroxisomas (Berwal & Ram, 2018; Ighodaro & Akinloye, 2017).

Además de estas isoformas, se ha reportado la existencia de la isoforma Ni-SOD, la cual se encuentra únicamente en organismos marinos, estreptomicetos y cianobacterias, por lo que no es de relevancia agronómica (Khayatnezhad & Gholamin, 2021). Estudios avalan que el incremento en la actividad enzimática de alguna de estas isoformas de SOD aumenta la tolerancia de las plantas a condiciones de estrés abiótico o biótico. Un ejemplo es un estudio en *Brassica juncea*, en el que se observó que un aumento en la actividad de la SOD favoreció la tolerancia a la salinidad y a condiciones de sequía (Khayatnezhad y Gholamin, 2021). En una investigación realizada por Raychaudhuri & Deng (2000), se corroboró la sobreexpresión de SOD en plantas transgénicas, lo que evidenció su papel en la eliminación de ERO. Además, se sugiere que el éxito del ataque de un patógeno depende de la cantidad de peróxido de hidrógeno que este acumule en la planta (Lopez-Cruz *et al.*, 2016; Govrin & Levine, 2000; Hückelhoven & Kogel, 2003; Kumar *et al.*, 2001). En el estudio de López-Cruz *et al.* (2016) se corroboró la correlación entre la acumulación de ERO y la eficiencia de los patógenos para generar infección; en el cultivo de jitomate se midió la cantidad de peróxido de hidrógeno y se evidenció la asociación entre una mayor acumulación de este y la susceptibilidad ante *Botrytis cinerea*. En otra investigación se destacó la participación de la isoforma Fe-SOD en plantas transgénicas, demostrando la capacidad de esta enzima para reducir el daño ocasionado por la acumulación de ERO (Van Camp *et al.*, 1996). El estudio de Fernandez-Ocaña *et al.* (2011) demuestra la relación entre la actividad de la SOD y la acumulación de ERO, ya que se trabajó con distintas isoformas de SOD en el cultivo de girasol. Se observó

que, ante un estrés biótico o abiótico, ciertas isoformas metálicas de la SOD se activan para minimizar la cantidad de ERO; además, se sugiere que algunas de estas isoformas podrían actuar como moléculas señalizadoras, previniendo el daño oxidativo. De igual forma, bajo condiciones desfavorables, la actividad enzimática de la SOD aumenta para suprimir el daño generado por la acumulación de ERO, ya sea por estrés ambiental o por el ataque de un patógeno (Mushtaq *et al.*, 2020). La investigación de Hechavarría *et al.* (2007) evidencia una mayor concentración del superóxido dismutasa en alguna de sus isoformas en variedades resistentes en comparación con variedades susceptibles, demostrando una acumulación de esta enzima de forma innata.

2.7. Catalasa (CAT; EC 1.11.1.6)

CAT es una enzima antioxidante fundamental en la regulación del equilibrio oxidativo a nivel celular, debido a su capacidad para degradar el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual se forma y acumula en grandes cantidades como respuesta de la planta ante el estrés generado por factores abióticos (sequías, heladas, salinidad, ambientes desfavorables) y bióticos (daño causado por insectos, ataque de patógenos) (Beltrán-García *et al.*, 2006). La principal ventaja de la CAT, en comparación con otras enzimas antioxidantes, es su bajo consumo energético, ya que para descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno consume una baja cantidad de equivalentes reductores, sin afectar el equilibrio energético del metabolismo de la planta (Mushtaq *et al.*, 2020). Durante periodos de estrés oxidativo, la actividad de la catalasa aumenta para degradar el peróxido de hidrógeno que se acumula, principalmente durante la fotorrespiración (Mushtaq *et al.*, 2020). De igual forma, esta enzima participa en la defensa estructural y en la activación de genes de respuesta ante el estrés (Zhao *et al.*, 2016). Dentro de las plantas, la enzima CAT se encuentra distribuida principalmente en el peroxisoma y los glioxisomas; a su vez, esta enzima está codificada por tres genes principales: CAT1 (presente en polen y semillas), CAT2 (en tejidos fotosintéticos, raíces y semillas) y CAT3 (en tejidos vasculares y hojas en senescencia) (Dat *et*

al., 2011; Palma *et al.*, 2020). Por otro lado, sus isoformas varían entre especies; por ejemplo, en *Arabidopsis thaliana* y en el cultivo de maíz se numeran del 1 al 3, en arroz se agrupan por letras A, B y C, y en tabaco se conforman en clases I (tejidos fotosintéticos), II (vasculares) y III (semillas y órganos reproductivos) (Liu Cong *et al.*, 2023). Sin embargo, aunque su agrupación y clasificación difiera entre cultivos, la función de la CAT es la misma en todos: la eliminación del peróxido de hidrógeno, lo cual mitiga el daño oxidativo que, de otra forma, podría causar deterioro incluso a nivel del ADN, generando problemas irreversibles a la planta. Aunado a esto, la actividad de CAT puede aumentar por modificaciones postraduccionales, como la fosforilación, la cual incrementa la estabilidad y eficiencia de CAT para degradar H₂O₂ (Liu Cong *et al.*, 2023). Su *et al.* (2014) demostró la correlación positiva entre el aumento en la actividad de la enzima catalasa y la resistencia de la caña en variedades resistentes al carbón de la cañada de azúcar (*Sporisorium scitamineum*); en este estudio, las variedades susceptibles mostraron menor actividad en esta enzima y, por ende, menor resistencia. Por otro lado, en el estudio de Singh *et al.* (2013), en el que se realizaron pruebas en el cultivo de garbanzo inoculado con microorganismos beneficiosos, se observó la correlación entre el uso de tres cepas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Trichoderma harzianum* y *Mesorhizobium sp*) y una mayor resistencia ante el ataque de patógenos, lo que se asocia a la reducción de especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, lo anterior se contrapone con el estudio de Azarabadi *et al.* (2017), en el que se trabajó con el cultivo de pera (*Pyrus communis* L.) ante *Erwinia amylovora*. La investigación arrojó que no siempre una mayor actividad de la enzima catalasa favorece la resistencia del cultivo, ya que, al estar en mayor concentración, se disminuyen los niveles de peróxido de hidrógeno, lo que implica una reducción en las señales de defensa; por ende, una actividad menor de la CAT favorecería la resistencia, lo cual también fue reportado por Hassani *et al.* (2015). De igual forma, el estudio de El-Argawy & Adss (2016), realizado en variedades de papa resistentes ante *Ralstonia solanacearum*, demostró que las variedades resistentes mostraron una menor actividad enzimática en comparación

con las susceptibles, debido a la acumulación de peróxido de hidrógeno, la cual es una molécula clave en la respuesta defensiva de las plantas.

2.8. Peroxidasa (POD, EC.1.11.1.7)

La enzima peroxidasa se distribuye en una gran variedad de organismos (bacterias, hongos, algas y animales). Su función principal es la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua, además de encargarse de la oxidación de sustratos fenólicos y no fenólicos, lo que reduce la toxicidad del peróxido de hidrógeno. Además de actuar en la descomposición de H_2O_2 , las peroxidasas intervienen en la lignificación, la severización, el metabolismo del ácido indol-3-acético, el crecimiento y en la respuesta generada ante el estrés biótico o abiótico (Wang *et al.*, 2013). Se pueden clasificar las peroxidasas en dos grupos: las que contienen hemo y las que no. Dentro de las que tienen hemo, se subdividen en dos superfamilias:

- Peroxidasa ciclooxygenasa (PCOXS), la cual se encuentra únicamente en animales y actúa como parte de la inmunidad innata.
- Peroxidasa-catalasa (PCATS), presente en organismos como plantas, hongos y bacterias, y que se divide en clases I, II y III (Pandey *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2013).

La clase I se presenta en organismos eucariontes no animales y en procariotas; actúa desintoxicando especies reactivas de oxígeno, e incluye enzimas como la peroxidasa de citocromo (CCP), el ascorbato peroxidasa (APX) y la catalasa peroxidasa (CP). Otra característica de esta clase es la carencia de puentes disulfuro y calcio, así como la ausencia de señales de retículo endoplasmático. La clase II es exclusiva de los hongos, se encarga de la degradación de la lignina y contiene péptidos con señal N-terminal y 4 puentes disulfuro (Pandey *et al.*, 2017). Por último, las peroxidasas de la clase III son esenciales para el funcionamiento adecuado de la fisiología de la planta, participando en procesos como la

germinación, el desarrollo de frutos, la polinización, la cicatrización de heridas y la lignificación, particularmente bajo condiciones de estrés biótico o abiótico (Kidwai, *et al.*, 2020). La expresión de esta enzima está mediada por la señalización del peróxido de hidrógeno, que actúa a través de vías hormonales tales como la MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), el ácido salicílico, el ácido jasmonico y el etileno. Estas hormonas son percibidas por el H_2O_2 producido por la peroxidasa apoplástica o, alternativamente, debido al estrés oxidativo, lo que genera la activación de genes asociados con las PRXs de la clase III de las peroxidasas (Kidwai, *et al.*, 2020). Jindřichová *et al.* (2011), evaluó la respuesta de los cotiledones de *Brassica napus* (colza) ante la infección del patógeno *Leptosphaeria maculans* (podredumbre seca de las crucíferas), demostró un aumento en la actividad de tres isoformas de la enzima peroxidasa en respuesta a la infección. También se observó un aumento de peróxido de hidrógeno en el tejido infectado, lo que sugiere que esta enzima participa en la desintoxicación del peróxido de hidrógeno y, a su vez, lo utiliza para el engrosamiento de la pared celular. Se demostraron que el aumento en la actividad de la peroxidasa mejora la defensa de las plantas al controlar las concentraciones de peróxido de hidrógeno. Por otro lado, en el estudio de O'Brien *et al.* (2012) en *Arabidopsis*, al inducir la activación de la respuesta inmunitaria mediante patrones moleculares asociados a patógenos (MAMP), se demostró que la peroxidasa genera peróxido de hidrógeno, el cual actúa como molécula señal para activar genes de resistencia. En dicho experimento, al reducir la expresión de los genes de la peroxidasa, se observó una disminución en las reacciones oxidativas y, con ello, una menor actividad de la peroxidasa después de la estimulación con MAMP. Resumiendo, a mayor actividad enzimática de la peroxidasa habrá una mejor respuesta defensiva en la planta, al fortalecer la señalización y la construcción de barreras físicas contra los patógenos. Otro ejemplo se da en el trabajo de Liu *et al.* (2009), en el que se aumentó la actividad de la enzima peroxidasa de la clase III para reforzar la defensa de las plantas ante el ataque de la Mosca de Hesse. En este estudio, utilizando líneas isogénicas de trigo, se observó que las variedades resistentes tenían una mayor acumulación de peróxido de hidrógeno

en el apoplasto en comparación con las variedades susceptibles. En resumen, este estudio demostró que el aumento de la actividad de la peroxidasa se correlaciona con una elevada producción de peróxido de hidrógeno, lo que envía señales para inducir una mayor expresión de genes de defensa; por ende, una mayor actividad en la enzima peroxidasa mejora la respuesta defensiva en las plantas (Liu *et al.*, 2010).

2.9. Polifenol oxidasa (PPO, EC. 1.14.18.1)

La enzima PPO (polifenol oxidasa) es dicobre y se encuentra en la mayoría de los organismos vivos. Esta enzima es capaz de oxidar los orto-difenoles a orto-quinonas, utilizando oxígeno molecular, y en ocasiones también convierte monofenoles en orto-difenoles (Mayer, 2006; Tran *et al.*, 2012). Dentro de las plantas, esta enzima se distribuye principalmente en plastidios como los cloroplastos y leucoplastos especialmente en tejido joven (Zhang, 2023). La liberación de compartimentos celulares, generada por senescencia, daño mecánico, ataque de patógenos o por procesos postcosecha, permite el contacto entre la PPO y los compuestos fenólicos presentes en la planta, lo que produce el pardeamiento enzimático. Esta reacción repercute negativamente en las propiedades sensoriales y la vida útil de los frutos (Taranto *et al.*, 2017). El pardeamiento ocurre en dos etapas: en la primera se produce la oxidación de monofenoles u orto-difenoles a orto-quinonas; en la segunda, estas se condensan o polimerizan. La tonalidad marrón rojiza aparece como un efecto secundario no enzimático, resultado de la formación de melaninas (Yoruk & Marshall, 2003). Además de interferir en el deterioro postcosecha, esta enzima desempeña funciones defensivas en las plantas. La barrera de melanina que se forma actúa como protección ante insectos y patógenos (Flurkey & Inlow, 2008). Se ha descrito una correlación entre una mayor actividad de la PPO y una mayor resistencia ante ataques bióticos, como se aprecia en algunas variedades de papa resistentes a la podredumbre blanda generada por *Pectobacterium atrosepticum* y *P. carotovorum* (Taranto *et al.*, 2017). Ma *et al.* (2010) demostró la correlación entre la actividad

de la enzima PPO y el aumento en la respuesta defensiva. Esta investigación, realizada en el cultivo de trigo afectado por dos especies de áfido del grano (*Sitobion avenae*) y el greenbug (*Schizaphis graminum*) demostró que la saliva de estas especies contenía cantidades de PPO. Se observó que *S. graminum* presentaba una actividad de PPO 38 veces mayor que la de *S. avenae*. La actividad enzimática de la PPO se asoció con la aparición de manchas amarillas por reacción de hipersensibilidad en las hojas de trigo y con una fuerte inducción de genes de defensa. Por lo tanto, la PPO en la saliva de *S. graminum* actuó como elicitador, activando mecanismos de defensa en el trigo frente a la infestación de áfidos; en consecuencia, a mayor actividad de la enzima PPO, mayor es la defensa en la planta (Ma *et al.*, 2010). Otro ejemplo se describe en el estudio de Kuvalekar *et al.* (2011), en el que se trabajó con plantas de jazmín *Jasminum officinale* var. *grandiflorum* infectadas por *Uromyces hobsoni*. Se reportó un aumento en la actividad de la PPO en las hojas, lo que sugiere que esta enzima participa en la oxidación de fenoles a quinonas, formando ligninas y generando barreras químicas contra el patógeno. Por el contrario, en el tallo se observó una menor actividad de esta enzima, lo que se correlacionó con la aparición de lesiones de mayor tamaño y con la formación de agallas. Esto indica que una respuesta temprana de la PPO en las hojas es vital para limitar el progreso de la infección, mientras que una respuesta tardía o una disminución de la actividad en el tallo se asocia con una alta susceptibilidad ante la infección por roya. En resumen, una mayor actividad de la PPO en las hojas mejora las defensas al convertir los fenoles en compuestos tóxicos, como las quinonas, mitigando así el avance de los patógenos (Kuvalekar *et al.*, 2011).

2.10. Compuestos fenólicos

Las plantas generan metabolitos secundarios como respuesta adaptativa al estrés biótico y abiótico. A diferencia de los metabolitos primarios, los secundarios no participan en funciones vitales (como la fotosíntesis), pero desempeñan un papel clave en la defensa y supervivencia de las plantas (Saini *et al.*, 2024). Dentro de

la amplia variedad de metabolitos secundarios, los compuestos fenólicos destacan por su diversidad estructural y omnipresencia en la planta. Los compuestos fenólicos están formados por uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Se pueden clasificar en fenoles simples y derivados complejos, dividiéndose funcionalmente en preformados e inducidos: los preformados se encuentran de forma constitutiva a bajas concentraciones, mientras que los inducidos se sintetizan en respuesta a la interacción con patógenos (Kulbat, 2016; Shalaby & Horwitz, 2014). El primer paso en la biosíntesis de fenoles se inicia a partir de la fenilalanina mediante la vía del ácido shikímico. Este aminoácido se desamina gracias a la actividad de la enzima fenilalanina amonio-liasa (PAL), generando ácido cinámico, precursor de los fenoles (Kulbat, 2016). A través de esta vía se forman compuestos fenólicos monoméricos (como flavonoides, ácidos fenólicos y fenilpropanoides) y poliméricos (como taninos, ligninas, lignanos y melaninas). Los fenoles desempeñan principalmente funciones defensivas (Salunke & Koche, 2023). Debido a una constante presión de selección durante su desarrollo, las plantas han evolucionado para sintetizar estos compuestos como mecanismo de defensa frente al estrés biótico y abiótico. Un antecedente destacado es el de la papa silvestre, que ha desarrollado genes para inducir la síntesis de fenoles y tolerar ataques del tizón tardío, una de las enfermedades más devastadoras para las solanáceas (Daayf *et al.*, 2012; Salunke & Koche, 2023). En el estudio de Mikulic-Petkovsek *et al.* (2013), se analizó la respuesta de frutos de pimiento (*Capsicum annuum* L.) infectados por *Colletotrichum coccodes*. Se compararon los niveles de compuestos fenólicos entre tejido sano, infectado (manchado) y tejido de borde (el área entre el tejido sano y el infectado). Tras la infección, se observó un incremento en la cantidad de compuestos fenólicos, destacándose que el ácido clorogénico aumentó de 3 a 11 veces en el tejido de borde, mientras que los fenoles totales se incrementaron 1.6 a 1.7 veces en comparación con el tejido sano. Esto confirma que la infección estimula la síntesis de fenoles, actuando como barrera química para mitigar el avance de la infección (Mikulic-Petkovsek *et al.*, 2013). En el estudio realizado por Awan *et al.* (2018) en variedades resistentes de tomate (*Solanum lycopersicum*) infectadas con el hongo

Alternaria solani, se observó un aumento significativo en la actividad de los compuestos fenólicos, entre un 45 % y un 80 % mayor que en las variedades susceptibles. Esto indica que las variedades resistentes generan una mayor síntesis y concentración de fenoles, los cuales desempeñan un papel fundamental en la defensa contra el ataque de patógenos. La alta concentración de fenoles contribuye a mitigar el estrés oxidativo al neutralizar los radicales libres durante los procesos de infección (Awan *et al.*, 2018).

2.11. Proteínas

Las proteínas en las células vegetales se encuentran principalmente en órganos como semillas, frutos, raíces y tubérculos. Estas desempeñan un papel fundamental al almacenar nutrientes y sostener el mantenimiento, crecimiento y defensa de las plantas. Entre las proteínas defensivas destacan los péptidos antimicrobianos (AMPs), que son pequeñas proteínas catiónicas capaces de eliminar microorganismos mediante la ruptura de la membrana celular (De Souza Cândido *et al.*, 2011). Comúnmente, estos péptidos se inducen en respuesta a factores ambientales desfavorables o al ataque de patógenos e insectos, acumulándose en grandes cantidades y contribuyendo a la generación de resistencia adquirida, lo que limita la propagación de infecciones o daños oxidativos (Sudisha *et al.*, 2011). Las proteínas defensivas, que se acumulan en tejidos tanto infectados como no infectados, fueron identificadas inicialmente en plantas de tabaco infectadas por el virus del mosaico del tabaco (TMV). Estas proteínas se caracterizan por ser solubles en ácidos, tener un bajo peso molecular y ser resistentes a la degradación proteolítica. Generalmente, se clasifican en proteínas ácidas (intercelulares) y básicas (vacuolares), y su expresión se ha reportado en especies como guisantes, frijol, tomate y maíz, en respuesta al ataque de hongos (Saboki & Singh, 2011). En el estudio de Kundu *et al.* (2012), realizado en plantas de *Vigna mungo* (variedad Cv. T9) evaluadas ante la infección por MYMIV (Mungbean Yellow Mosaic India Virus), las plantas infectadas exhibieron síntomas intensos, conformados por manchas cloróticas

con patrones en mosaico en las hojas. Se comparó la cantidad de proteína soluble en hojas de plantas no inoculadas y en aquellas tratadas con ácido salicílico (SA), observándose un incremento en las proteínas solubles, lo que sugiere que estos compuestos son clave en la defensa y en el control del estrés oxidativo. Por otro lado, Radwan *et al.* (2010) en *Vicia faba* infectada por BYMV (Virus del Mosaico Amarillo del Poroto), las aplicaciones de ácido salicílico indujeron una mayor concentración de proteína soluble. Estas proteínas fortalecen las barreras de la planta y mitigan la propagación del virus. En conclusión, el aumento en la actividad de las proteínas solubles mejora la capacidad de las plantas para contrarrestar el estrés provocado por la infección de patógenos, minimizando la propagación y contribuyendo a una respuesta defensiva más eficaz (Radwan *et al.*, 2010).

2.12. Fenilalanina amonio-liasa (PAL, EC.4.3.1.5)

La enzima fenilalanina amonio-liasa (PAL) es clave en la defensa de las plantas, ya que actúa en la biosíntesis de lignina, ácidos salicílicos (SA) y varios metabolitos derivados de esta vía (You *et al.*, 2020). Su función principal es catalizar la desaminación no oxidativa de la L-fenilalanina para formar ácido trans-cinámico, el cual da inicio a la vía de los fenilpropanoides (Hyun *et al.*, 2011), la cual produce compuestos fenólicos con funciones estructurales y en la respuesta defensiva de las plantas (Vanitha *et al.*, 2009). La actividad de esta enzima se asocia con la producción de SA; es esencial ante el ataque de patógenos, habiéndose comprobado la correlación entre su expresión génica y la resistencia de varios cultivos (Lv *et al.*, 2016). Esta enzima reaccionará a múltiples estímulos, como heridas, infecciones, exposición a la luz y la acción de reguladores del crecimiento; el aumento en el ARNm traducible conduce a una mayor expresión de esta enzima, generándose diferentes isoformas según el tipo de señal recibida (Liang *et al.*, 1989). Lo anterior refleja la regulación del PAL mediante redes complejas que integran señales externas del ambiente y de desarrollo, lo que modula la biosíntesis de fenilpropanoides y fortalece la adaptación de las plantas a condiciones ambientales desfavorables (MINAMI *et al.*, 1989). En el estudio de

Bahadur *et al.* (2011), realizado en guisantes, se aplicaron de forma foliar L-fenilalanina, lo cual provocó un aumento en la actividad de la enzima PAL en comparación con los testigos. Este aumento produjo una acumulación de ácido ferúlico en las hojas, lo que resultó en la inhibición de la germinación de conidios del mildiu polvoriento de los guisantes (*Erysiphe pisi*). Esto evidencia que un aumento en la actividad de PAL se asocia a una mayor resistencia en las plantas, ya que favorece la defensa al inhibir la germinación de conidios patógenos y contribuye a una mayor resistencia en las hojas de guisante (Bahadur *et al.*, 2011). Mahatma *et al.* (2019), trabajó con variedades resistentes de cacahuate ante *Alternaria*. Se midió la actividad de la enzima PAL en las variedades expuestas al ataque de *Alternaria* y se comparó con la de los testigos. Se encontró una mayor concentración de PAL en las variedades resistentes en comparación con los testigos, lo cual implica que estas variedades presentan una mejor resistencia ante *Alternaria*. En efecto, existe una correlación entre la concentración de PAL y la mayor resistencia en variedades resistentes (Mahatma *et al.*, 2019).

2.13. Ácido salicílico (SA)

El ácido salicílico (SA) es producido por las plantas y algunos organismos procariotas; es un metabolito fenólico que, en las plantas, se produce a partir del ácido trans-cinámico en la ruta de los fenilpropanoides y es catalizado por la fenilalanina amonio-liasa (PAL) (Ding & Ding, 2020; Zhang y Li, 2019). Aunque, en un principio, el SA se destacó por su uso en la medicina, al identificarse su papel como regulador en procesos biológicos se le conoció como la sexta hormona vegetal (Ding & Ding, 2020). Al SA también se le atribuye actividad como fitohormona, actuando en funciones principales como la señalización y la regulación de procesos tales como la germinación, el crecimiento celular, la respiración, el cierre estomático, la senescencia, la termotolerancia y la nodulación, además de participar en la defensa ante el estrés generado por factores bióticos y abióticos (Wani *et al.*, 2017). Sin embargo, su función principal es actuar como señalizadora en la respuesta inmune de la planta, particularmente en los mecanismos de inmunidad basal (PTI), inmunidad efectora (ETI) y

resistencia sistémica adquirida (SAR) (An & Mou, 2011). A diferencia de los animales, las plantas carecen de células especializadas en inmunidad; sin embargo, cada célula posee la capacidad de detectar patógenos gracias a los receptores PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos), lo que activa la PTI (inmunidad basal). En caso de que los patógenos evadan esta defensa mediante sus efectores, la planta responde con sus proteínas R, las cuales activan la inmunidad efectora (ETI) (An & Mou, 2011). Ambos mecanismos pueden inducir resistencia sistémica adquirida (SAR), un tipo de resistencia duradera y de amplio espectro en el cual el SA juega un papel fundamental. White, en 1979, demostró por primera vez el potencial del ácido salicílico como inductor de resistencia en el cultivo de tomate, al mejorar su resistencia tras aplicaciones exógenas contra el virus mosaico del tabaco. En la década de los 90 se efectuaron estudios químicos que avalaron estos hallazgos, confirmando que las concentraciones de SA aumentan en el tejido vegetal infectado por TMV tras una infección (Zhang y Li, 2019). En el estudio de Jendoubi *et al.* (2015), en el que se realizaron aplicaciones exógenas de SA a través del sistema radicular en plantas de jitomate cultivadas de manera hidropónica, se activaron mecanismos de defensa sistémicos para mitigar la infección de los patógenos *F. oxysporum f. sp.* y *Alternaria solani*. Aunque el SA no posee propiedades antifúngicas directas, su principal efecto es desencadenar la respuesta de defensa de la planta. El SA actúa como inductor de la inmunidad, estimulando la expresión génica, la acumulación de compuestos fenólicos y la modulación del estado oxidativo de la planta. En este experimento se observó que el SA no solo mitiga el progreso de la enfermedad, sino que también reduce el daño a nivel vascular y la coloración amarillenta de las hojas. En resumen, la acumulación de SA induce una respuesta defensiva más robusta para mitigar la acción de los patógenos (Jendoubi *et al.*, 2015). Para el estudio de Li *et al.* (2019), en el cual se evaluó el efecto del SA en la resistencia al virus mosaico del tomate (TYLCV) en cultivos hidropónicos, se utilizaron dos variedades de tomate: “Zhefen-702”, clasificada como resistente al TYLCV, y “Jinpeng-1”, considerada susceptible al virus. Se realizaron aplicaciones exógenas de SA cuando las plantas tenían 4 hojas; la aplicación se efectuó en el

sistema radicular y, posteriormente, se inocularon con TYLCV. En ambos casos, las plantas respondieron favorablemente, mostrando una adecuada tolerancia al estrés oxidativo generado por la infección y activando mecanismos de defensa mediados por la inducción de genes clave para generar resistencia. En resumen, la aplicación exógena de SA favoreció tanto a la variedad susceptible como a la resistente; sin embargo, la variedad resistente, al contar con concentraciones más altas de compuestos y mecanismos de defensa, podría requerir menores dosis de SA en comparación con la susceptible. La evidencia respalda que el SA actúa como un fuerte inductor de los mecanismos de defensa en las plantas, y en las variedades resistentes se encuentra en mayor concentración, lo que favorece su respuesta inmunitaria (Li *et al.*, 2019).

2.14. Literatura citada

- An, C., & Mou, Z. (2011). Salicylic acid and its function in plant immunity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53(6), 412-428. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2011.01043.x>.
- Aragón-Gómez, W. I., García-Velázquez, B. A., & Delgado-Guizar, C. S. (2024). Sistema inmune innato vegetal. *IBCIENCIAS*, 7(1), 25-30. <http://revistas.unach.mx/index.php/ibciencias/article/view/202>
- Arora, R. K., Sharma, S., & Singh, B. P. (2014). Late blight disease of potato and its management. *Potato Journal*, 41(1). https://www.researchgate.net/publication/287301918_Late_blight_disease_of_potato_and_its_management.
- Awan, Z., A., Shoaib, A., & Kashif Aziz Khan. (2018). Variations in total phenolics and antioxidant enzymes cause phenotypic variability and differential resistant response in tomato genotypes against early blight disease. *Scientia Horticulturae*, 239, 216-223. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.044>.

- Azarabadi, S., Abdollahi, H., Torabi, M., Salehi, Z., & Nasiri, J. (2016). ROS generation, oxidative burst and dynamic expression profiles of ROS-scavenging enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in response to *Erwinia amylovora* in pear (*Pyrus communis* L). *European Journal of Plant Pathology*, 147(2), 279-294. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1000-0>.
- Bahadur, A., Singh, D. P., Sarma, B. K., & Singh, U. P. (2011). Foliar application of L-phenylalanine and ferulic acids to pea plants: Induced phenylalanine ammonia lyase activity and resistance against *Erysiphe pisi*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(4), 398-403. <https://doi.org/10.1080/03235408.2011.587963>.
- Beltrán-García, M. J., Ogura-Fujii, T., Manzo-Sánchez, G., & Arias-Castro, C. (2006). Catalasas de hongos fitopatógenos: ¿Factores de virulencia y resistencia a fungicidas? *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 50-58. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224108>.
- Benezer-Benezer, M., Castro-Mercado, E., & García-Pineda, E. (2008). La producción de especies reactivas de oxígeno durante la expresión de la resistencia a enfermedades en plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 26(1), 56-61. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092008000100009&lng=es&tlng=es.
- Berhan, M. (2021). Review on epidemiology, sampling techniques, management strategies of late blight (*Phytophthora infestans*) of potato and its yield loss. *Asian Journal of Advances in Research*, 4(1), 199-207. <https://jasianresearch.com/index.php/AJOAIR/article/view/142>.
- Berwal, M. K., & Ram, C. (2019). Superoxide dismutase: A stable biochemical marker for abiotic stress tolerance in higher plants. In *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82079>.

- Cadenas, S. (2025). Especies reactivas de oxígeno, estrés oxidativo y señalización redox. *Revista de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM)*. <https://revista.sebbm.es/articulo.php?id=808>.
- Caruana, B. M., De Boer, R. F., Rodoni, B., Cogan, N. O., & Edwards, J. (2023). Genetic epidemiology of late blight in Australia using ancient DNA. *Australasian Plant Pathology*, 52(5), 487-499. <https://doi.org/10.1007/s13313-023-00936-6>.
- Cruz, G. (2020). Interacción de las respuestas hipersensibles en la planta con los procesos infectivos de los hongos patógenos. Metroflor Colombia. <https://www.metroflorcolombia.com/interaccion-de-las-respuestas-hipersensibles-en-la-planta-con-los-procesos-infectivos-de-los-hongos-patogenos/>.
- Cruz-Borruel, M., Hernández-Fundora, Y., & Rivas-Figueredo, E. (2006). Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de patógenos y plagas. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 10(29), 45-54. <https://biblat.unam.mx/es/revista/temas-de-ciencia-y-tecnologia/articulo/mecanismos-de-resistencia-de-las-plantas-al-ataque-de-patogenos-y-plagas>.
- Daayf, F., El Hadrami, A., El-Bebany, A. F., Henriquez, M. A., Yao, Z., Derksen, H., ... Adam, L. R. (2012). Phenolic compounds in plant defense and pathogen counter-defense mechanisms. *Recent Advances in Polyphenol Research*, 191-208. <https://doi.org/10.1002/9781118299753.ch8>.
- Dat, J., Inzé, D., & Van Breusegem, F. (2001). Catalase-deficient tobacco plants: Tools for in planta studies on the role of hydrogen peroxide. *Redox Report*, 6(1), 37-42. <https://doi.org/10.1179/135100001101536012>.

- De Souza Cândido, E., Pinto, M. F. S., Pelegrini, P. B., Lima, T. B., Silva, O. N., Pogue, R., Grossi-de-Sá, M. F., & Franco, O. L. (2011). Plant storage proteins with antimicrobial activity: Novel insights into plant defense mechanisms. *The FASEB Journal*, 25(10), 3290-3305. <https://doi.org/10.1096/fj.11-184291>.
- Delesma-Morales, L., Lozoya-Saldaña, H., Rodríguez-Pérez, J. E., & La Cruz, J. B. D. (2019). Pathosystem *Solanum lycopersicum*-*Phytophthora infestans* in Chapingo, Mexico. Expected, observed and simulated. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1910-5>.
- Ding, P., & Ding, Y. (2020). Stories of salicylic acid: A plant defense hormone. *Trends in Plant Science*, 25(6), 549-565. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.01.004>.
- El-Argawy, E., & Adss, I. A. (2016). Quantitative gene expression of peroxidase, polyphenoloxidase and catalase as molecular markers for resistance against *Ralstonia solanacearum*. *American Journal of Molecular Biology*, 6(2), 88-100. <https://doi.org/10.4236/ajmb.2016.62010>.
- Enciso-Maldonado, G. A., Lozoya-Saldaña, H., Díaz-García, G., & López-Salazar, A. (2021). La búsqueda de resistencia al tizón tardío en papas silvestres. *Investigaciones y Estudios-UNA*, 12(2), 36-47. <https://doi.org/10.47133/IEUNA2124b>.
- FAO. (2024, May 30). El periplo de la papa a través de épocas y continentes. <https://www.fao.org/newsroom/story/the-potatos-travel-through-ages-and-continents/es>.
- Fernández-Ocaña, A., Chaki, M., Luque, F., Gómez-Rodríguez, M. V., Carreras, A., Valderrama, R., Begara-Morales, J. C., Hernández, L. E., Corpas, F. J., & Barroso, J. B. (2011). Functional analysis of superoxide dismutases (SODs) in sunflower under biotic and abiotic stress conditions. Identification

- of two new genes of mitochondrial Mn-SOD. *Journal of Plant Physiology*, 168(11), 1303-1308. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.01.020>.
- Flurkey, W. H., & Inlow, J. K. (2008). Proteolytic processing of polyphenol oxidase from plants and fungi. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102(12), 2160-2170. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.08.007>.
- Fry, W. (2008). *Phytophthora infestans*: The plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 9(3), 385-402. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x>.
- Ghislain, M., Trognitz, B., del R. Herrera, M., & otros. (2001). Genetic loci associated with field resistance to late blight in offspring of *Solanum phureja* and *S. tuberosum* grown under short-day conditions. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(2-3), 433-442. <https://doi.org/10.1007/s00122-001-0545-1>.
- Gómez Pulgarín, T. M., López Ortiz, J. B., Pineda Tuirán, R., Galindo López, L. F., Arango Isaza, R., & Morales Osorio, J. G. (2012). Caracterización citogenética de cinco genotipos de papa criolla, *Solanum phureja* (Juz. et Buk.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(1), 6379-6387. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472012000100008&lng=en&tlng=es.
- González Negrete, J., & León Galván, M. F. (2017). Aislamiento de genes antioxidantes a partir de plantas endémicas de México. *Jóvenes en la Ciencia*, 2(1), 395-399. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1071>.
- Govrin, E. M., & Levine, A. (2000). The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Current Biology*, 10(13), 751-757. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00560-1](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00560-1).

- Gutiérrez Beltrán, E., & de la Torre, F. N. (2016). La coevolución como un sistema de defensa en la interacción planta-patógeno. *Encuentros en la Biología*, 9(157), 79-81. <https://www.revistas.uma.es/index.php/enbio/article/view/17976>.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>.
- Hassani, M., Salami, S. A., Nasiri, J., Abdollahi, H., & Ghahremani, Z. (2015). Phylogenetic analysis of PR genes in some pome fruit species with the emphasis on transcriptional analysis and ROS response under *Erwinia amylovora* inoculation in apple. *Genetica*, 144(1), 9-22. <https://doi.org/10.1007/s10709-015-9874-x>.
- Haynes, K. G., Qu, X., & Christ, B. J. (2014). Two cycles of recurrent maternal half-sib selection reduce foliar late blight in a diploid hybrid *Solanum phureja*-*S. stenotomum* population by two-thirds. *American Journal of Potato Research*, 91(3), 254-259. <https://doi.org/10.1007/s12230-013-9345-9>.
- Hechavarría, M. L. O., Arencibia-Rodríguez, A., López Lee, R., Acevedo-Rojas, R., León Díaz, O., & Rodríguez Lema, E. (2006). Proteínas relacionadas con la defensa en la interacción *Sporisorium scitamineum* - caña de azúcar. *Agronomía Mesoamericana*, 18(2), 197-203. <https://doi.org/10.15517/am.v18i2.5050>.
- Hückelhoven, R., & Kogel, K.-H. (2003). Reactive oxygen intermediates in plant-microbe interactions: Who is who in powdery mildew resistance? *Planta*, 216(6), 891-902. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-0973-z>.

- Hyun, M. W., Yun, Y. H., Kim, J. Y., & Kim, S. H. (2011). Fungal and plant phenylalanine ammonia-lyase. *Mycobiology*, 39(4), 257-265. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2011.39.4.257>.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- Jendoubi, W., Harbaoui, K., & Hamada, W. (2015). Salicylic acid-induced resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* in hydroponic grown tomato plants. *Journal of New Sciences*, 21. <https://www.jnsciences.org/component/content/article.html?id=103:salicylic-acid-induced-resistance-against-fusarium-oxysporumf-s-pradicis-lycopercisi-in-hydroponic-grown-tomato-plants>.
- Jindřichová, B., Fodor, J., Šindelářová, M., Burketová, L., & Valentová, O. (2011). Role of hydrogen peroxide and antioxidant enzymes in the interaction between a hemibiotrophic fungal pathogen, *Leptosphaeria maculans*, and oilseed rape. *Environmental and Experimental Botany*, 72(2), 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.018>.
- Katembo, A. V., Katswangene, P. K., Odimba, D. O., & Wallis, N. Z. (2024). Potato breeding for late blight resistance in Central and East Africa. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 6(4), 1-7. <https://doi.org/10.24018/ejfood.2024.6.4.799>.
- Khayatnezhad, M., & Gholamin, R. (2021). The effect of drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat genotypes.

- Advancements in Life Sciences, 8(2), 119-123.
<http://dx.doi.org/10.62940/als.v8i2.1066>.
- Kidwai, M., Ahmad, I. Z., & Chakrabarty, D. (2020). Class III peroxidase: An indispensable enzyme for biotic/abiotic stress tolerance and a potent candidate for crop improvement. *Plant Cell Reports*, 39(11), 1381-1393.
<https://doi.org/10.1007/s00299-020-02588-y>.
- Kulbat, K. (2016). The role of phenolic compounds in plant resistance. *Biotechnology and Food Science*, 80(2), 97-108.
<https://doi.org/10.34658/bfs.2016.80.2.97-108>.
- Kumar, J., Hückelhoven, R., Beckhove, U., Nagarajan, S., & Kogel, K.-H. (2001). A compromised Mlo pathway affects the response of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (Teleomorph: *Cochliobolus sativus*) and its toxins. *Phytopathology*, 91(2), 127-133.
<https://doi.org/10.1094/phyto.2001.91.2.127>.
- Kuvalekar, A., Redkar, A., Gandhe, K., & Harsulkar, A. (2011). Peroxidase and polyphenol oxidase activities in compatible host-pathogen interaction in *Jasminum officinale* and *Uromyces hobsoni*: Insights into susceptibility of host. *New Zealand Journal of Botany*, 49(3), 351-359.
<https://doi.org/10.1080/0028825x.2011.569727>.
- Lamichhane, S., Neupane, S., Timsina, S., Chapagain, B., Paudel, P. P., & Rimal, A. (2024). Potato late blight caused by *Phytophthora infestans*; An overview10 overview on pathology, integrated disease management approaches, and forecasting models. <https://ssrn.com/abstract=4929715>.
- Leesutthiphonchai, W., Vu, A. L., Ah-Fong, A. M. V., & Judelson, H. S. (2018). How does *Phytophthora infestans* evade control efforts? Modern insight into the late blight disease. *Phytopathology*, 108(8), 916-924.
<https://doi.org/10.1094/phyto-04-18-0130-ia>.

- Li, T., Huang, Y., Xu, Z., Wang, F., & Xiong, A. (2019). Salicylic acid-induced differential resistance to the Tomato yellow leaf curl virus among resistant and susceptible tomato cultivars. *BMC Plant Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1784-0>.
- Liang, X. W., Dron, M., Cramer, C. L., Dixon, R. A., & Lamb, C. J. (1989). Differential regulation of phenylalanine ammonia-lyase genes during plant development and by environmental cues. *Journal of Biological Chemistry*, 264(24), 14486-14492. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)71704-3/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)71704-3/fulltext).
- Liu, X., Williams, C. E., Nemacheck, J. A., Wang, H., Subramanyam, S., Zheng, C., & Chen, M. (2010). Reactive oxygen species are involved in plant defense against a gall midge. *Plant Physiology*, 152(2), 985-999. <https://doi.org/10.1104/pp.109.150656>.
- Liu, C., Deng, Y., Liu, X., & otros. (2023). Research advances in the function of catalase in plant growth, development and stress response. *Life Science Research*, 27(2), 128-138. <https://smkx.hunnu.edu.cn/EN/Y2023/V27/I2/128#2>.
- López-Cruz, J., Óscar, C., Emma, F., Pilar, G., & Carmen, G. (2017). Absence of Cu-Zn superoxide dismutase BCSOD1 reduces *Botrytis cinerea* virulence in *Arabidopsis* and tomato plants, revealing interplay among reactive oxygen species, callose and signalling pathways. *Molecular Plant Pathology*, 18(1), 16-31. <https://doi.org/10.1111/mpp.12370>.
- Lv, M., Kong, H., Liu, H., Lu, Y., Zhang, C., Liu, J., ... Gao, X. (2017). Induction of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) in insect damaged and neighboring undamaged cotton and maize seedlings. *International Journal of Pest*

- Management, 63(2), 166-171.
<https://doi.org/10.1080/09670874.2016.1255804>.
- Ma, R., Chen, J., Cheng, D., & Sun, J. (2010). Activation of defense mechanism in wheat by polyphenol oxidase from aphid saliva. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4), 2410-2418. <https://doi.org/10.1021/jf9037248>.
- Mahatma, M. K., Thawait, L. K., Jadon, K. S., Rathod, K. J., Sodha, K. H., Bishi, S. K., ... Golakiya, B. A. (2019). Distinguish metabolic profiles and defense enzymes in *Alternaria* leaf blight resistant and susceptible genotypes of groundnut. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(6), 1395-1405. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00708-x>.
- Majeed, A., Siyar, S., & Sami, S. (2022). Late blight of potato: From the great Irish potato famine to the genomic era – An overview. *Hellenic Plant Protection Journal*, 15(1), 1-9. <https://doi.org/10.2478/hppj-2022-0001>.
- Mansoor, S., Ali Wani, O., Lone, J. K., Manhas, S., Kour, N., Alam, P., ... Ahmad, P. (2022). Reactive oxygen species in plants: From source to sink. *Antioxidants*, 11(2), 225. <https://doi.org/10.3390/antiox11020225>.
- Mayer, A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry*, 67(21), 2318-2331. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.006>.
- Mesny, F., Hacquard, S., & Thomma, B. P. H. J. (2023). Co-evolution within the plant holobiont drives host performance. *EMBO Reports*, 24(9). <https://doi.org/10.15252/embr.202357455>.
- Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Jakopic, J., Cunja, V., Veberic, R., Munda, A., & Stampar, F. (2013). Phenolic compounds as defence response of pepper fruits to *Colletotrichum coccodes*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 84, 138-145. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2013.09.003>.

- Minami, E., Ozeki, Y., Matsuoka, M., Koizuka, N., & Tanaka, Y. (1989). Structure and some characterization of the gene for phenylalanine ammonia-lyase from rice plants. *European Journal of Biochemistry*, 185(1), 19-25. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1989.tb15075.x>.
- Morales Santos, T. M., & Sánchez Hernández, H. (2022). Mecanismos inmunológicos en las plantas. *Ciencia*, 73(4). https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/73_4/PDF/13_73_4_1348_MecanismosInmunologicos.pdf.
- Moreno Florez, Á., & Peñaranda R., M. I. (2023). Fitotoxicidad: Más que un culpable, una mirada a los múltiples factores en interacción. *Metroflor Colombia*. <https://www.metroflorcolombia.com/fitotoxicidad-mas-que-un-culpable-una-mirada-a-los-multiples-factores-en-interaccion/>.
- Mushtaq, Z., Faizan, S., & Gulzar, B. (2020). Salt stress, its impacts on plants and the strategies plants are employing against it: A review. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(3), 81-91. <https://doi.org/10.7324/jabb.2020.80315>.
- North Dakota State University. (2022). Late blight of potato. NDSU Extension. <https://www.ndsu.edu/agriculture/extension/publications/late-blight-potato>
- Ñústez López, C., & Rodríguez Molano, L. (2024). Papa criolla (*Solanum tuberosum* L. Grupo Phureja): Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/86779>.
- O'Brien, J. A., Daudi, A., Finch, P., Butt, V. S., Whitelegge, J. P., Souda, P., Ausubel, F. M., & Bolwell, G. P. (2012). A peroxidase-dependent apoplastic oxidative burst in cultured *Arabidopsis* cells functions in MAMP-elicited defense. *Plant Physiology*, 158(4), 2013-2027. <https://doi.org/10.1104/pp.111.190140>.

Ojito-Ramos, K., & Portal, O. (2010). Introducción al sistema inmune en plantas. *Biotecnología Vegetal*, 10(1), 3-19. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/266/240>.

Olave-Achury, A., Cardenas, D., Restrepo, S., Lucca, F., Fry, W. E., Myers, K. L., Danies, G., & Soto-Suarez, M. (2022). Phenotypic and genotypic characterization of *Phytophthora infestans* isolates associated with tomato and potato crops in Colombia. *Phytopathology*, 112(8), 1783-1794. <https://doi.org/10.1094/phyto-04-21-0158-r>.

Orozco Orozco, L. F., Ramírez Franco, L. A., & Cotes Torres, J. M. (2013). Evaluation of the heritability of resistance to *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary in a population of *Solanum phureja* Juz et Buk. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 66(1), 6833-6843. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472013000100001&lng=en&tlng=e.

Palma, J. M., Mateos, R. M., López-Jaramillo, J., Rodríguez-Ruiz, M., González-Gordo, S., Lechuga-Sancho, A. M., & Corpas, F. J. (2020). Plant catalases as NO and H₂S targets. *Redox Biology*, 34, 101525. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101525>.

Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., & Dwivedi, U. N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 6(1). <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000308>.

Prasannath, K. (2017). Plant defense-related enzymes against pathogens: A review. *AGRIEAST Journal of Agricultural Sciences*, 11(1), 38. <https://doi.org/10.4038/agrieast.v11i1.33>.

Radwan, D. E. M., Fayez, K. A., Younis Mahmoud, S., & Lu, G. (2010). Modifications of antioxidant activity and protein composition of bean leaf

- due to Bean yellow mosaic virus infection and salicylic acid treatments. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(5), 891-904. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0477-y>.
- Revilla-Flores, E. M. (2021). Especies reactivas de oxígeno, importancia e implicación patológica. *Revista Científica Ciencia Médica*, 24(2), 125-132. <https://doi.org/10.51581/rccm.v24i2.401>.
- Rhouma, A., Hajji-Hedfi, L., & Atallaoui, K. (2024). Potato late blight: The pathogen, the menace, the sustainable control. *DYSONA - Life Science*, 5(1), 37-51. <https://doi.org/10.30493/dls.2024.445326>.
- Ruiz-Chutan, J. A., Berdúo-Sandoval, J. E., & Sánchez-Pérez, A. (2018). Diversidad genética de aislados de *Phytophthora infestans* colectados en zonas productoras de papa y tomate de Guatemala. *Ciencia Tecnología y Salud*, 5(2), 151-161. <https://doi.org/10.36829/63cts.v5i2.489>.
- Saboki, E., Uddin, K., & Singh, B. (2011). Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism. *Science Against Microbial Pathogens*, 2, 1043-1054.
https://www.researchgate.net/publication/284957170_Pathogenesis_related_PR_proteins_in_plant_defense_mechanism.
- Saini, N., Anmol, A., Kumar, S., Wani, A. W., Bakshi, M., & Dhiman, Z. (2024). Exploring phenolic compounds as natural stress alleviators in plants - A comprehensive review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 133, 102383. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102383>.
- Salunke, P., & Koche, D. (2023). Role of phenolic compounds in plant defense mechanism: An updated review. *Indian Journal of Applied Pure Biology*, 38(3), 1199-1215.
https://www.researchgate.net/publication/372763626_Role_of_Phenolic_compounds_in_plant_defense_mechanism_An_updated_review.

- Sanzón Gómez, D., & Zavaleta Mejía, E. (2011). Respuesta de hipersensibilidad, una muerte celular programada para defenderse del ataque por fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 29(2), 154-164. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092011000200007&lng=es&tlng=es.
- Seminario-Cunya, J. F., Villanueva-Guevara, R., & Valdez-Yopla, M. H. (2018). Rendimiento de cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) amarillos precoces del grupo Phureja. *Agronomía Mesoamericana*, 29(3), 639. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i3.32623>.
- Sen Raychaudhuri, S., & Deng, X. W. (2000). The role of superoxide dismutase in combating oxidative stress in higher plants. *Botanical Review*, 66(1), 89-98. <https://doi.org/10.1007/BF02857783>.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H., & Rocha-Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355-363. https://www.researchgate.net/publication/242671743_La_Participacion_de_los_Metabolitos_Secundarios_en_la_Defensa_de_las_Plantas.
- Shalaby, S., & Horwitz, B. A. (2015). Plant phenolic compounds and oxidative stress: Integrated signals in fungal-plant interactions. *Current Genetics*, 61(3), 347-357. <https://doi.org/10.1007/s00294-014-0458-6>.
- Singh, S. (2016). ROS signaling in plants under stress. *Journal of Experimental Botany*, 67(12), 3523-3534.
- Singh, H., Dixit, S., Verma, P. C., & Singh, P. K. (2013). Differential peroxidase activities in three different crops upon insect feeding. *Plant Signaling & Behavior*, 8(9), e25615. <https://doi.org/10.4161/psb.25615>.

- Singh, A., Jain, A., Sarma, B., Upadhyay, R., & Singh, H. (2013). Rhizosphere microbes facilitate redox homeostasis in *Cicer arietinum* against biotic stress. *Annals of Applied Biology*, 163(1), 33-46. <https://doi.org/10.1111/aab.12030>.
- Su, Y., Guo, J., Ling, H., Chen, S., Wang, S., Xu, L., Allan, A. C., & Que, Y. (2014). Isolation of a novel peroxisomal catalase gene from sugarcane, which is responsive to biotic and abiotic stresses. *PLoS ONE*, 9(1), e84426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084426>.
- Sudisha, J., Sharathchandra, R. G., Amruthesh, K. N., Kumar, A., & Shetty, H. S. (2012). Pathogenesis related proteins in plant defense response. In *Plant Defence: Biological Control* (pp. 379-403). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1933-0_17.
- Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M., Pavan, S., & Montemurro, C. (2017). Polyphenol oxidases in crops: Biochemical, physiological and genetic aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 377. <https://doi.org/10.3390/ijms18020377>.
- Tello, C., Acuña, I., Lucca, F., & Morales, R. (2023). Alerta temprana para el manejo del tizón tardío de la papa. ATN/RF 16678 RG Producto 20. Base de datos *P. infestans* Actividad 4.3 Caracterización fenotípica del agente causal por país. https://www.researchgate.net/publication/382456055_ALERTA_TEMPRANA_PARA_EL_MANEJO_DEL_TIZON_TARDIO_DE_LA_PAPA_ATNRF_16678_RG_PRODUCTO_20_Base_de_datos_P_infestans_Actividad_43_Caracterizacion_fenotipica_del_agente_causal_por_pais
- Tiwari, I., Shah, K. K., Tripathi, S., Modi, B., Subedi, S., & Shrestha, J. (2021). Late blight of potato and its management through the application of different fungicides and organic amendments: A review. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 4(1), 301-320. <https://doi.org/10.3126/janr.v4i1.33374>.

- Tran, L. T., Taylor, J. S., & Constabel, C. P. (2012). The polyphenol oxidase gene family in land plants: Lineage-specific duplication and expansion. *BMC Genomics*, 13, 395. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-395>.
- Universidad of Wisconsin-Madison. (2023). Tomato late blight. Vegetable Pathology – University of Wisconsin-Madison. <https://vegpath.plantpath.wisc.edu/diseases/tomato-late-blight/>.
- University of California Agriculture and Natural Resources. (2017). Late blight in home gardens. UC IPM. <https://ipm.ucanr.edu/PMG/GARDEN/VEGES/DISEASES/lateblight.html>.
- University of Minnesota Extension. (2021). Late blight. <https://extension.umn.edu/disease-management/late-blight>.
- Van Camp, W., Capiou, K., Van Montagu, M., Inzé, D., & Slooten, L. (1996). Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts. *Plant Physiology*, 112(4), 1703-1714. <https://doi.org/10.1104/pp.112.4.1703>.
- Vanitha, S. C., Niranjana, S. R., & Umesha, S. (2009). Role of phenylalanine ammonia lyase and polyphenol oxidase in host resistance to bacterial wilt of tomato. *Journal of Phytopathology*, 157(9), 552-557. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01526.x>.
- Vásquez-Castillo, W., Rivadeneira, A. S., Ruales, J. R., & Cuesta-Subía, X. (2022). Resistencia genética como estrategia para el control de *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum*). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23(2). https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num2_art:2292.
- Wang, J., Fernández-Pavía, S. P., Larsen, M. M., Garay-Serrano, E., Gregorio-Cipriano, R., Rodríguez-Alvarado, G., Grünwald, N. J., & Goss, E. M. (2017). High levels of diversity and population structure in the potato late blight pathogen at the Mexico centre of origin. *Molecular Ecology*, 26(4), 1091-1107. <https://doi.org/10.1111/mec.14000>.

- Wang, J., Liu, K., Li, D., Zhang, Y., Zhao, Q., He, Y., & Gong, Z. (2013). A novel peroxidase CanPOD gene of pepper is involved in defense responses to *Phytophthora capsici* infection as well as abiotic stress tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 3158-3177. <https://doi.org/10.3390/ijms14023158>.
- Wani, A. B., Chadar, H., Wani, A. H., Singh, S., & Upadhyay, N. (2017). Salicylic acid to decrease plant stress. *Environmental Chemistry Letters*, 15(1), 101-123. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0584-0>.
- Whisson, S. C., Boevink, P. C., Wang, S., & Birch, P. R. J. (2016). The cell biology of late blight disease. *Current Opinion in Microbiology*, 34, 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.09.002>.
- Yoruk, R., & Marshall, M. R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review. *Journal of Food Biochemistry*, 27(5), 361-422. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2003.tb00289.x>.
- You, X., Fang, H., Wang, R., Wang, G.-L., & Ning, Y. (2020). Phenylalanine ammonia lyases mediate broad-spectrum resistance to pathogens and insect pests in plants. *Science Bulletin*, 65(17), 1425-1427. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2020.05.014>.
- Yuen, J. E., & Andersson, B. (2013). What is the evidence for sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Europe? *Plant Pathology*, 62(3), 485-491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02685.x>.
- Zhang, Y., & Li, X. (2019). Salicylic acid: Biosynthesis, perception, and contributions to plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 50, 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.02.004>.
- Zhang, S. (2023). Recent advances of polyphenol oxidases in plants. *Molecules*, 28(5), 2158. <https://doi.org/10.3390/molecules28052158>.

- Zhao, H., Sun, X., Xue, M., Zhang, X., & Li, Q. (2016). Antioxidant enzyme responses induced by whiteflies in tobacco plants in defense against aphids: Catalase may play a dominant role. *PLoS ONE*, 11(10), e0165454. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165454>.
- Zhou, X., Ren, T., Yin, J., Zhang, X., Li, P., & Li, H. (2022). A full visible LED enabled by a broadband yellow emission nepheline phosphor derived from a europium doped SOD zeolite. *Journal of Materials Chemistry C*, 10(41), 15613-15619. <https://doi.org/10.1039/d2tc02732a>.

3. REACCIONES ENZIMÁTICAS DE DEFENSA DE *Solanum phureja* AL TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans* MONT. DE BARY) EN PAPA.

3.1. RESUMEN

El tizón tardío (*Phytophthora infestans*) es una de las enfermedades más devastadoras en el cultivo de papa, con pérdidas que pueden alcanzar el 100% en condiciones favorables. *Solanum phureja* es una especie silvestre de la que se han seleccionado clones resistentes a la enfermedad. Con el objetivo de entender la interacción hospedero-patógeno, se cuantificó la respuesta enzimática de esta especie ante la infección natural del oomiceto. Se incluyeron 27 accesiones resistentes en campo, comparándolas con un testigo susceptible (*Solanum tuberosum* var. Fianna). Se midió la severidad de la enfermedad, fenoles totales, y la actividad de diversas enzimas y ácido salicílico. Las accesiones de *S. phureja* demostraron su resistencia, con una severidad máxima del 17%, frente al colapso total del testigo. Se observaron concentraciones elevadas de fenoles totales y una actividad enzimática superior, particularmente en fenil-alanina-amonio-lyasa (PAL) y peroxidasa (POX), con una correlación inversa entre la actividad de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) y el avance de la enfermedad. El ácido salicílico (AS) mostró niveles hasta 64% mayores en accesiones resistentes, como inductor temprano de defensas. Estos resultados revelan una estrategia multifactorial en *S. phureja*, integrando barreras químicas, detoxificación de especies reactivas de oxígeno y señalización hormonal. La investigación subraya la importancia de aprovechar la diversidad genética de especies silvestres para el desarrollo de variedades resistentes, como una alternativa al control químico del tizón tardío.

Palabras clave: Resistencia genética, agobio oxidativo.

3.2. ABSTRACT

Late blight (*Phytophthora infestans*) is one of the most devastating diseases in the potato crop, with losses that can reach 100% under favorable conditions. *Solanum phureja* is a wild species, from which clones resistant to the disease have been selected. To understand the host-pathogen interaction, the enzymatic response of this species to the natural infection of the oomycete was quantified. Twenty seven resistant accessions in the field were included, comparing them with a susceptible control (*Solanum tuberosum* var. Fianna). The severity of the disease, total phenols, and the activity of various enzymes and salicylic acid were measured. Accessions of *S. phureja* demonstrated their resistance, with a maximum severity of 17%, against total collapse of the control. High concentrations of total phenols and superior enzyme activity were observed, particularly in phenyl-alanine-ammonium-lyase (PAL) and peroxidase (POX), with an inverse correlation between superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity and disease progression. Salicylic acid (SA) showed up to 64% higher levels in resistant accessions, as an early inducer of defenses. These results reveal a multifactorial strategy in *S. phureja*, integrating chemical barriers, detoxification of reactive oxygen species and hormonal signaling. The research underscores the importance of harnessing the genetic diversity of wild species for the development of resistant varieties, as an alternative to chemical control of late blight.

Keywords: Genetic resistance, oxidative stress.

3.3. INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa es uno de los principales a nivel mundial, destaca por ser una fuente de carbohidratos y proteínas. Sin embargo, como en todos los cultivos, es atacado por un gran número de patógenos los cuales generan pérdidas significativas. Hongos, bacterias, virus, nematodos y fitoplasmas limitaran la producción. Uno de los más agresivos para la papa es el tizón tardío, causado por el oomyceto *Phytophthora infestans* (Demissie, 2019). Se considera a México su centro de origen debido a la gran diversidad genética que existe dentro del país. Atraves del tiempo ha generado importantes tragedias de hambruna, la más destacada ocurrió en Irlanda a mediados el siglo XIX. El principal problema que se enfrentó en esa hambruna fue la nula existencia de variedades resistentes por lo que la enfermedad devastó campos enteros de la producción de papa la cual era la principal fuente de alimentación (Tiwari *et al.*, 2021). El manejo de esta enfermedad se basa principalmente en el uso de fungicidas químicos, debido a la poca disponibilidad de variedades resistentes. El principal problema que representa el uso de fungicidas es la generación de resistencia de *P. infestas* ante las moléculas aplicadas debido al uso excesivo de estos por parte de los agricultores (Mhatre *et al.*, 2020). Sin embargo, el método de variedades resistentes es una alternativa más económica y práctica, en la cual, si se obtiene buen material genético resistente a esta enfermedad resultaría mejor. Como fuente principal en la búsqueda de resistencia se han realizado investigaciones en especies silvestres debido a su variabilidad genética (Miranda, 2005). Dentro de estas especies silvestre destaca *Solanum phureja* la cual ya ha sido probada y su resistencia se ha corroborado (Díaz-García *et al.*, 2003). La resistencia abarca reacciones como la respuesta de hipersensibilidad, siendo esta un tipo de defensa que activa la planta en respuesta a la detección de un patógeno (Vásquez-Castillo, 2022). Con base a lo anterior, se estableció el presente ensayo, con los objetivos de confirmar la resistencia genética de las accesiones al tizón tardío y entender la interacción hospedero-patógeno desde el punto de vista enzimático.

3.4. MATERIALES Y METODOS

La primera fase del presente estudio consistió en sembrar las semillas de 27 accesiones de *Solanum phureja* durante el verano de 2023, en el municipio de Metepec, Estado de México, en la estación experimental del ICAMEX, exponiéndose las plantas a la infección natural por el oomiceto en el campo. El testigo susceptible fue *Solanum tuberosum*, var. Fiana. Se llevó a cabo un monitoreo semanal hasta la aparición de los primeros síntomas de tizón tardío con base a la clasificación de Henfling (1982). Posteriormente se evaluó semanalmente la severidad de la enfermedad.

Una vez corroborada la resistencia en las accesiones, se repitió la siembra en 2024, en el campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo en Chapingo, Méx. Allí se esperó la aparición de síntomas para iniciar la lectura de incidencia de la enfermedad. Simultáneamente, se tomó tejido vegetal tanto de las accesiones como de los testigos, y estas muestras se llevaron al laboratorio de usos múltiples del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo para realizar los análisis enzimáticos correspondientes.

3.4.1. Diseño experimental

Para la presente investigación se estableció un diseño completamente al azar. Se tuvieron tres repeticiones, en las cuales cada tratamiento correspondió a una accesión de la especie en estudio. En total se evaluaron 27 accesiones y un testigo absoluto susceptible. La unidad experimental consistió en tres plantas por accesión. Las variables evaluadas incluyeron la severidad de la enfermedad y la actividad enzimática. Para fines de cuantificación de datos, las accesiones se conformaron en grupos de cinco accesiones cada uno de mayor a menor actividad (grupos 1 al 5 respectivamente), y el grupo 6 de testigos susceptibles.

3.4.2. Muestreo

En 2023 se evaluó la severidad de la enfermedad mediante lecturas visuales (Henfling, 1982), que se iniciaron al detectarse los primeros síntomas en los testigos y se realizaron a los 7, 14, 21 y 28 días, a 70 días después del trasplante, con un total de 4 muestreos. Posteriormente, en 2024 se procedió únicamente a

la recolección de material vegetal para el análisis enzimático. Se tomaron 3 muestras de cada tratamiento, obteniéndose entre 20 a 40 g de tejido vegetal por muestra, según la disponibilidad. Las muestras se recolectaron semanalmente durante 3 semanas a los 70, 77 y 84 días de vida de las plantas. Una vez recolectado el tejido, se colocó en una hielera y se transportó al laboratorio de usos múltiples del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, donde se procesaron para determinar la actividad enzimática de las enzimas evaluadas.

3.4.3. Determinación enzimática

Para la determinación de la actividad enzimática se elaboró polvo de acetona de acuerdo a la metodología desarrollada por Alia-Tejacal *et al.*, (2002). A partir de 40 g de foliolo se adiciono 100 mL de acetona fría, se licuó por 30 segundos y se filtró al vacío. Se repitió el procedimiento anterior en seis ocasiones. El polvo se dejó secar a temperatura ambiente, se registró el peso y fue congelado para el análisis enzimático, el extracto de acetona se refrigeró para la determinación de fenoles totales.

3.4.4. Fenoles totales

La determinación se realizó mediante la metodología Folin-Ciocalteu descrito por Waterman y Mole (1994). Se agregaron 150 µL de cada extracto en tubos de fondo plano. Se agregaron 850 µL de agua destilada y se agitó. Se añadió 7 mL de agua destilada y 500 µL de reactivo Folin-Ciocalteu (2N), se dejaron reposar durante ocho minutos, se adicionó 1.5 mL de Carbonato de sodio (20 %), se mezcló y se dejó reposar por dos horas en completa oscuridad. Concluidas las dos horas las muestras se leyeron a 760 nm (Genesys 10 UV Scanning, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts).

3.4.5. Fenilalanina amonioliasa

A partir de 0.1 gr de polvo de acetona se agregaron 5 mL de Buffer Tampón Borato-Sodio (0.1 M, pH 8.8, 1 % Polivinilpirrolidona) + Mercaptoetanol (0.12 %), se homogeneizó en frío (T25 Ultra turrax, IKA, Wilmington, USA), se filtró y la

solución fue vertida en tubos de centrifuga. La mezcla se centrifugó (Sorvall RC 6+, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 20 000 g, 4 °C durante 20 minutos. Se agregó sulfato de amonio (0.46 gr por mL de solución) y se agitó vigorosamente. Los tubos fueron colocados en baño de hielo y agitados (Max Q 4450, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) durante 20 minutos a 15 °C, posteriormente centrifugados (Sorvall RC 6+, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 20 000 g, 4 °C durante 20 minutos. Para el ensayo de la actividad PAL se utilizaron dos series de tubos, en la serie 1 se agregó 4 mL de agua bidestilada (pH 7.7) y 2 mL de extracto, en la serie 2 se añadió 3.4 mL de agua bidestilada (pH 7.7) y 2 mL de extracto, ambas se llevaron a incubación a 39 °C en baño maría. Se dejaron reposar por 10 minutos, a la serie 2 se agregó 600 µL de L-fenilalanina, se agitaron y fueron tomadas ambas lecturas a 290 nm (Genesys 10 UV Scanning, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts). Se dejó reposar 2 horas incubando a 39 °C y se tomó la lectura nuevamente (Martínez-Téllez y Lafuente, 1997).

3.4.6. Peroxidasa

La actividad de la peroxidasa se determinó en base a la metodología de Flukey y Jen (1978). A partir de 0.05 g de polvo de acetona en tubos de fondo plano, se adicionaron 57 ml de TRIS-HCl + PVP (0.1 M, pH 7.1, 1 % polivinilpirrolidona). Se homogenizo la mezcla en frío (T25 Ultra turrax, IKA, Wilmington, USA) durante 30 s. Posteriormente fue centrifugada (Sorvall RC 6+, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 22,617 g, 4 °C durante 30 min. Se determinó la enzimática añadiendo 2.5 ml de TRIS-HCl (0.1 M, pH 7.1), 0.1 ml de Peróxido de hidrógeno (0.25 %), 0.25 ml de Guaiacol (0.1 M) y 0.15 ml de muestra. Tomando las lecturas a los 30, 60, 90 y 120 s a 470 nm en el espectrofotómetro (Genesys 10 UV Scanning, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts).

3.4.7. Superóxido dismutasa

A partir 0.05 g de polvo de acetona en tubos de fondo plano, se añadió 5 mL de Buffer Fosfatos (0.01M, pH 7.8). La mezcla fue homogenizada en frío T25 Ultra turrax, IKA, Wilmington, USA) durante 30 segundos. La mezcla fue centrifugada (Sorvall RC 6+, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 22 000 g, 4 °C

durante 30 minutos. En ausencia de luz se preparó una mezcla con: 81 mL de Buffer Fosfatos + EDTA (0.01M, pH 7.8), 4.5 mL de L-metionina, 3 mL de Nitrotetrazolium blue y 2.25 mL de Triton X-100. A tubos de rosca se añadió 3 mL de la mezcla anterior y 500 µL de muestra, tres tubos más fueron tomados como blanco y se les añadió 3 mL de mezcla y 500 µL de Buffer Fosfatos (0.1M, pH 7.8), se agitaron y a todos se les agregó 30 mL de riboflavina. Bien agitados se sometieron a luz fluorescente durante siete minutos. El cambio de absorbancia se leyó a 560 nm (Beyer y Fridovich 1987).

3.4.8. Ácido salicílico

Para la cuantificación de AS se utilizó el método por colorimetría descrito por Warriar, *et al.*, (2013), con ligeras modificaciones. Se pesaron 50 mg de tejido vegetal fresco, se homogenizaron con 5 ml de agua destilada y se centrifugaron (Sorvall RC 6+, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 25,000 g por 20 min a 7 °C. Los sobrenadantes de las muestras se colocaron en hielo hasta su medición. Se tomaron 100 µl del sobrenadante, y se agregaron 3.9 ml de cloruro férrico (Fe III), se agitó y midió la absorbancia de la solución a 540 nm en el espectrofotómetro (Genesys 10 UV Scanning, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts). Se elaboró una curva estándar y se disolvieron 100 mg de AS en 100 ml de agua destilada para obtener una solución madre a 1000 ppm. Se tomaron 0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5 y 5.5 ml de la solución madre, y se aforaron a 10 ml. Se midió la absorbancia de las soluciones en el espectrofotómetro (Genesys 10 UV Scanning, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 540 nm. Con los valores obtenidos se elaboró la curva de absorción y se obtuvo mediante la línea de tendencia, la fórmula para el cálculo de los µg de AS para luego obtener µg/g de tejido fresco.

3.4.9. Catalasa

Para la determinación CAT se homogenizaron 0.05 g de polvo de acetona con 5 ml de Tris-HCl frío, (0.1 Mm pH 8.5, 1 % polivinilpirrolidona) utilizando un homogeneizador T25 Ultra turrax, IKA, Wilmington, USA. Se centrifugó a 12,000 g durante 20 min, refrigerando a 4 °C. La actividad CAT se evaluó mediante el método descrito por Lück, citado por Blackwell, *et al.*, (1990). Se colocaron 3 ml

de Tris-HCl 10 Mm y 0.1 ml de peróxido de hidrogeno 0.88 % en 100 Mm de Tris-HCl. Esta mezcla se colocó en el espectrofotómetro. La reacción inició al adicionar 0.1 ml e extracto crudo y se observó el cambio de asorbancia a 240 nm (Genesys 10 UV Scanning, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts).

3.4.10. Polifenol oxidasa

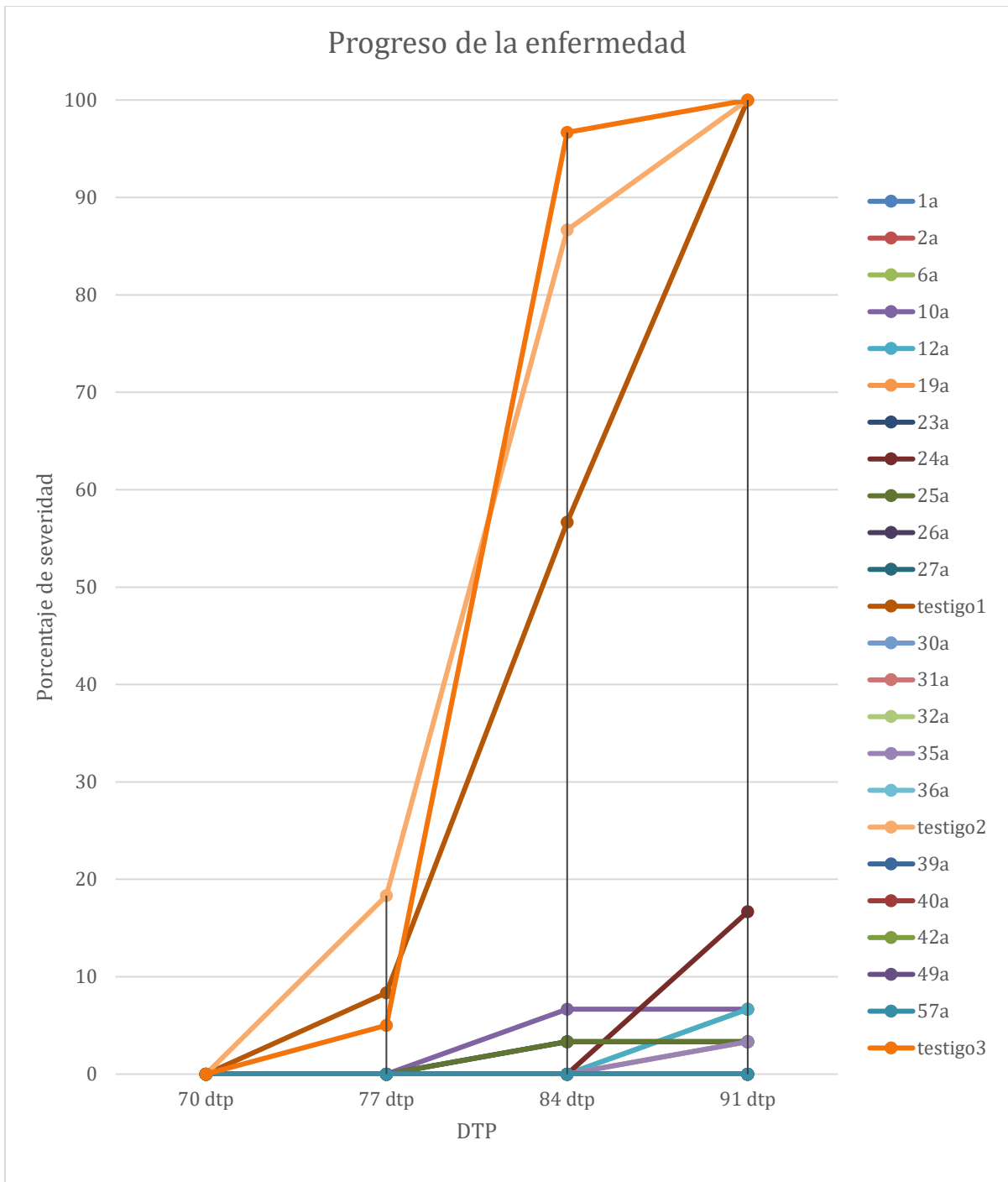
La actividad PPO se evaluó por el método propuesto por Laminkara (1995). Se pesaron 0.2 g de polvo de acetona con 5 ml de Tris-HCl frío (100 Mm pH 7.1), se homogenizó (T25 Ultra turrax, IKA, Wilmington, USA) durante 30 s y se centrifugó (Sorvall RC 6+, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 22,617 g, 4 °C durante 20 min. El sobrenadante se utilizó para el ensayo, en el cual se evaluó el cambio de absorbencia a 420 nm. La mezcla de reacción consistió en 2 ml de catecol (60 Mm) + 0.05 ml del sobrenadante, se determinó el cambio de absorbencia en un minuto.

3.4.11. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, 9.4), el cual consistió en ANOVA y comparaciones de medias de Tukey ($\alpha=0.05$) por variedad para cada fecha de muestreo, mientras que para conocer la relación entre enzimas se realizó un análisis de correlación.

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tratamientos y testigos iniciaron con un 0 % de severidad. A 77 días después del trasplante los testigos tuvieron entre el 6 al 20 % de severidad, mientras que los tratamientos continuaron sanos. Para la tercera lectura a los 84 días, los testigos mostraron un aumento significativo en severidad (55 al 95 %), mostrando afectaciones severas sobre los testigos. Por otro lado, los tratamientos alcanzaban un máximo del 5 % de severidad. En la cuarta lectura los testigos llegaron a severidad total. Las plantas estaban muertas por la enfermedad. Lo contrario paso con los tratamientos, que llegaron a un máximo del 15 %, siendo la accesión 24 la que tuvo mayor daño, aunque sin diferencia estadística significativa. El resto de las accesiones solo llegaron a 5 % (fig. 1).



**Figura 1. Curva de progreso de *P. infestans*.
dtp, días desde el trasplante.**

3.5.1. Fenoles Totales (FEN)

Se registro un aumento en el contenido de fenoles totales en función del tiempo hasta los 77 días después del trasplante (dtp). En el grupo 5 se aprecia una disminución a los 84 dtp. Los grupos 1, 2, 3, 4 y testigo con mayor contenido de fenoles (figura 2). Para el día 84 dtp se formaron 6 grupos estadísticamente diferentes en donde solo el grupo 5 fue inferior al testigo y el resto supero la media de este, lo cual indica una mayor concentración de fenoles en estos (cuadro 1). La conformación de estos grupos también obedeció a su comportamiento el año previo, y su numeración de los genotipos más resistentes en el grupo uno a los más susceptibles en el cinco, coincide con su ordenamiento por el contenido de este metabolito en el Cuadro 1. Esto es, el grupo uno, más resistente, con el mayor contenido de fenoles, y el más susceptible con la menor cantidad.

Las variedades resistentes contienen más fenoles de manera innata Una vez que hay una infección habrá una mayor concentración de los fenoles para contenerla (Awan *et al*, 2018). En el estudio de Mikulic-Petkovsek *et al.*, (2013) aumentó la concentración de fenoles en el hospedante al ser infectado por un patógeno. En nuestro caso el testigo es el que menos tiene. El resto de los grupos al tener una mayor concentración de fenoles mitigaron el avance aun cuando esta no causaba un daño considerable. Sin embargo, el grupo 5, relativamente susceptible, exhibió una menor concentración de fenoles. La infección no logro superar las barreras de la planta, pero ya existía una concentración de fenoles para mitigar el ataque.

Cuadro 1. Comparación de medias del contenido de fenoles a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales).

<i>Tratamiento</i>	<i>media</i>	<i>α^*</i>
<i>Grupo 1</i>	8636.4	<i>a</i>
<i>Grupo 2</i>	7391.5	<i>ab</i>
<i>Grupo 3</i>	6491.2	<i>bc</i>
<i>Grupo 4</i>	5510.2	<i>c</i>
<i>Grupo 5</i>	3506.4	<i>d</i>
<i>Testigo</i>	5048.6	<i>cd</i>

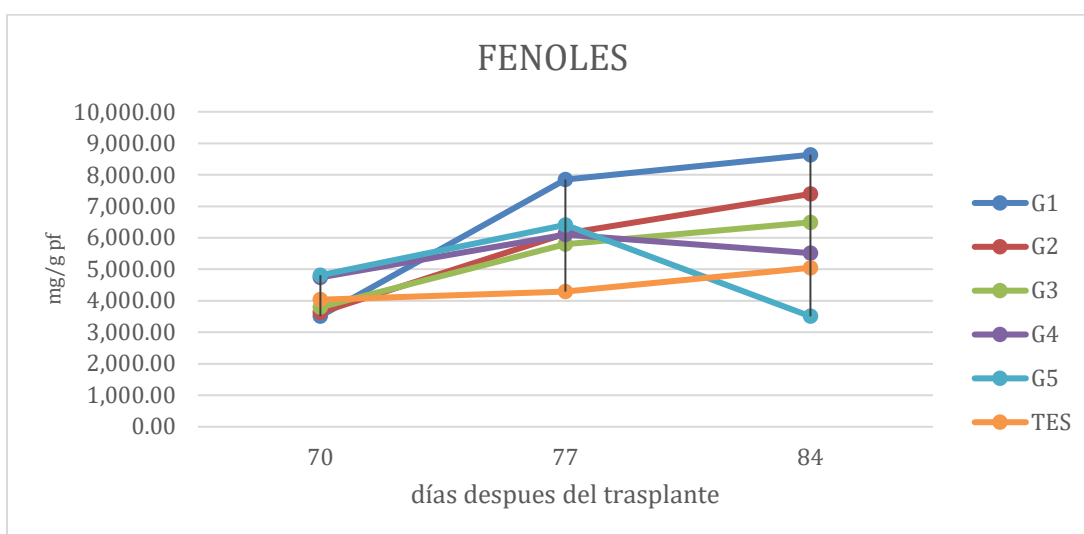


Figura 2. Contenido de los fenoles totales en función del tiempo.

3.5.2. Fenilalanina amonio liasa (PAL)

Se apreció una disminución de esta enzima a los 70 dtp, con los niveles más bajos posteriormente, con un incremento en la actividad enzimática a los 84 dtp, en donde hubo una mayor concentración de PAL en el testigo (Fig. 3). Estadísticamente se formaron 4 grupos, todos diferentes al testigo, donde este obtuvo la mayor actividad enzimática mientras que los de menor actividad fueron el grupo 4 y 5 (Cuadro 2). De manera innata los tratamientos contienen una mayor concentración de la enzima PAL lo que ayuda a mitigar las infecciones generadas por diversos patógenos, en este caso a pesar de que los tratamientos tuvieron menor actividad de PAL, los daños en estos no fueron superior al 20 % por lo tanto su elevada actividad enzimática de forma innata ayudo a eliminar el avance de la infección, esto lo corroboramos con el estudio de Mahatma *et al.*, (2019), donde midió la concentración PAL en variedades resistentes. Para el testigo se apreció la mayor concentración de PAL esto se debe a la infección de tizón tardío presente en la planta sin embargo, aunque tuvo una mayor actividad de esta enzima no pudo mitigar la infección ya que en testigo se alcanzó la mayor severidad esto se contrapone a Bahadur *et al.*, (2011) donde sustenta que una mayor actividad de la enzima PAL reduce o mitiga la infección, sin embargo en este caso el tizón tardío avanzo de forma exponencial para los testigos sin embargo en los testigo la respuesta generada fue suficiente.

Cuadro 2. Comparación de medias de la actividad de Fenilalanina amonio liasa, a 84 días dtp... (*) cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.

<i>Tratamiento</i>	<i>media</i>	<i>α^*</i>
<i>Grupo 1</i>	0.175	<i>ab</i>
<i>Grupo 2</i>	0.123	<i>bc</i>
<i>Grupo 3</i>	0.112	<i>bc</i>
<i>Grupo 4</i>	0.101	<i>c</i>
<i>Grupo 5</i>	0.077	<i>c</i>
<i>Testigo</i>	<i>0.195</i>	<i>a</i>

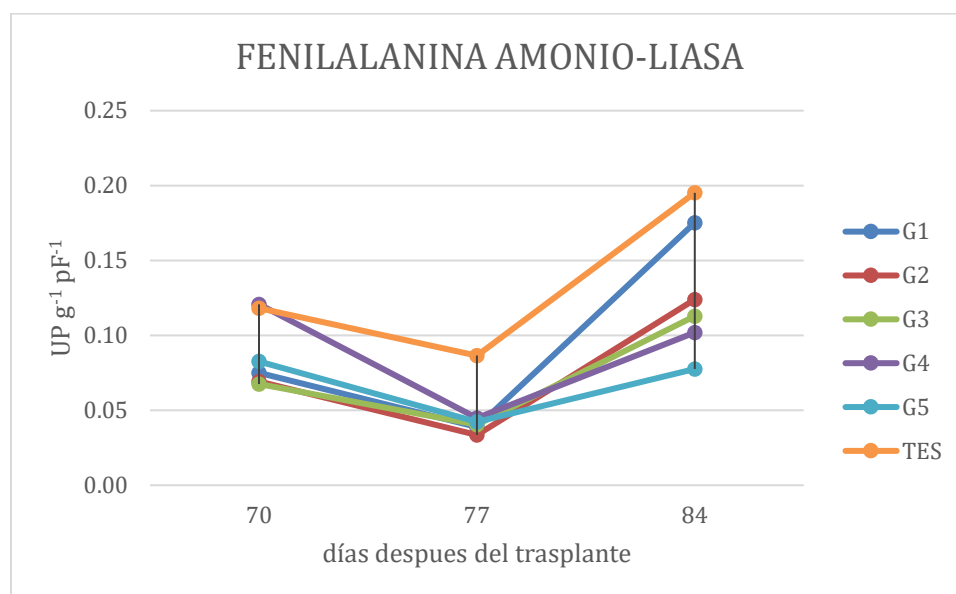


Figura 3. Actividad de la fenil alanina amonio liasa (PAL) en función del tiempo.

3.5.3. Peroxidasa (PER)

La peroxidasa actuó de manera uniforme a lo largo de las lecturas tomadas en las distintas etapas fenológicas del cultivo. Para el día 77 después del trasplante el grupo 1 tuvo una reducción en la actividad de esta enzima, mientras que el testigo la aumentó de forma significativa. Para el día 84 después del trasplante prácticamente todos los grupos presentaron una reducción en la actividad peroxidasa (figura 4). Para el análisis estadístico solo se conformaron 2 grupos estadísticamente iguales entre ellos, donde el grupo 1 y el testigo conformaron el de mayor actividad enzimática de la peroxidasa y del 2 al 5 conformaron el grupo con una menor acción de esta enzima (cuadro 3). Si el testigo sin resistencia tuvo mayor actividad de esta enzima y aun así se infectó en su totalidad, significa que esta ruta metabólica no conduce a la resistencia, porque las resistentes lo tuvieron en baja acción, aun cuando se reporta lo contrario (Liu *et al.*, 2009). Jindřichová *et al.*, (2011) demuestran que en presencia de una infección habrá un aumento significativo en la actividad peroxidasa y utilizará el peróxido de hidrogeno para reforzar la pared celular, pero en nuestro estudio el testigo se infectó en su totalidad en presencia de la enzima en mayor cantidad que en los materiales resistentes.

Cuadro 3. Comparación de medias, en la lectura de peroxidasa separada por grupos, a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.

<i>Tratamiento</i>	<i>media</i>	<i>α^*</i>
<i>Grupo 1</i>	10678	<i>a</i>
<i>Grupo 2</i>	5343	<i>b</i>
<i>Grupo 3</i>	4059	<i>b</i>
<i>Grupo 4</i>	3121	<i>b</i>
<i>Grupo 5</i>	2220	<i>b</i>
<i>Testigo</i>	9897	<i>a</i>

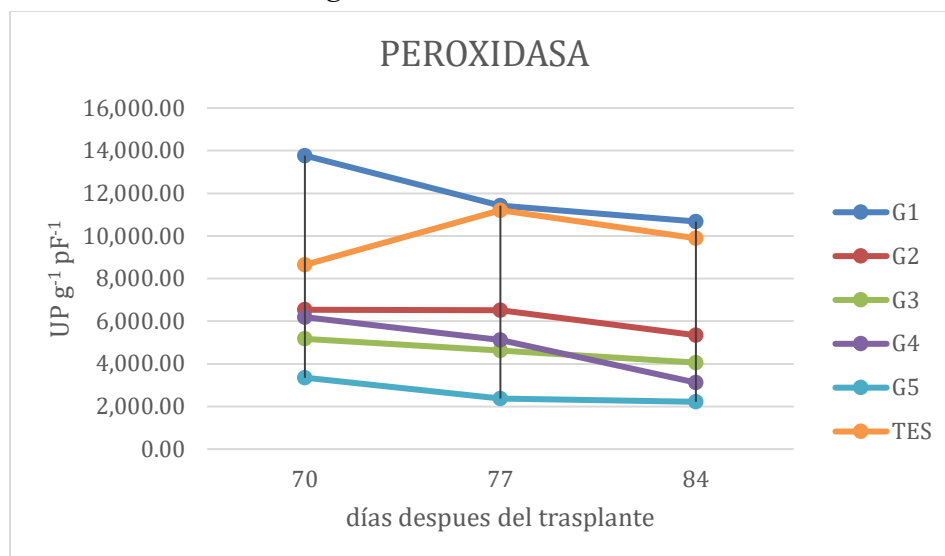


Figura 4. Actividad de peroxidasas en función del tiempo.

3.5.4. Superóxido dismutasa (SOD)

El grupo uno (más resistente) presentó un aumento en la actividad de esta enzima desde el día 70 al 84 dtp. El resto de los grupos, incluyendo al testigo, disminuyeron su actividad en el mismo período, y el testigo susceptible fue el que mayor actividad presentó del día 70 al 77 (Fig. 5). Nuevamente, si el testigo susceptible y en plena infección tuvo mayor presencia o actividad de la SOD significa que esta enzima no contribuyo en su defensa, y los grupos con menor contenido que el testigo, como el grupo 5, deberán basar su resistencia en otros mecanismos.

Para el análisis estadístico los seis grupos se conformaron con base a su relativa resistencia al patógeno del ciclo previo, coincidiendo en el orden establecido respecto a la actividad de la SOD. Así, el grupo uno fue el más resistente y con mayor actividad enzimática, mientras que el cinco fue el más susceptible entre las accesiones y con menor actividad (el grupo seis fue el testigo susceptible). Coincidentemente, terminaron en ese orden respecto a la actividad de la SOD, con diferencias estadísticas significativas entre los seis (Cuadro 4). Todos fueron diferentes entre sí, siendo los grupos 1 y 2 los de mayor actividad de esta enzima y el grupo 5 el de menor, con explicaciones de diferentes enfoques, tanto para esta enzima como para otras proteínas (Hechavarría *et al.*, 2006; Van Camp *et al.*, 1996). En otro estudio, se evidencia un aumento en la actividad SOD ante un agobio del tipo biótico o abiótico (Fernandez-Ocaña *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Comparación de medias de la actividad de la superóxido dismutasa, a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.

<i>Tratamiento</i>	<i>media</i>	<i>α^*</i>
<i>Grupo 1</i>	185.04	<i>a</i>
<i>Grupo 2</i>	127.76	<i>b</i>
<i>Grupo 3</i>	99.61	<i>bcd</i>
<i>Grupo 4</i>	74.62	<i>cd</i>
<i>Grupo 5</i>	56.13	<i>d</i>
<i>Testigo</i>	119.35	<i>bc</i>

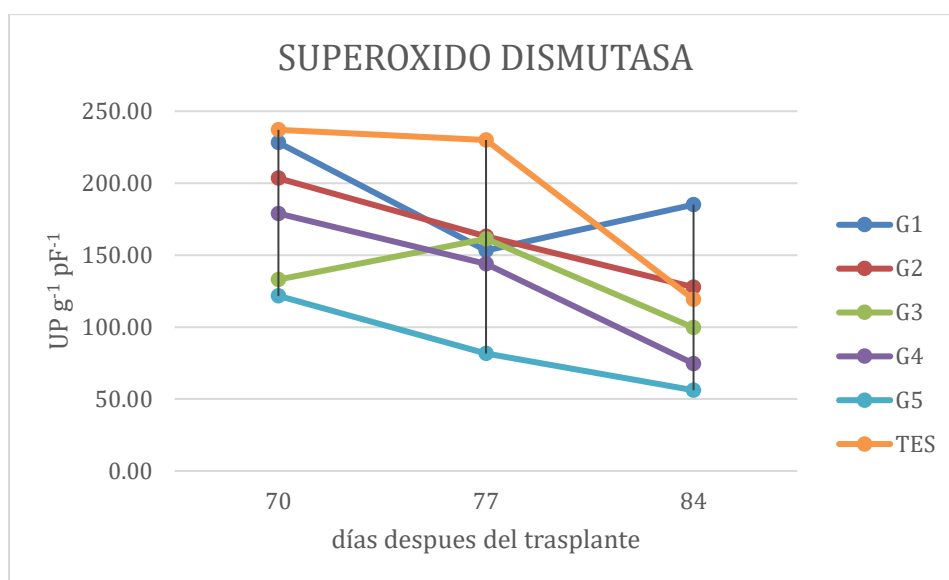


Figura 5. Actividad de superóxido dismutasa en función del tiempo.

3.5.5. Ácido salicílico

En general, hubo un ascenso en el contenido de este metabolito durante el tiempo de su cuantificación, y con excepción del grupo uno (el más resistente), el testigo susceptible fue superior en contenido del AS respecto al resto de los grupos (Fig. 6). Al comparar estos dos grupos (testigo y grupo uno) los resultados no son concluyentes, ya que ante contenidos similares un grupo (testigo) se infectó en su totalidad, mientras que el otro (grupo uno) fue casi inmune. El resto de los genotipos con menos AS que el testigo fueron resistentes, concluyendo que el AS no fue parte de su esquema de resistencia.

Al comparar las medias del contenido del AS entre los grupos al día 84 después del trasplante, el testigo solo fue superado por el grupo uno, aunque sin diferencias estadísticas significativas entre ambos, incluyendo los grupos dos y tres en esta similitud (Cuadro 5). Si se considera que el grupo uno fue constituido por los materiales más resistentes y fue el que finalmente resultó con más AS, podría explicarse dicha resistencia a la alta presencia del metabolito (Jendoubi *et al.*, 2015; Wani *et al.*, 2017), pero no explica la susceptibilidad del testigo, que igualmente tuvo alto contenido de AS.

Cuadro 5. Comparación de medias del contenido de ácido salicílico 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.

<i>Tratamiento</i>	<i>media</i>	<i>α^*</i>
<i>Grupo 1</i>	5056.3	<i>a</i>
<i>Grupo 2</i>	4279.5	<i>abc</i>
<i>Grupo 3</i>	3748.6	<i>abc</i>
<i>Grupo 4</i>	3225.2	<i>bc</i>
<i>Grupo 5</i>	2585.2	<i>c</i>
<i>Testigo</i>	4541	<i>ab</i>

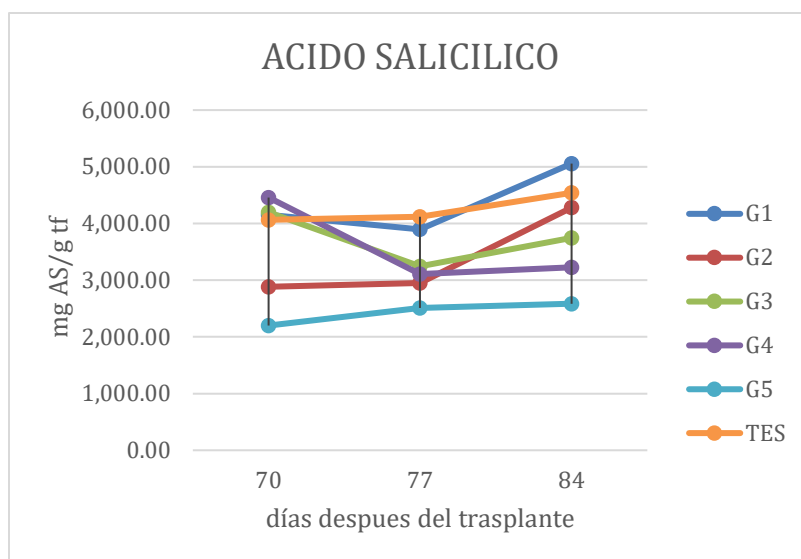


Figura 6. Contenido del ácido salicílico.

3.5.6. Catalasa (CAT)

Los contenidos de CAT si concuerdan con la hipótesis de su intervención en la resistencia de las accesiones de *S. phureja* al tizón tardío. Hubo incremento entre los días 77 y 84 en los primeros cuatro grupos de accesiones, que fueron los más resistentes, mientras que el quinto grupo, menos resistente, y el testigo, presentaron disminución y poco contenido (Fig. 7). Esto también se reflejó en la comparación de medias del día 84, pues el grupo más resistente tuvo mayor contenido de CAT, con diferencia estadística sobre el resto, mientras que el testigo y los últimos dos grupos tuvieron menos CAT sin diferencia entre ellos (Cuadro 6). La hipótesis comprobada en este caso es respaldada por estudios previos (Su *et al.*, 2014), aunque Azarabadi *et al.*, (2016) establecen que no siempre una mayor concentración de la CAT es buena para mitigar la infección.

Cuadro 6. Comparación de medias, en la lectura de catalasa a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.

<i>Tratamiento</i>	<i>media</i>	<i>α^*</i>
<i>Grupo 1</i>	7.643	<i>a</i>
<i>Grupo 2</i>	6.096	<i>b</i>
<i>Grupo 3</i>	5.199	<i>c</i>
<i>Grupo 4</i>	4.658	<i>cd</i>
<i>Grupo 5</i>	3.897	<i>d</i>
<i>Testigo</i>	4.358	<i>d</i>

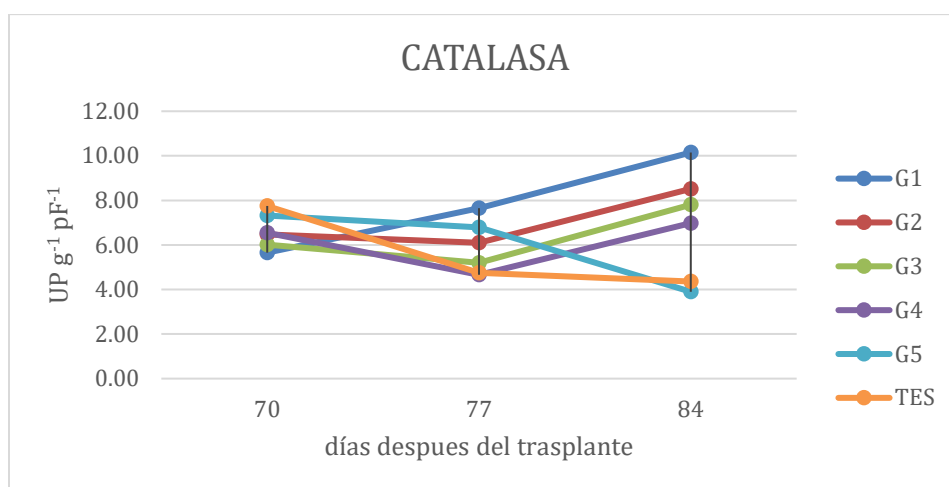


Figura 7. Contenido de catalasa en función del tiempo.

3.5.7. Polifenol oxidasa

Se registró una disminución en su actividad del día 70 al 77 después del trasplante en todos los genotipos, y un aumento posterior también generalizado (Fig. 8). Para la comparación de medial a los 84 días después del trasplante, se formaron tres grupos estadísticamente iguales entre ellos y de acuerdo con la resistencia que originalmente se consideró para su agrupamiento. Esto es, el primer grupo, más resistente y diferente al resto fue el de mayor actividad, y los grupos 3 al 5, menos resistentes, tuvieron menor acción. Una excepción a estos comportamientos lo presentó el testigo, que siendo susceptible fue el segundo en actividad (Cuadro 7). Estudios previos con comportamientos similares respaldan a los resultados obtenidos (una mayor actividad de la PPO en las hojas mejora las defensas al convertir los fenoles en compuestos tóxicos, Ma *et al.*, 2010; Kuvalekar *et al.*, 2011). En el caso del testigo susceptible e infectado, pero con alta actividad de la PPO, es probable que la falta de resistencia no solo radique en la PPO, sino también en otros componentes de resistencia.

Cuadro 7. Comparación de medias, en la lectura de polifenol oxidasa separada por grupos, a 84 días después del trasplante... (*) Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales.

<i>Tratamiento</i>	<i>media</i>	<i>α^*</i>
<i>Grupo 1</i>	513.16	<i>a</i>
<i>Grupo 2</i>	413.92	<i>b</i>
<i>Grupo 3</i>	358.89	<i>bc</i>
<i>Grupo 4</i>	325.78	<i>bc</i>
<i>Grupo 5</i>	268.16	<i>c</i>
<i>Testigo</i>	406.02	<i>b</i>

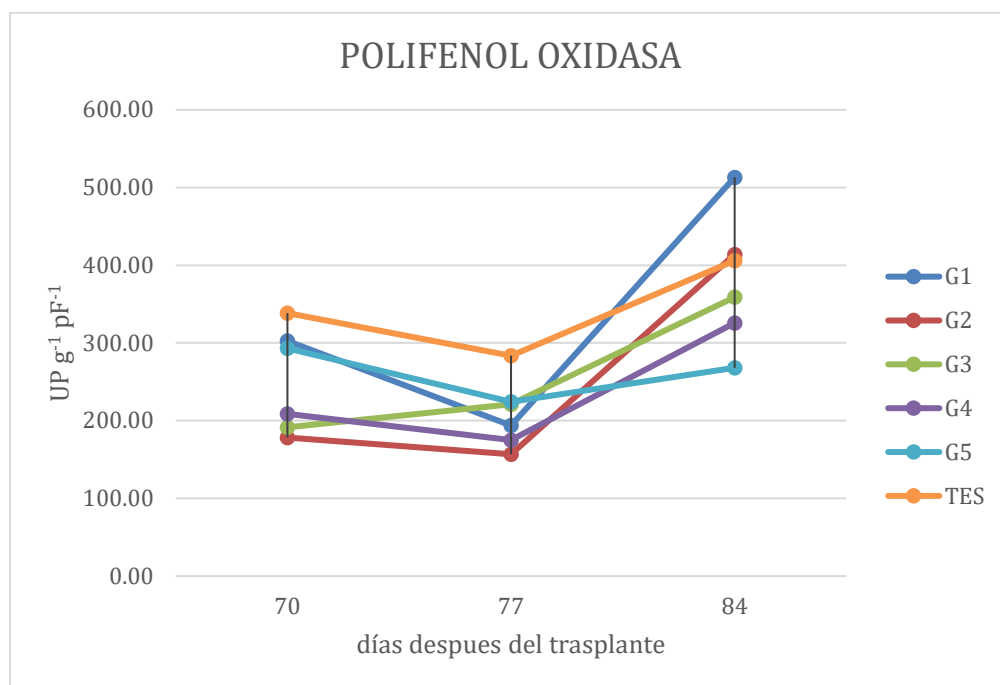


Figura 8. Actividad de la polifenol oxidasa en función del tiempo.

3.5.8. Correlaciones enzimáticas

Los coeficientes de correlación indican que tan cercana es la acción de dos de los metabolitos incluidos en el presente estudio, ya sea sinérgica, positiva, aditiva, o negativa en la posible obstrucción de una acción sobre otra. Los valores de correlación fueron relativamente altos y las combinaciones fueron diversas, aunque mayormente positivas (Cuadro 8). Las negativas más frecuentes fueron FEN/SOD, FEN/PER, PER/CAT, PER/POX, PER/SOD y SOD/AS. Entre las positivas resaltan POX/PAL, POX/AS, POX/CAT y CAT/PAL. En ambos casos, se puede buscar la explicación en las rutas metabólicas de síntesis/degradación entre ellas, sin un patrón definido de comportamiento.

3.5.9. Discusión

La colección de accesiones incluidas en el presente estudio es el resultado de años de selección por investigadores-fitomejoradores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica (ARS, USDA), pero no se habían probado bajo condiciones de infección natural en el valle de Toluca, México. La comprobación de su resistencia al oomiceto demostró lo acertado de la selección en la mayoría de las veces (Díaz-García *et al.*, 2023).

Considerando que las accesiones corresponden a una misma especie, se esperaría un comportamiento similar entre ellas, pero no fue así. Cuando el contenido o actividad del metabolito cuantificado en genotipos resistentes supera al del testigo susceptible, como fue en los casos de fenoles y catalasa, significa que dicho compuesto es necesario para la resistencia en relación directa entre resistencia y presencia/actividad. Cuando no es así, y el contenido es igual o mayor en los testigos susceptibles con respecto a los resistentes, es indicación que ese metabolito no está jugando un papel de resistencia, de manera que los genotipos resistentes basan su defensa en otras rutas metabólicas, como fueron los casos del resto de las sustancias estudiadas.

En los casos de fenoles y catalasa, sus contenidos y presencia presentaron una relación como se esperaba. Esto es, a más contenido/actividad correspondió a

más resistencia entre accesiones. Si hay concordancia con la hipótesis de su intervención en la resistencia.

Respecto a las correlaciones, tratándose de fenómenos biológicos es difícil adjudicar algún efecto o consecuencia a un solo factor, que se demuestra con los resultados del presente estudio, en donde las correlaciones negativas implican obstrucción del efecto de un metabolito con respecto a otro, mientras que las positivas serían acciones sinérgicas o aditivas entre las sustancias enfrentadas, y como se aprecia, hubo de todo sin claridad de interacciones, que en algunos casos se podrían explicar en función de las rutas metabólicas en donde algunas de ellas son precursoras de otras o de acciones complementarias, como el AS y la PAL, o entre la SOD y la CAT, o entre FEN y POX.

3.5.10. Conclusiones

- Se comprueba la resistencia de *Solanum phureja* al tizón tardío de la papa.
- La resistencia exhibida no se puede explicar en patrones uniformes de síntesis/degradación de los metabolitos para todos los genotipos.
- La catalasa y los fenoles totales fueron los metabolitos que guardaron una relación positiva directa de síntesis/actividad con la resistencia, con menor acción en los testigos susceptibles.
- La interacción positiva POX/PAL fue la más frecuente, seguida de POX/AS y CAT/PAL.

Cuadro 8. Correlaciones enzimáticas.

Grupo	Variables	Correlación	Clasificación
G1	FEN - PER	-0.996	Muy fuerte negativa
G1	FEN - SOD	-0.990	Muy fuerte negativa
G1	PER - SOD	0.973	Muy fuerte
G1	POX - AS	0.992	Muy fuerte
G1	POX - PAL	0.997	Muy fuerte
G1	CAT - PEROXI	-0.937	Muy fuerte negativa
G1	CAT - SOD	-0.831	Fuerte negativa
G1	CAT - AS	0.784	Fuerte
G1	CAT - PAL	0.754	Fuerte
G1	AC - PAL	0.999	Muy fuerte
G2	FEN - PEROXI	-0.770	Fuerte negativa
G2	FEN - SOD	-0.944	Muy fuerte negativa
G2	PEROXI - POX	-0.995	Muy fuerte negativa
G2	PEROXI - CAT	-0.987	Muy fuerte negativa
G2	PEROXI - AS	-0.9998	Muy fuerte negativa
G2	PEROXI - PAL	-0.912	Muy fuerte negativa
G2	POX - CAT	0.998	Muy fuerte
G2	POX - AS	0.993	Muy fuerte
G2	POX - PAL	0.947	Muy fuerte
G2	CAT - AS	0.983	Muy fuerte
G2	CAT - PAL	0.966	Muy fuerte
G2	AS - PAL	0.902	Muy fuerte
G3	FEN - PEROXI	-0.962	Muy fuerte negativa
G3	FEN - SOD	0.969	Muy fuerte
G3	PEROXI - POX	-0.939	Muy fuerte negativa
G3	POX - CAT	0.887	Fuerte
G3	POX - PAL	0.854	Fuerte
G3	CAT - PAL	0.998	Muy fuerte
G4	FEN - CAT	-0.715	Fuerte negativa
G4	FEN - SOD	-0.901	Muy fuerte negativa
G4	FEN - AS	-0.932	Muy fuerte negativa
G4	FEN - PAL	-0.937	Muy fuerte negativa
G4	PEROXI - POX	-0.846	Fuerte negativa
G4	POX - CAT	0.791	Fuerte
G4	CAT - PAL	0.914	Muy fuerte
G4	SOD - AS	0.997	Muy fuerte
G5	FEN - PAL	-0.838	Fuerte negativa
G5	PEROXI - SOD	0.992	Muy fuerte
G5	PEROXI - AS	-0.999	Muy fuerte negativa
G5	POX - PAL	0.968	Muy fuerte
Testigo	FEN - CAT	-0.771	Fuerte negativa
Testigo	FEN - AS	0.990	Muy fuerte
Testigo	FEN - PAL	0.858	Fuerte
Testigo	POX - AS	0.842	Fuerte
Testigo	POX - PAL	0.985	Muy fuerte
Testigo	CAT - SOD	0.994	Muy fuerte
Testigo	AS - PAL	0.923	Muy fuerte

3.6. LITERATURA CITADA

- Alia-Tejacal, I., Colinas-León, M. T., Martínez-Damián, M. T., & Soto-Hernández, M. R. (2002). Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq.) durante poscosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 8(2), 263–271. <https://www.researchgate.net/publication/285691070>.
- Awan, Z. A., Shoaib, A., & Kashif Aziz Khan. (2018). Variations in total phenolics and antioxidant enzymes cause phenotypic variability and differential resistant response in tomato genotypes against early blight disease. *Scientia Horticulturae*, 239, 216–223. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.044>.
- Azarabadi, S., Abdollahi, H., Torabi, M., Salehi, Z., & Nasiri, J. (2016). ROS generation, oxidative burst and dynamic expression profiles of ROS-scavenging enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in response to *Erwinia amylovora* in pear (*Pyrus communis* L). *European Journal of Plant Pathology*, 147(2), 279–294. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1000-0>.
- Bahadur, A., Singh, D. P., Sarma, B. K., & Singh, U. P. (2011). Foliar application of L-phenylalanine and ferulic acids to pea plants: Induced phenylalanine ammonia lyase activity and resistance against *Erysiphe pisi*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(4), 398–403. <https://doi.org/10.1080/03235408.2011.587963>.
- Beyer, W. F., Jr., & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161(2), 559–566. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90489-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1).

- Blackwell, R. D., Murray, A. J., & Lea, P. J. (1990). Enzymes of the photorespiratory carbon pathway. In P. M. Dey & J. B. Harborne (Eds.), *Methods in plant biochemistry* (Vol. 3, pp. 129–144). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-461013-2.50015-0>.
- Demissie, Y. T. (2019). Integrated potato (*Solanum tuberosum* L.) late blight (*Phytophthora infestans*) disease management in Ethiopia. *American Journal of BioScience*, 7(6), 123–130. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20190706.16>.
- Díaz-García, G., Enciso-Maldonado, G. A., & Lozoya-Saldaña, H. (2023, March). Resistencia al tizón tardío en accesiones *Solanum phureja* en el Valle de Toluca, México [Paper presentation]. XXIX Congreso Latinoamericano de la Papa, Puerto Varas, Chile. <https://www.researchgate.net/publication/369889997>.
- Fernández-Ocaña, A., Chaki, M., Luque, F., Gómez-Rodríguez, M. V., Carreras, A., Valderrama, R., Begara-Morales, J. C., Hernández, L. E., Corpas, F. J., & Barroso, J. B. (2011). Functional analysis of superoxide dismutases (SODs) in sunflower under biotic and abiotic stress conditions. Identification of two new genes of mitochondrial Mn-SOD. *Journal of Plant Physiology*, 168(11), 1303–1308. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.01.020>.
- Flukey, W. H., & Jen, J. J. (1978). Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science*, 43(6), 1828–1831. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb07424.x>.
- Hechavarría, M. L. O., Arencibia-Rodríguez, A., López Lee, R., Acevedo-Rojas, R., León Díaz, O., & Rodríguez Lema, E. (2006). Proteínas relacionadas con la defensa en la interacción *Sporisorium scitamineum* - caña de azúcar. *Agronomía Mesoamericana*, 18(2), 197–203. <https://doi.org/10.15517/am.v18i2.5050>.

- Henfling, J. W. (1987). Late blight of potato (Vol. 4). International Potato Center.
https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=mVr5w1p_vkkC&oi=fnd&pg=PA1&ots=mL7M5TJ1qY&sig=JhttfyAEm4zP8Yao0ZwjLRI314&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false.
- Jendoubi, W., Harbaoui, K., & Hamada, W. (2015). Salicylic acid-induced resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* in hydroponic grown tomato plants. *Journal of New Sciences*, 21.
<https://www.jnsciences.org/component/content/article.html?id=103:salicylic-acid-induced-resistance-against-fusarium-oxysporumf-s-pradicis-lycopercisi-in-hydroponic-grown-tomato-plants>.
- Jindřichová, B., Fodor, J., Šindelářová, M., Burketová, L., & Valentová, O. (2011). Role of hydrogen peroxide and antioxidant enzymes in the interaction between a hemibiotrophic fungal pathogen, *Leptosphaeria maculans*, and oilseed rape. *Environmental and Experimental Botany*, 72(2), 149–156.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.018>
- Kuvalekar, A., Redkar, A., Gandhe, K., & Harsulkar, A. (2011). Peroxidase and polyphenol oxidase activities in compatible host-pathogen interaction in *Jasminum officinale* and *Uromyces hobsoni*: Insights into susceptibility of host. *New Zealand Journal of Botany*, 49(3), 351–359.
<https://doi.org/10.1080/0028825x.2011.569727>.
- Lamikanra, O. (1995). Enzymatic browning of Muscadine grapes products. In C. Y. Lee & J. R. Whitaker (Eds.), *Enzymatic browning and its prevention* (pp. 166–177). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0600.ch013>.
- Li, T., Huang, Y., Xu, Z., Wang, F., & Xiong, A. (2019). Salicylic acid-induced differential resistance to the Tomato yellow leaf curl virus among resistant and susceptible tomato cultivars. *BMC Plant Biology*, 19(1), Article 173.
<https://doi.org/10.1186/s12870-019-1784-0>

- Liu, X., Williams, C. E., Nemacheck, J. A., Wang, H., Subramanyam, S., Zheng, C., & Chen, M. (2010). Reactive oxygen species are involved in plant defense against a gall midge. *Plant Physiology*, 152(2), 985–999. <https://doi.org/10.1104/pp.109.150656>.
- Ma, R., Chen, J., Cheng, D., & Sun, J. (2010). Activation of defense mechanism in wheat by polyphenol oxidase from aphid saliva. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4), 2410–2418. <https://doi.org/10.1021/jf9037248>
- Mahatma, M. K., Thawait, L. K., Jadon, K. S., Rathod, K. J., Sodha, K. H., Bishi, S. K., ... & Golakiya, B. A. (2019). Distinguish metabolic profiles and defense enzymes in *Alternaria* leaf blight resistant and susceptible genotypes of groundnut. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(6), 1395–1405. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00708-x>.
- Martínez-Téllez, M. A., & Lafuente, M. T. (1997). Effect of high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled Fortune mandarin fruit. *Journal of Plant Physiology*, 150(6), 674–678. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(97\)80282-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80282-9).
- Mhatre, P. H., Lekshmanan, D. K., Palanisamy, V. E., Bairwa, A., & Sharma, S. (2020). Management of the late blight (*Phytophthora infestans*) disease of potato in the southern hills of India. *Journal of Phytopathology*, 169(1), 52–61. <https://doi.org/10.1111/jph.12958>.
- Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Jakopic, J., Cunja, V., Veberic, R., Munda, A., & Stampar, F. (2013). Phenolic compounds as defence response of pepper fruits to *Colletotrichum coccodes*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 84, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2013.09.003>

- Miranda, M. B., Gómez-Alpízar, L., & Brenes, A. (2005). Resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en materiales promisorios de papa en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 29(3), 31–45. <https://www.researchgate.net/publication/237516157>.
- Su, Y., Guo, J., Ling, H., Chen, S., Wang, S., Xu, L., Allan, A. C., & Que, Y. (2014). Isolation of a novel peroxisomal catalase gene from sugarcane, which is responsive to biotic and abiotic stresses. *PLoS ONE*, 9(1), e84426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084426>.
- Tiwari, I., Shah, K. K., Tripathi, S., Modi, B., Subedi, S., & Shrestha, J. (2021). Late blight of potato and its management through the application of different fungicides and organic amendments: A review. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 4(1), 301–320. <https://doi.org/10.3126/janr.v4i1.33374>.
- Van Camp, W., Capiou, K., Van Montagu, M., Inzé, D., & Sloaten, L. (1996). Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts. *Plant Physiology*, 112(4), 1703–1714. <https://doi.org/10.1104/pp.112.4.1703>.

- Vásquez-Castillo, W., Rivadeneira, A. S., Ruales, J. R., & Cuesta-Subía, X. (2022). Resistencia genética como estrategia para el control de *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum*). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23(2), Article 2292. https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num2_art:2292.
- Wani, A. B., Chadar, H., Wani, A. H., Singh, S., & Upadhyay, N. (2017). Salicylic acid to decrease plant stress. *Environmental Chemistry Letters*, 15(1), 101-123. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0584-0>.
- Warrier, R. R., Paul, M., & Vineetha, M. V. (2013). Estimation of salicylic acid in eucalyptus leaves using spectrophotometric methods. *Genetics and Plant Physiology*, 3(1-2), 90-97. <https://www.researchgate.net/publication/279819825>.
- Waterman, P. G., & Mole, S. (1994). *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publications.

APÉNDICES

APENDICE 1. COMPARACION DE MEDIAS

Cuadro 9. Lectura de enzimas

tratamientos	FEN	PEROX	POX	CAT	SOD	PAL	AC
g1	9,336.46	16,915.60	588.18	8.34930082	245.023342	0.22661169	5,633.37
g1	8,680.28	10,854.58	542.63	8.03040899	193.97948	0.16998649	5,033.53
g1	8,765.97	10,732.87	507.56	7.81359609	178.935376	0.17826042	5,031.27
g1	8,243.94	8,029.37	482.95	7.04447398	161.303813	0.15805615	4,869.74
g1	8,155.39	6,856.68	444.46	6.98001377	145.96258	0.14317785	4,713.79
g2	7,813.72	6,370.91	433.48	6.60123771	134.515673	0.13205019	4,499.95
g2	7,619.37	6,171.22	433.35	6.49745536	133.828039	0.12441829	4,400.02
g2	7,191.00	5,095.20	430.64	6.24909983	132.896004	0.12310072	4,296.71
g2	7,181.46	4,550.49	388.99	5.64165242	124.24347	0.12175015	4,125.07
g2	7,152.16	4,525.28	383.13	5.49425398	113.307346	0.11861029	4,075.85
g3	6,760.55	4,335.91	381.86	5.44664125	112.462729	0.11819704	3,921.97
g3	6,670.72	4,188.85	371.43	5.33023071	100.980198	0.11360981	3,893.68
g3	6,386.94	4,145.59	361.44	5.19293734	98.80424	0.11136214	3,778.69
g3	6,335.66	3,940.72	340.38	5.03994271	95.3788687	0.11093096	3,718.84
g3	6,302.03	3,684.79	339.32	4.98719448	90.4278481	0.11025571	3,429.67
g4	6,060.89	3,411.99	336.04	4.94122277	84.1896863	0.10878769	3,343.15
g4	5,321.47	3,287.40	328.08	4.82753297	81.8989179	0.105671	3,313.85
g4	5,309.29	3,119.42	325.19	4.63585513	70.0878301	0.10359956	3,173.04
g4	5,277.32	3,071.90	320.41	4.44439516	68.5793505	0.09844604	3,148.19
g4	5,581.88	2,714.22	319.16	4.44342245	68.3409658	0.09270025	3,147.65
g5	5,459.03	2,675.42	315.63	4.31555482	66.2403048	0.09049422	2,949.13
g5	4,831.56	2,520.30	302.13	4.23093768	60.5945261	0.0895166	2,891.85
g5	4,509.87	2,360.47	263.90	4.02346861	59.4407982	0.08907484	2,803.51
g5	3,322.16	2,226.99	253.00	3.87047278	55.3863582	0.08360686	2,712.96
g5	2,347.84	2,147.88	258.38	3.76285037	53.902277	0.08188727	2,509.45
g5	2,181.27	1,992.73	244.31	3.70131284	49.8780096	0.08147024	2,192.49
tes	1,892.98	1,616.53	239.79	3.37846907	47.488777	0.02761248	2,036.66
tes	4,666.18	12,565.19	534.08	4.54421678	189.53	0.3057	7,862.51
tes	6,010.03	11,637.86	265.60	4.27937773	60.87	0.1859	2,199.98
tes	4,469.51	5,487.61	418.39	4.25115036	107.64	0.0939	3,560.45

Cuadro 10. Entrada de SAS para comparación de medias

dm 'log; clear; output; clear';						
options ps=500 ls=78 nodate nonumber;						
ods graphics off;						
data Actividad;						
input Trat \$ FEN PEROX POX CAT SOD PAL AC;						
datalines;						
g1	9336.46	16915.60	588.18	8.349300817	245.0233424	0.226611692 5633.37
g1	8680.28	10854.58	542.63	8.03040899	193.9794801	0.169986489 5033.53
g1	8765.97	10732.87	507.56	7.813596085	178.9353763	0.178260422 5031.27
g1	8243.94	8029.37	482.95	7.04447398	161.3038134	0.158056154 4869.74
g1	8155.39	6856.68	444.46	6.980013767	145.96258	0.143177853 4713.79
g2	7813.72	6370.91	433.48	6.60123771	134.5156734	0.132050187 4499.95
g2	7619.37	6171.22	433.35	6.497455358	133.8280386	0.124418293 4400.02
g2	7191.00	5095.20	430.64	6.249099826	132.8960037	0.123100724 4296.71
g2	7181.46	4550.49	388.99	5.641652421	124.2434699	0.121750145 4125.07
g2	7152.16	4525.28	383.13	5.494253977	113.3073459	0.11861029 4075.85
g3	6760.55	4335.91	381.86	5.446641253	112.4627285	0.118197037 3921.97
g3	6670.72	4188.85	371.43	5.330230712	100.9801981	0.113609806 3893.68
g3	6386.94	4145.59	361.44	5.19293734	98.80424003	0.111362139 3778.69
g3	6335.66	3940.72	340.38	5.039942711	95.37886867	0.11093096 3718.84
g3	6302.03	3684.79	339.32	4.987194477	90.42784809	0.110255709 3429.67
g4	6060.89	3411.99	336.04	4.941222767	84.18968632	0.108787689 3343.15
g4	5321.47	3287.40	328.08	4.827532969	81.89891788	0.105670998 3313.85
g4	5309.29	3119.42	325.19	4.635855131	70.08783007	0.103599555 3173.04
g4	5277.32	3071.90	320.41	4.444395159	68.57935053	0.098446043 3148.19
g4	5581.88	2714.22	319.16	4.443422445	68.34096577	0.092700254 3147.65
g5	5459.03	2675.42	315.63	4.315554821	66.24030477	0.090494222 2949.13
g5	4831.56	2520.30	302.13	4.23093768	60.59452612	0.089516604 2891.85
g5	4509.87	2360.47	263.90	4.023468606	59.44079819	0.089074835 2803.51

g5	3322.16 0.083606859	2226.99 2712.96	253.00	3.870472783	55.38635823	
g5	2347.84 0.081887269	2147.88 2509.45	258.38	3.762850372	53.90227702	
g5	2181.27 0.081470235	1992.73 2192.49	244.31	3.701312839	49.87800958	
g5	1892.98 0.027612477	1616.53 2036.66	239.79	3.378469074	47.488777	
tes	4666.18 0.3057	12565.19 7862.51	534.08	4.544216782	189.53	
tes	6010.03 2199.98	11637.86	265.60	4.279377732	60.87	0.1859
tes	4469.51 0.0939	5487.61 3560.45	418.39	4.251150362	107.64	
;						
* Análisis para cada variable;						
%macro analizar(variable);						
title "Análisis de Varianza para &variable";						
proc glm data=Actividad;						
class Trat;						
model &variable = Trat / ss3;						
means Trat / tukey alpha=0.05 lines;						
run;						
%mend;						
%analizar(FEN);						
%analizar(PEROX);						
%analizar(POX);						
%analizar(CAT);						
%analizar(SOD);						
%analizar(PAL);						
%analizar(AC);						

Cuadro 11. Salida de SAS para comparación de medias

Análisis de Varianza para FEN						
Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
Trat	6	g1	g2	g3	g4	g5 tes
Número de observaciones leídas						
30						
Número de observaciones usadas						
30						
Análisis de Varianza para FEN						
Procedimiento GLM						

C						
D	C	5048.6	3	tes		
D						
D		3506.4	7	g5		
Análisis de Varianza para PEROX						
Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
Trat	6	g1	g2	g3	g4	g5 tes
Número de observaciones leídas					30	
Número de observaciones usadas					30	
Análisis de Varianza para PEROX						
Procedimiento GLM						
Dependent Variable: PEROX						
		Suma de	Cuadrado de			
Origen	DF	cuadrados	la media	Valor F	Pr > F	
Modelo	5	305683178.6	61136635.7	15.52	<.0001	
Error	24	94526519.0	3938605.0			
Total corregido	29	400209697.6				
R-cuadrado	Var Coef.	Raíz MSE		PEROX Mean		
0.763808	36.92631	1984.592		5374.466		
		Cuadrado de				
Origen	DF	Tipo III SS	la media	Valor F	Pr > F	
Trat	5	305683178.6	61136635.7	15.52	<.0001	
Análisis de Varianza para PEROX						
Procedimiento GLM						
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PEROX						
NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it						
generally has a higher Type II error rate than REGWQ.						

Alpha	0.05					
Grados de error de libertad	24					
Error de cuadrado medio	3938605					
Valor crítico del rango estudentizado	4.37265					
Diferencia significativa mínima	4002.2					
Media armónica de tamaño de celdas	4.701493					
NOTE: Cell sizes are not equal.						
Las medias con la misma letra no tienen diferencias significativas.						
Tukey Agrupamiento	Media	N	Trat			
A	10678	5	g1			
A						
A	9897	3	tes			
B	5343	5	g2			
B						
B	4059	5	g3			
B						
B	3121	5	g4			
B						
B	2220	7	g5			
Análisis de Varianza para POX						
Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
Trat	6	g1 g2 g3 g4 g5 tes				
Número de observaciones leídas						
30						
Número de observaciones usadas						
30						
Análisis de Varianza para POX						
Procedimiento GLM						
Dependent Variable: POX						
Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F	
Modelo	5	198900.4340	39780.0868	16.53	<.0001	
Error	24	57764.7476	2406.8645			
Total corregido	29	256665.1817				

R-cuadrado		Var Coef.		Raíz MSE	
POX		Mean			
0.774941		13.19534		49.05981	
371.7963					
Cuadrado de					
Origen	DF	Tipo III SS	la media	Valor F	Pr > F
Trat	5	198900.4340	39780.0868	16.53	<.0001
Análisis de Varianza para POX					
Procedimiento GLM					
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para POX					
NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.					
Alpha		0.05			
Grados de error de libertad		24			
Error de cuadrado medio		2406.864			
Valor crítico del rango estudentizado		4.37265			
Diferencia significativa mínima		98.936			
Media armónica de tamaño de celdas		4.701493			
NOTE: Cell sizes are not equal.					
Las medias con la misma letra no tienen diferencias significativas.					
Tukey Agrupamiento		Media	N	Trat	
A		513.16	5	g1	
B		413.92	5	g2	
B					
B		406.02	3	tes	
B					
C	B	358.89	5	g3	
C	B				
C	B	325.78	5	g4	
C					
C		268.16	7	g5	
Análisis de Varianza para CAT					
Procedimiento GLM					
Información del nivel de clase					

Clase	Niveles	Valores			
Trat	6	g1	g2	g3	g4 g5 tes
Número de observaciones leídas					
30					
Número de observaciones usadas					
30					
Análisis de Varianza para CAT					
Procedimiento GLM					
Dependent Variable: CAT					
Suma de Cuadrado de					
Origen	DF	cuadrados	la media	Valor F	Pr > F
Modelo	5	49.15762903	9.83152581	67.13	<.0001
Error	24	3.51492824	0.14645534		
Total corregido	29	52.67255726			
R-cuadrado Var Coef. Raíz MSE CAT Mean					
0.933268 7.250357 0.382695 5.278289					
Cuadrado de					
Origen	DF	Tipo III SS	la media	Valor F	Pr > F
Trat	5	49.15762903	9.83152581	67.13	<.0001
Análisis de Varianza para CAT					
Procedimiento GLM					
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CAT					
NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.					
Alpha					
0.05					
Grados de error de libertad					
24					
Error de cuadrado medio					
0.146455					
Valor crítico del rango estudentizado					
4.37265					
Diferencia significativa mínima					
0.7718					
Media armónica de tamaño de celdas					
4.701493					
NOTE: Cell sizes are not equal.					
Las medias con la misma letra no tienen diferencias significativas.					

Tukey Agrupamiento		Media		N		Trat			
A		7.6436		5		g1			
B		6.0967		5		g2			
C		5.1994		5		g3			
C									
D C		4.6585		5		g4			
D									
D		4.3582		3		tes			
D									
D		3.8976		7		g5			
Análisis de Varianza para SOD									
Procedimiento GLM									
Información del nivel de clase									
Clase		Niveles		Valores					
Trat		6		g1 g2 g3 g4 g5		tes			
Número de observaciones leídas						30			
Número de observaciones usadas						30			
Análisis de Varianza para SOD									
Procedimiento GLM									
Dependent Variable: SOD									
		Suma de		Cuadrado de					
Origen	DF	cuadrados		la media		Valor F	Pr > F		
Modelo	5	56672.41880		11334.48376		17.69	<.0001		
Error	24	15381.32117		640.88838					
Total corregido	29	72053.73997							
R-cuadrado		Var Coef.		Raíz MSE		SOD Mean			
0.786530		23.83695		25.31577		106.2039			
				Cuadrado de					
Origen	DF	Tipo III SS		la media		Valor F	Pr > F		
Trat	5	56672.41880		11334.48376		17.69	<.0001		

Análisis de Varianza para SOD									
Procedimiento GLM									
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para SOD									
NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.									
Alpha		0.05							
Grados de error de libertad		24							
Error de cuadrado medio		640.8884							
Valor crítico del rango estudentizado		4.37265							
Diferencia significativa mínima		51.053							
Media armónica de tamaño de celdas		4.701493							
NOTE: Cell sizes are not equal.									
Las medias con la misma letra no tienen diferencias significativas.									
Tukey Agrupamiento		Media		N		Trat			
A		185.04		5		g1			
B		127.76		5		g2			
B									
C B		119.35		3		tes			
C B									
C B D		99.61		5		g3			
C D									
C D		74.62		5		g4			
D									
D		56.13		7		g5			
Análisis de Varianza para PAL									
Procedimiento GLM									
Información del nivel de clase									
Clase		Niveles		Valores					
Trat		6		g1 g2 g3 g4 g5 tes					
Número de observaciones leídas		30							
Número de observaciones usadas		30							
Análisis de Varianza para PAL									
Procedimiento GLM									

C
C 0.10184 5 g4
C
C 0.07767 7 g5
Análisis de Varianza para AC
Procedimiento GLM
Información del nivel de clase
Clase Niveles Valores
Trat 6 g1 g2 g3 g4 g5 tes
Número de observaciones leídas 30
Número de observaciones usadas 30
Análisis de Varianza para AC
Procedimiento GLM
Dependent Variable: AC
Suma de Cuadrado de
Origen DF cuadrados la media Valor F Pr > F
Modelo 5 22667255.59 4533451.12 5.72 0.0013
Error 24 19031660.97 792985.87
Total corregido 29 41698916.56
R-cuadrado Var Coef. Raíz MSE AC Mean
0.543593 23.58579 890.4975 3775.567
Cuadrado de
Origen DF Tipo III SS la media Valor F Pr > F
Trat 5 22667255.59 4533451.12 5.72 0.0013
Análisis de Varianza para AC
Procedimiento GLM
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para AC
NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	24
Error de cuadrado medio	792985.9
Valor crítico del rango estudentizado	4.37265
Diferencia significativa mínima	1795.8
Media armónica de tamaño de celdas	4.701493
NOTE: Cell sizes are not equal.	
Las medias con la misma letra no tienen diferencias significativas.	
Tukey Agrupamiento	
Media	N
Trat	
A	5056.3
5	g1
A	
B A	4541.0
3	tes
B A	
B A C	4279.5
5	g2
B A C	
B A C	3748.6
5	g3
B C	
B C	3225.2
5	g4
C	
C	2585.2
7	g5

APENDICE 2. CORRELACIONES

Cuadro 12. Salida de SAS correlaciones enzimáticas

Salida sas correlacion								
Sistema SAS			G		1			
Procedimiento CORR								
7 Variables:		FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC	PAL
Coeficientes de correlación Pearson, N = 3								
Prob > r suponiendo H0: Rho=0								
		FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC	
PAL								
FEN	1.00000	-0.80811	-0.37529	-0.16199	-0.95300	-0.99088		
-0.87910		0.4010	0.7551	0.8964	0.1960	0.0860		
0.3163								
PEROXI	-0.80811	1.00000	-0.24271	-0.45036	0.94859	0.72137		
0.42965								
	0.4010		0.8439	0.7026	0.2050	0.4870		
0.7173								

0.5054	0.6354	0.9119	0.6599		0.5678	0.4366
SOD	-0.99438	0.68424	-0.35008	0.62790	1.00000	-0.00700
-0.11471						
0.9268	0.0676	0.5203	0.7723	0.5678		0.9955
AC	0.11288	-0.73403	0.93915	0.77388	-0.00700	1.00000
0.99418						
0.0687	0.9280	0.4753	0.2232	0.4366	0.9955	
PAL	0.21928	-0.80293	0.97069	0.70113	-0.11471	0.99418
1.00000						
	0.8593	0.4065	0.1545	0.5054	0.9268	0.0687
Sistema SAS G 3						
Procedimiento CORR						
7 Variables: FEN PEROXI POX CAT SOD AC PAL						
Coeficientes de correlación Pearson, N = 3						
Prob > r suponiendo H0: Rho=0						
PAL	FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC
FEN	1.00000	-0.97958	0.53554	-0.64799	-0.98947	-0.33446
-0.22034		0.1289	0.6402	0.5512	0.0925	0.7829
0.8586						
PEROXI	-0.97958	1.00000	-0.69441	0.48161	0.94015	0.13814
0.01971						
0.9875	0.1289		0.5113	0.6801	0.2214	0.9118
POX	0.53554	-0.69441	1.00000	0.29619	-0.40766	0.61676
0.70576						
0.5012	0.6402	0.5113		0.8086	0.7327	0.5769
CAT	-0.64799	0.48161	0.29619	1.00000	0.75142	0.93451
0.88570						
0.3074	0.5512	0.6801	0.8086		0.4587	0.2317
SOD	-0.98947	0.94015	-0.40766	0.75142	1.00000	0.46735
0.35921						
0.7661	0.0925	0.2214	0.7327	0.4587		0.6904
AC	-0.33446	0.13814	0.61676	0.93451	0.46735	1.00000
0.99294						
0.0757	0.7829	0.9118	0.5769	0.2317	0.6904	

PAL	-0.22034	0.01971	0.70576	0.88570	0.35921	0.99294
1.00000						
	0.8586	0.9875	0.5012	0.3074	0.7661	0.0757

Sistema SAS	G4					
Procedimiento CORR						
7 Variables:	FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC PAL
Coeficientes de correlación Pearson, N = 3						
Prob > r suponiendo H0: Rho=0						
	FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC
PAL						
FEN	1.00000	-0.53348	0.37117	-0.88156	0.99737	0.55788
0.16921		0.6418	0.7579	0.3130	0.0462	0.6232
0.8918						
PEROXI	-0.53348	1.00000	-0.98341	0.07101	-0.59337	-0.99958
-0.92389	0.6418		0.1161	0.9548	0.5956	0.0185
0.2500						
POX	0.37117	-0.98341	1.00000	0.11113	0.43749	0.97771
0.97798	0.7579	0.1161		0.9291	0.7117	0.1347
0.1338						
CAT	-0.88156	0.07101	0.11113	1.00000	-0.84503	-0.10002
0.31609	0.3130	0.9548	0.9291		0.3592	0.9362
0.7953						
SOD	0.99737	-0.59337	0.43749	-0.84503	1.00000	0.61656
0.24019	0.0462	0.5956	0.7117	0.3592		0.5771
0.8456						
AC	0.55788	-0.99958	0.97771	-0.10002	0.61656	1.00000
0.91235	0.6232	0.0185	0.1347	0.9362	0.5771	
0.2685						
PAL	0.16921	-0.92389	0.97798	0.31609	0.24019	0.91235
1.00000	0.8918	0.2500	0.1338	0.7953	0.8456	0.2685

Sistema SAS	G 5							
Procedimiento CORR								
7 Variables:	FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC	PAL	
Coeficientes de correlación Pearson, N = 3								

Prob > r suponiendo H0: Rho=0						
	FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC
PAL						
FEN	1.00000	-0.89773	0.15007	-0.94219	-0.95469	0.78313
0.21962		0.2904	0.9041	0.2175	0.1924	0.4272
0.8590						
PEROXI	-0.89773	1.00000	0.30083	0.99345	0.72595	-0.42908
0.23262	0.2904		0.8055	0.0729	0.4828	0.7177
0.8505						
POX	0.15007	0.30083	1.00000	0.18989	-0.43749	0.73234
0.99750	0.9041	0.8055		0.8784	0.7117	0.4769
0.0451						
CAT	-0.94219	0.99345	0.18989	1.00000	0.79979	-0.52949
0.11997	0.2175	0.0729	0.8784		0.4099	0.6448
0.9234						
SOD	-0.95469	0.72595	-0.43749	0.79979	1.00000	-0.93271
-0.50000	0.1924	0.4828	0.7117	0.4099		0.2349
0.6667						
AC	0.78313	-0.42908	0.73234	-0.52949	-0.93271	1.00000
0.77867	0.4272	0.7177	0.4769	0.6448	0.2349	
0.4318						
PAL	0.21962	0.23262	0.99750	0.11997	-0.50000	0.77867
1.00000	0.8590	0.8505	0.0451	0.9234	0.6667	0.4318

Sistema SAS		TESTIGO					
Procedimiento CORR							
7 Variables:	FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC	PAL
Coeficientes de correlación Pearson, N = 3							
Prob > r suponiendo H0: Rho=0							
	FEN	PEROXI	POX	CAT	SOD	AC	PAL
PAL							

FEN 0.86896	1.00000	0.23582	0.75624	-0.76960	-0.69925	0.98980
0.3296		0.8484	0.4541	0.4409	0.5070	0.0910
PEROXI -0.27602	0.23582	1.00000	-0.45750	-0.80201	-0.85961	0.09496
0.8220	0.8484		0.6975	0.4075	0.3414	0.9395
POX 0.98094	0.75624	-0.45750	1.00000	-0.16422	-0.06107	0.84174
0.1245	0.4541	0.6975		0.8950	0.9611	0.3631
CAT -0.35275	-0.76960	-0.80201	-0.16422	1.00000	0.99461	-0.67078
0.7705	0.4409	0.4075	0.8950		0.0661	0.5319
SOD -0.25384	-0.69925	-0.85961	-0.06107	0.99461	1.00000	-0.59027
0.8366	0.5070	0.3414	0.9611	0.0661		0.5980
AC 0.93060	0.98980	0.09496	0.84174	-0.67078	-0.59027	1.00000
0.2386	0.0910	0.9395	0.3631	0.5319	0.5980	
PAL 1.00000	0.86896	-0.27602	0.98094	-0.35275	-0.25384	0.93060
	0.3296	0.8220	0.1245	0.7705	0.8366	0.2386