



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

**ÁCIDO SALICÍLICO EN PAPA (*Solanum tuberosum* L.)
COMO RESPUESTA A LA INFECCIÓN DE TIZÓN
TARDÍO (*Phytophthora infestans*)**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

Gevri David Juárez Herrera

Bajo la supervisión de: **Héctor Lozoya Saldaña, Ph. D.**



Chapingo, Estado de México, diciembre de 2018



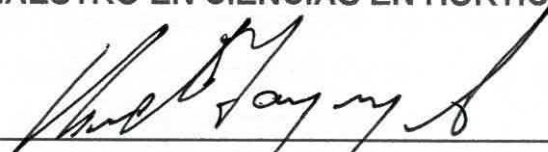
DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

ÁCIDO SALICÍLICO EN PAPA (*Solanum tuberosum*) COMO RESPUESTA A LA
INFECCIÓN DE TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*)

Tesis realizada por **GEVRI DAVID JUAREZ HERRERA** 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 HORTICULTURA

DIRECTOR:



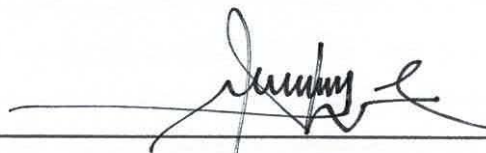
Ph. D. HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA

ASESOR:



Ph. D. MARÍA TERESA BERYL COLINAS Y LEÓN

ASESOR:



Dr. EFRAÍN CONTRERAS MAGAÑA

CONTENIDO

CONTENIDO	iii
CUADROS.....	vi
FIGURAS.....	vii
APÉNDICES	viii
DEDICATORIA	ix
AGRADECIMIENTOS.....	x
DATOS BIOGRÁFICOS.....	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Antecedentes.....	2
1.2 Justificación del trabajo.....	2
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 General	3
1.3.2 Específicos.....	3
1.4 Hipótesis.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Importancia económica de la Papa.....	5
2.2 Problemática de la producción.....	5
2.3 Plagas y Enfermedades.....	6
2.3.1 Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>)	6
2.4 Interacción planta-patógeno	8
2.4.1 Especificidad de la interacción planta-patógeno	9
2.5 Defensa de las plantas	9

2.6	Mecanismos de defensa	10
2.7	Activación de los mecanismos de defensa	11
2.7.1	Respuesta de hipersensibilidad	11
2.7.2	Fitoalexinas	12
2.7.3	Biosíntesis de lignina.....	13
2.7.4	Resistencia Sistémica Adquirida (SAR)	13
2.8	Ácido salicílico (AS)	14
2.9	Fungicidas y la activación de defensa en las plantas	17
2.10	Literatura citada.....	19
3.	ÁCIDO SALICÍLICO EN PAPA (<i>Solanum tuberosum</i>) COMO RESPUESTA A LA INFECCIÓN DE TIZÓN TARDÍO (<i>Phytophthora infestans</i>)	24
	RESUMEN.....	24
	ABSTRACT	25
	INTRODUCCIÓN	26
	MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
	Diseño experimental y tratamientos.....	28
	Muestreo	28
	Ácido salicílico	29
	Porcentaje de infección.....	29
	Análisis estadístico	30
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
	Ácido salicílico	32
	Porcentaje de infección.....	33
	Análisis de correlación	35
	DISCUSIÓN GENERAL.....	37

CONCLUSIONES	40
BIBLIOGRAFÍA.....	40
APÉNDICES	44

CUADROS

Cuadro 1. Descripción de tratamientos	28
Cuadro 2. Prueba múltiple de medias de Tukey para la variable concentración de Ácido Salicílico (AS) ($\mu\text{g g}^{-1}$) para el factor Variedad e interacciones.	33
Cuadro 3. Prueba múltiple de medias de Tukey para la variable porcentaje de infección para factores e interacciones	34
Cuadro 4. Coeficientes de correlación (r) entre variables porcentaje de Infección y AS ($\mu\text{g g}^{-1}$) para los tratamientos establecidos en campo.	36

FIGURAS

Figura 1. Ruta de biosíntesis de Ácido Salicílico (AS) dependiente del Ácido Shiquímico.	15
Figura 2. Rutas de Biosíntesis del Ácido Salicílico (AS) en las plantas.	16
Figura 2. Metabolismo del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en plantas.	17
Figura 4. Concentración de AS y % de Infección en las diferentes fechas de muestreo.....	31
Figura 5. Metabolismo del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en plantas.	38

APÉNDICES

Apéndice 1. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos.....	44
--	----

DEDICATORIA

*A mis abuelos QEPD, Juan José Juárez Reyes y Emilia Solares, con
admiración y cariño.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios, el Creador y por quien todo es posible.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por facilitarme el obtener la beca para cursar estos dos años de estudios y a los funcionarios de la Universidad Autónoma Chapingo que me facilitaron su apoyo en todo momento.

Al Dr. Héctor Lozoya Saldaña por su apoyo incondicional y otorgarme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo para el desarrollo de esta investigación. Al Dr. Carlos L. Cíntora por su generoso apoyo en el análisis estadístico del proyecto de investigación, a la Dra. Teresa Colinas y al Dr. Efraín Contreras por su apoyo para el desarrollo de este proyecto y al I. Q. Cecilio Bautista por enseñarme los métodos de laboratorio necesarios.

A mi compañero y amigo Guillermo Enciso, por su amistad durante la investigación y apoyo en la estancia de estudios en Paraguay. Además a: Néstor, Frank, Lázaro, Héctor, Placido, Ismael, Luis, y Darío, por su valiosa amistad durante el transcurso de estos dos años de estudio.

A Carolina Flores por su apoyo incondicional durante el último año de estudios, a su hermano Marcos y a sus padres por hacer de la estadía en México una grata experiencia.

Al Ing. Noel Molina y al Ing. Rodolfo González, gerentes de Stoller Centroamérica.

A mis padres Gevri Miguel y María Emilia, quienes me han apoyado de forma incondicional durante cada una de las diferentes etapas de mi vida, así como a mis hermanos Josué y Julieta por su apoyo a distancia.

DATOS BIOGRÁFICOS

1. Datos personales

Nombre	Gevri David Juárez Herrera
Fecha de Nacimiento	29 de diciembre de 1990
Lugar de Nacimiento	Ciudad de Guatemala, Guatemala
CURP	JUHG901229HNERRVO9

2. Desarrollo Académico

Educación Media	Perito Agrónomo, Escuela Nacional Central de Agricultura “ENCA”, Guatemala, Guatemala.
Licenciatura	Ingeniero Agrónomo con Énfasis en Riegos, Universidad Rafael Landívar, Sede Jutiapa, Guatemala.

ÁCIDO SALICÍLICO EN PAPA (*Solanum tuberosum* L.) COMO RESPUESTA A LA INFECCIÓN DE TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*)

SALICYLIC ACID IN POTATO (*Solanum tuberosum* L.) AS AN ANSWER TO LATE BLIGHT INFECTION (*Phytophthora infestans*)

Gevri David Juárez Herrera¹ y Héctor Lozoya Saldaña²

RESUMEN

El tizón tardío, causado por el oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont de Bary), es la enfermedad más importante del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.), y entre las reacciones de defensa que la planta tiene ante esta amenaza, destaca la síntesis del ácido salicílico (AS). Considerando lo anterior, se estableció el presente ensayo con el objetivo de cuantificar y entender la síntesis de AS en papa, en relación con dos condiciones ambientales (campo e invernadero) y genéticas del hospedante (variedad resistente y susceptible), con y sin aplicación de fungicidas (oxtiapripolin + famoxadona), para lo cual se cuantificó tanto la infección como el AS. La variedad resistente sintetizó dos veces más AS que la susceptible, tanto en condiciones de invernadero (sin el patógeno) como de campo (con el patógeno). Por otro lado, el contenido de AS se redujo hasta un 20 % en plantas resistentes y susceptibles que recibieron aplicación de fungicida y por ende, tenían un menor grado de infección. El porcentaje de infección fue cuatro veces mayor en la variedad susceptible sin fungicida que en la resistente sin aplicación de fungicida, y en ésta el contenido de AS fue dos veces mayor. Por otro lado, la infección fue tres veces menor en las plantas susceptibles con fungicidas y el AS dos veces menor que en las que no

lo tuvieron. Se encontró una alta correlación ($p < 0.0001$) en la concentración de AS y el porcentaje de infección de la variedad susceptible, no así en la resistente. El contenido de AS disminuyó a medida que el fungicida controló al patógeno y disminuyó la infección en la variedad susceptible. Se concluye que el fungicida no estimula los sistemas de defensa de la planta asociados al AS y la síntesis de éste dependió del nivel de infección de *P. infestans* en la variedad susceptible. En la variedad resistente fue inversamente proporcional a la infección del patógeno, esto es, a mayor infección correspondió menor contenido de AS.

Palabras clave: hormona de defensa, SAR, patogénesis.

ABSTRACT

The late blight, caused by the oomycete *Phytophthora infestans* (Mont de Bary), is the most important disease of potato (*Solanum tuberosum* L.), and among the defense reactions that the plant has to this threat, the synthesis of the salicylic acid (SA) is relevant. Under these considerations, the present experiment was established with the objective of quantifying and understanding the synthesis of SA in potato, in relation to two environmental conditions (field and greenhouse), and the host genetic pool (resistant and susceptible varieties), with

and without the application of fungicides (oxtiapripolin + famoxadone), for which both, infection and SA were quantified. The resistant variety synthesized twice as much SA as the susceptible one, both in the greenhouse (without the pathogen) as well as in the field (with the pathogen). On the other hand, the SA content was reduced up to 20 % in resistant and susceptible plants that received application of fungicide, therefore, with a lower degree of infection. The percentage of infection was four times higher in the susceptible variety without fungicides than in the resistant one without application of fungicides, and in this one the SA content was two times higher. Besides that, the infection was three times lower in the susceptible plants with fungicides

and the SA twice less than in those that were not sprayed. A high correlation ($p < 0.0001$) was found in the concentration of SA and the percentage of infection of the susceptible variety, but not in the resistant one. The SA content decreased as the fungicide controlled the pathogen and decreased the infection in the susceptible variety. It is concluded that the fungicide does not stimulate the plant defense systems associated with the SA and the SA synthesis depended on the level of infection of *P. infestans* in the susceptible variety. The opposite was true in the resistant variety. The more infection the less SA content.

Key words: defense hormone, SAR, pathogenesis.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es considerada la planta dicotiledónea de mayor importancia a nivel mundial, y ocupa el quinto lugar por área de siembra e importancia, después del trigo, el maíz, el arroz y el frijol. El cultivo de papa a nivel nacional se ha ubicado en el lugar 17 por la superficie de siembra, del orden de las 54,500 hectáreas, con un rendimiento promedio nacional de 26.2 toneladas por hectárea, lo que representó un volumen de producción de 1,433 millones de toneladas. De éstas, 56 % se destinó al mercado en fresco; 29 %, a la industria, y 15 % como semilla (Rocha & Quijano, 2015). La exposición a condiciones climáticas tales como las heladas, el granizo, y la sequía son fuentes importantes de riesgos en la producción, generando condiciones adecuadas para enfermedades como el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), ya que afecta la mayoría de zonas de tierras altas y clima templado, siendo la enfermedad de mayor importancia económica en el cultivo y la que limita a grandes magnitudes el rendimiento (Horton, 2016).

Phytophthora infestans es un agente patógeno ubicado entre los oomicetos en el reino de las algas (Judelson, 2014) que al inducir la enfermedad del tizón tardío, puede desarrollarse como epidemia en rangos adecuados de humedad y temperatura; comportándose en el campo como una enfermedad poli cíclica (Díaz de la Cruz *et al.*, 2014). Su agresividad limita el rendimiento del cultivo de papa, al depender de aplicaciones de fungicidas químicos y del uso de variedades o clones resistentes (Escalante & Farrera, 2004). Según De Wit (1997), la interacción planta-patógeno, depende tanto del genotipo como del patógeno que interaccionan, y es más fácil de estudiar en variedades, es decir, a genotipos que han sido sometidos a mejoramiento genético en donde existen poblaciones de plantas con un material genético más homogéneo. La inoculación localizada con patógenos virulentos capaces de producir lesiones necróticas da como resultado la inducción local o sistémica de resistencia. La resistencia sistémica adquirida (SAR, Systemically Acquired Resistance) es una respuesta de defensa activa, la cual se induce posteriormente a la infección de un patógeno incrementando los contenidos de Ácido Salicílico, el cual es el mensajero primario y que a su vez genera una alta expresión de genes PR, los cuales traducen la

señal generando metabolitos secundarios que reducen el ataque de los patógenos, limitando el desarrollo de las enfermedades (Glazebrook *et al.*, 2003). En la mayoría de los casos, la SAR es igualmente efectiva contra hongos, bacterias, virus o nemátodos, independientemente del organismo inductor (Hammerschmidt, 1999).

1.1 Antecedentes

Además del incremento de las concentraciones de AS también se han reportado incrementos en los niveles de proteínas relacionadas con la patogénesis o PR`s. Estas se caracterizan por su bajo peso molecular, resistencia a las proteasas- de localización extracelular y con valores de pH extremos (Van Loon & Van Kammen, 1970). Se han clasificado en cinco grupos. Las más estudiadas y de las cuales se reporta actividad microbiana son las PR-2 y PR-3. Las PR-2 tienen actividad sobre las b-1,3-glucanasas y las PR-3 sobre las quitinasas, lo que sugiere que la síntesis de PR`s posterior a la activación por el incremento de concentración de AS, inhiben el desarrollo de patógenos que posean b-1,3-glucano y quitina.

Se ha comprobado la hipótesis que la forma libre de AS participa en la activación de la SAR, traduciendo la señal a los tejidos adyacentes al sitio de infección, de donde se deriva el nombre de resistencia sistémica (Gaffney *et al.*, 1993; Rairdan & Delaney, 2002; Panina *et al.*, 2005). La ruta de acción para el AS se ha basado en el hallazgo de que éste se une e inhibe a la enzima catalasa (Chen *et al.*, 1993; Loake & Grant, 2007). La inhibición de la catalasa podría conducir a un incremento en la concentración del peróxido de hidrogeno (H₂O₂) o de otras especies reactivas de oxígeno derivadas de esta molécula. El H₂O₂ tiene una actividad antibiótica en contra de patógenos, y sus intermediarios que participan en la cascada de señalización para la expresión de genes de defensa (Loake & Grant, 2007).

1.2 Justificación del trabajo

Debido a la alta especificidad de la interacción planta-patógeno, es de suma importancia el estudio específico, en este caso, de la interacción *Solanum tuberosum* y *P. infestans*, con el fin de determinar los mecanismos de defensa inducidos por dicha

interacción, para determinar la importancia y capacidad de generar resistencia al ataque del fitopatógeno, y sí el AS, está involucrado en los mecanismos de defensa en variedades resistentes, así como la variación en su concentración en respuesta a la aplicación de fungicidas químicos.

1.3 Objetivos

1.3.1 General

Determinar la participación del Ácido Salicílico (AS) en la interacción planta-patógeno de *Solanum tuberosum* y *Phytophthora infestans*, en dos ambientes de cultivo distintos y variedades susceptibles y resistentes.

1.3.2 Específicos

Determinar la correlación entre la curva de infección de la enfermedad y la concentración de Ácido Salicílico, en plantas infectadas y no infectadas de papa.

Conocer el efecto de un fungicida sistémico, sobre la manifestación de la resistencia sistémica adquirida (SAR) de papa.

Determinar el comportamiento de AS tanto en una variedad resistente como en una variedad susceptible, con y sin aplicación de fungicida.

1.4 Hipótesis

Al menos una de las dos variedades tendrá un comportamiento distinto en presencia de *Phytophthora infestans* y en ausencia de él, con respecto a sus niveles de AS.

Al menos una de las dos condiciones de cultivo generará cambios en la concentración de AS acumulados en los tejidos, de las dos variedades seleccionadas.

Al menos uno de los dos manejos de *Phytophthora infestans* (Con y sin fungicida) manifestará cambios en la concentración de AS.

Al menos una de las interacciones variedad, ambiente y manejo de *Phytophthora infestans* presentará cambios en la acumulación de AS en los tejidos.

Por lo anterior, en esta investigación se evaluó la concentración de AS mediante un método de espectrofotometría en una variedad susceptible (Lucero) y una resistente (Clon 94-03-08), en presencia (Campo) y ausencia (Invernadero) del patógeno *P. infestans*, además del efecto de un fungicida en la concentración de AS. Los ocho tratamientos formados con las combinaciones de los tres factores indicados se establecieron de acuerdo con un diseño de bloques al azar generalizados en el cual cada ambiente fungió como bloque. El análisis se realizó mediante el sistema SAS (Statistical Analysis System, 9.4) e incluyó además del análisis de varianza, un análisis de correlación entre la concentración de AS y el porcentaje de infección, mediante coeficiente de correlación de Pearson. Con esto se determinó si en el experimento hubo evidencia para concluir que el AS es el responsable de la tolerancia de la variedad resistente.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia económica de la Papa

La papa (*Solanum tuberosum*), es considerada la planta dicotiledónea de mayor importancia a nivel mundial, y ocupa el quinto lugar por área de siembra, siendo superada solamente por: trigo, arroz, maíz y cebada. El género *Solanum* incluye alrededor de 1000 especies distribuidas en el mundo, principalmente en América del Sur y América Central. Puede desarrollarse en todos los climas, se encuentra desde el nivel del mar en el norte de México, hasta los 4,700 metros en las montañas rocallosas en el sur de Chile (Rocha & Quijano, 2015).

El cultivo de papa a nivel nacional se ha ubicado en el lugar 17 por la superficie sembrada, del orden de las 54,500 hectáreas, con un rendimiento promedio nacional de 26.2 toneladas por hectárea, lo que representó un volumen de producción de 1,433 millones de toneladas. De éstas, 56 % se destinó al mercado en fresco; 29 %, a la industria, y 15 % como semilla (Rocha & Quijano, 2015).

En México, este tubérculo se produce todo el año, prácticamente, desde el nivel del mar y hasta altitudes superiores a los 2,400 metros sobre el nivel del mar, por lo que su oferta en el mercado en fresco es permanente. Se cultiva tanto en los ciclos primavera-verano (abril a septiembre), como en el de otoño-invierno (de octubre a marzo), bajo condiciones de temporal y riego respectivamente. Las principales seis entidades productoras son: Sinaloa, Sonora, Nuevo León, Estado de México, Chihuahua y Veracruz, que registraron un volumen de producción de casi 1 millón de toneladas, que representan 68 % de la producción nacional (Rocha & Quijano, 2015).

2.2 Problemática de la producción

El rendimiento teórico o potencial, es aquel que el cultivo tendría bajo condiciones óptimas de producción; sin limitación de humedad, nutrimentos y en ausencia de plagas. Este rendimiento como se menciona es “teórico”, ya que estas condiciones son sumamente difíciles de lograr, por lo que finalmente es el rendimiento real de los cultivos, el que depende de plagas, enfermedades y malezas, el que se considera para

la producción alcanzable, lo que radica en la importancia del manejo de medidas de protección de cultivos, tanto químicas como biológicas (Rocha & Quijano, 2015).

2.3 Plagas y Enfermedades

En las zonas de tierras altas y de clima templado, en donde la mayor parte de las papas son sembradas en la primavera y cosechadas en el otoño, el clima frío del invierno facilita el almacenamiento para consumo doméstico, la venta al final del año, y la siembra en la siguiente temporada. La exposición a condiciones climáticas tales como las heladas, el granizo, y la sequía son fuentes importantes de riesgos en la producción generando condiciones adecuadas para enfermedades como el tizón tardío (la enfermedad fungosa que causó el fracaso del cultivo y llevó a Irlanda a una situación de hambruna en 1840) ya que afecta la mayoría de zonas de tierras altas y clima templado, siendo la enfermedad de mayor importancia económica en el cultivo y la que limita a grandes magnitudes el rendimiento (Horton, 2016).

2.3.1 Tizón tardío (*Phytophthora infestans*)

Es un patógeno perteneciente a la clase de los oomycetes y al reino de las algas (Judelson, 2014), que puede desarrollarse como epidemia en rangos adecuados de humedad y temperatura para su desarrollo; en el campo se comporta como una enfermedad poli cíclica. Su agresividad limita negativamente el rendimiento del cultivo de papa, al depender de aplicaciones de fungicidas químicos y del uso de variedades o híbridos resistentes (Escalante & Farrera, 2004).

Según Acuña (2008), afecta hojas, tallos y tubérculos. Puede sobrevivir en tejidos vivos, como semillas de papa, tubérculos, plantas voluntarias y otros hospederos susceptibles, los cuales se consideran las fuentes de inóculo más importantes de la enfermedad. Cuando esta alcanza la parte aérea de la planta, se forman los micelios, los cuales se desarrollan a bajas temperaturas y en presencia de una alta humedad relativa -en por lo menos 12 horas para su formación- y necesita alrededor de 7 días para mostrar síntomas en la planta. Se disemina principalmente por efectos de agua y viento, infectando los tallos y hojas húmedas de plantas vecinas.

Morfología

El micelio del alga no presenta septos; los esporangióforos son ovoidales, elipsoidales a limoniformes, ahusados en la base, caducos, con un pedicelo menor de 3 mm y semipapilados, su tamaño varía de 36 x 22 μm a 29 x 19 μm . Los esporangióforos son de crecimiento continuo, con un pequeño hinchamiento por debajo del esporangio (Pérez & Forbes, 2008).

Según Pérez y Forbes (2008), el patógeno posee dos tipos de apareamiento (heterotálico) y la compatibilidad difiere en cuanto a la producción y respuesta hormonal. Las hormonas A1 y A2 producidas por los grupos de compatibilidad A1 y A2 respectivamente, estimulan al grupo de apareamiento opuesto para formar oosporas, las cuales tienen un diámetro promedio de 30 μm (24 – 35 μm). En *P. infestans*, los aislamientos de cada tipo son bisexuales y auto incompatibles, por lo que se ha reportado diferentes grados de “masculinidad” y “femeneidad” dentro de este patógeno. Así, aislamientos que son fuertemente “masculinos” formarán anteridios y los que son fuertemente “femeninos” formarán más oogonios, mientras que algunos aislamientos presentan tendencias equilibradas.

Ciclo de Vida

Asexual: En agua libre y con bajas temperaturas, los esporangios germinan indirectamente produciendo alrededor de 8 - 12 zoosporas uninucleadas y biflageladas. Las zoosporas se forman dentro del esporangio y son liberadas cuando se rompe la pared esporangial a nivel de su papila, lo cual permite a las zoosporas nadar libremente. Las zoosporas tienen dos flagelos diferentes: uno de los flagelos es largo y en forma de látigo, en tanto que el otro es más corto y ornamentado, con dos filas laterales de pelos en el extremo. Las zoosporas se enquistan sobre superficies sólidas, se detienen, adquieren una forma redondeada y forman una pared celular. Luego, en presencia de humedad, pueden desarrollar un tubo germinativo y penetrar a la hoja por los estomas, o formar el apresorio, de tal manera que la hifa de penetración ingresa directamente a través de la cutícula. Una vez dentro de la planta, el micelio se desarrolla intercelularmente formando haustorios dentro de las células. Cuando la

temperatura es mayor a 15 °C, los esporangios pueden germinar directamente, formando un tubo germinativo que penetra la epidermis de la hoja e infecta al hospedante (Pérez & Forbes, 2008).

Sexual: Los gametangios se forman en dos hifas separadas, por lo que *P. infestans* es heterotálico. Así, ambos tipos de apareamiento A1 y A2, deben estar presentes para que ocurra la reproducción sexual. La unión de los gametos ocurre cuando el oogonio atraviesa el anteridio y ocurre la plasmogamia. Esto conduce a la fertilización y al desarrollo de una oospora con paredes celulares gruesas. La oospora es fuerte y puede sobrevivir en los residuos de la papa. Bajo condiciones favorables, la oospora produce un tubo germinativo que forma un esporangio apical, el cual puede liberar zoosporas o formar nuevamente un tubo germinativo, los cuales sirven como inóculo primario (Pérez & Forbes, 2008).

Resistencia a fungicidas

P. infestans, posee una mínima sensibilidad a un gran número de fungicidas, la cual es el resultado de mutaciones estables y heredables. Una de las resistencias más conocidas y reportadas en plantaciones a nivel mundial, es la que se presenta al ingrediente activo metalaxyl y a otras fenilamidas, lo cual constituye un factor limitante al uso de fungicidas de este grupo. Sin embargo, al no ser heredable esta resistencia, puede ser reversible mediante el manejo adecuado de los controles químicos (Pérez & Forbes, 2008).

2.4 Interacción planta-patógeno

Las plantas bajo condiciones naturales, interaccionan con un gran número de microorganismos potencialmente patogénicos, permaneciendo sanas en algunos casos, debido a la manifestación de varios mecanismos de defensa. La interacción planta-patógeno, puede ir desde una relación benéfica entre el patógeno y el hospedante, hasta una altamente perjudicial para el hospedante (Madriz, 2002).

En la estrecha co-evolución entre planta y patógeno, la mayoría de los microorganismos se desarrollan en un ambiente limitado de hospedantes, algunas veces limitado a un

género, especie o subespecie. De igual manera las plantas son susceptibles o resistentes a una raza o a pocas especies de patógenos (Madriz, 2002).

2.4.1 Especificidad de la interacción planta-patógeno

Según De Wit (1997), esta depende tanto del genotipo como del patógeno que interaccionan, y es más fácil de estudiar en cultivares, es decir, en genotipos que han sido sometidos a mejoramiento genético en donde existen poblaciones de plantas con un material genético más homogéneo. Esto conlleva a la aparición de nuevas razas específicas para cada cultivar, debido a la presión de selección que se ejerce sobre los patógenos. La especificidad de la interacción, mostrará una ventaja para una de las dos partes, planta o patógeno.

Para el estudio de cualquier interacción planta-patógeno, es de suma importancia comprender la virulencia o avirulencia del patógeno, con respecto a la susceptibilidad o resistencia del hospedante. Generalmente, dentro de las interrelaciones, puede existir una relación incompatible o compatible. El referirse a una interacción compatible, implica la relación de un patógeno virulento y un hospedante susceptible, mientras que una interacción incompatible considera la relación de un hospedante resistente y un patógeno avirulento (Madriz, 2002).

Según De Wit (1997), las interacciones incompatibles, están mediadas por sistemas de reconocimiento que activan mecanismos de defensa en las plantas, principalmente la respuesta híper sensible de la misma (HR), mientras que una interacción compatible, al no llevarse a cabo el sistema de reconocimiento y activando el mecanismo de defensa, otorga condiciones favorables al patógeno para establecerse y generar la enfermedad.

2.5 Defensa de las plantas

Existe una gran cantidad de metabolitos secundarios y fitohormonas que están altamente relacionados con la defensa de las plantas, algunos de ellos pueden ser constitutivos, es decir, ya están presentes en la planta en concentraciones variables y sirven como una barrera para el patógeno, y los no constitutivos, los cuales solo se

producen luego de la activación de la defensa mediante la infección del patógeno, también conocidos como de defensa inducida (Madriz, 2002).

Las plantas durante toda su evolución, han convivido bajo la influencia de factores bióticos y abióticos, lo que les ha llevado a una mejor distribución de sus recursos para desarrollarse, reproducirse y defenderse de agentes externos. La mayoría de las defensas de las plantas, se ve reflejado en la gran diversidad bioquímica de las plantas, la cual es única al compararla con la de otros grupos de organismos (Vivanco *et al.*, 2005). En 1905, Marshall Ward (citado por Kawano & Furichi, 2007) postuló que los “anticuerpos” y las toxinas producidas por la planta desempeñaban una función importante para frenar el proceso infeccioso. Estos compuestos defensivos podían encontrarse preformados -antes de la infección- o podían sintetizarse en respuesta a la misma y ser, por tanto, inducibles o subsiguientes a la infección.

En 1941, Müller y Börger refinaron la concepción de Ward. Bautizaron con el nombre de fitoalexinas a los compuestos químicos sintetizados por la planta en respuesta a una invasión microbiana. La primera fitoalexina fue aislada y caracterizada en 1960 por Cruickshank y Perrin. Al compuesto aislado, un isoflavonoide pterocarpano, se le denominó pisatina; se había aislado a partir de las vainas de guisante (*Pisum sativum*) (Vivanco *et al.*, 2005).

2.6 Mecanismos de defensa

A pesar de que las plantas no poseen un sistema inmunitario como otros seres vivos, presentan una alta resistencia a enfermedades generadas por hongos, bacterias, virus y nemátodos presentes en el ambiente. Algunos de los metabolitos secundarios con actividad microbiana, son sintetizados por algunas especies como defensas contra patógenos en plantas sanas, algunos de ellos como las saponinas, triterpenos que alteran la membrana de algunos hongos al unirse con esteroides, mientras que otros compuestos necesitan de una activación para que se sinteticen en las plantas afectadas (Taiz & Zeiger, 2010).

2.7 Activación de los mecanismos de defensa

La inducción de las defensas antipatógenos, requieren de una infección microbiana. Teóricamente necesitan una menor inversión de recursos de las plantas, que aquellas que se presentan en plantas intactas, aunque deben de ser activadas rápidamente para ser efectivas a los ataques de patógenos. Otras defensas inducidas parecen ser complejas redes de traducción de señales, algunas mediadas por el ácido Jasmónico, y otras como la resistencia sistémica adquirida (SAR), esta mediada por el AS (Taiz & Zeiger, 2010).

Según Madriz (2002), la activación de los mecanismos de defensa supone mecanismos de identificación, mediante los cuales la planta determina la presencia del fitopatógeno. Ciertas sustancias como proteínas, carbohidratos y pequeñas moléculas, pueden funcionar como inductores de defensa. También existen inductores de defensa no específicos, los cuales son cualquier sustancia que es capaz de inducir los mecanismos de defensa de manera no-específica.

Dentro de los inductores no-específicos, se encuentran polímeros que conforman a la pared celular tanto de hongos como del tejido hospedante, que son capaces de la activación de mecanismos de defensa. Ya sea por la muerte del tejido o por una respuesta de hipersensibilidad, las oligosacarinas son liberadas de la pared celular vegetal, viajando a los tejidos adyacentes para la activación de la defensa (Haiyan *et al.*, 2017).

2.7.1 Respuesta de hipersensibilidad

Consiste en la muerte celular programada, de una o más células alrededor del tejido infectado por el fitopatógeno, para la restricción del crecimiento o aumento de la enfermedad. También conocido como “suicidio” celular, esto es un proceso normal dentro de los seres vivos para su supervivencia, la cual se dispara en respuesta a los daños tanto por factores bióticos como abióticos (Sanzón & Zavaleta, 2010).

Según Williams y Dickman (2008), la respuesta de hipersensibilidad, se clasifica por el organelo que está involucrado en la muerte celular programada: 1) apoptosis 2) muerte

lisosomal (autofagia) 3) muerte no lisosomal. La apoptosis, supone un tipo de “canibalismos” en el cual una célula viva devora a otra célula por medio del uso de enzimas hidrolíticas que ésta posee en su lisosoma; en la autofagia, la célula muere por el uso de su propio sistema lisosomal; y en la muerte no lisosomal, no está involucrado el lisosoma, y es una muerte programada menos común (Doorn & Woltering, 2005).

Durante el desarrollo de la planta, se han documentado ejemplos de autofagia, en los cuales las oligosacarinas y otros compuestos fenólicos funcionan como elicitores, los cuales viajan a las células cercanas a los tejidos de infección induciendo la salida de enzimas hidrolíticas de la vacuola, provocando una digestión intracelular de macromoléculas (Haiyan *et al.*, 2017; Sanzón & Zavaleta, 2010).

Se ha consignado, que las plantas que muestran una alta respuesta hipersensible al ataque de patógenos, muestran una alta resistencia a patógenos en tejidos distantes a los que han recibido la reacción, conocido como SAR, y al parecer el AS es el de mayor importancia y esencial para su traducción (Hammerschmidt, 2009; Vlot *et al.*, 2008).

2.7.2 Fitoalexinas

Fueron definidas originalmente como metabolitos secundarios de bajo peso molecular, con propiedades antimicrobianas que se producen y acumulan en plantas expuestas a microorganismos (Paxton, 1981; citado por Hayat & Ahmad, 2007). Estos compuestos normalmente se encuentran en niveles basales muy bajos en las plantas sanas pero su acumulación se incrementa dramáticamente después del ataque de un patógeno. Las fitoalexinas se acumulan en grandes cantidades tanto en el sitio de penetración como en las células y tejidos adyacentes a las células que reaccionan con la humedad relativa (HR). Entre las fitoalexinas más estudiadas se encuentran aquellas derivadas del metabolismo de los fenil propanoides que tienen como base el aminoácido fenilalanina. La producción de fitoalexinas se ha correlacionado con la resistencia a patógenos y se asocia con la inducción de una serie de genes que codifican para enzimas específicas responsables de su síntesis (Van Etten *et al.*, 1995).

2.7.3 Biosíntesis de lignina

Uno de los mecanismos de defensa más evidente es la producción y deposición de sustancias que actúan como barreras físicas evitando el avance de patógenos. La lignificación puede ser una característica constitutiva en algunas especies, pero también puede ocurrir como un proceso de refuerzo de los tejidos cuando están sujetos a daño físico. La lignificación también se manifiesta durante la defensa a patógenos, acumulando grandes cantidades en los tejidos atacados por patógenos. La lignina se produce por la unión enzimática de unidades de fenilpropanoides formando largos polímeros que confieren impermeabilidad y resistencia mecánica; además, la lignina es resistente a la degradación producida por muchos patógenos (Nicholson & Hammerschmidt, 1992).

2.7.4 Resistencia Sistémica Adquirida (SAR)

La inoculación localizada con patógenos virulentos y avirulentos capaces de producir lesiones necróticas da como resultado la inducción local o sistémica de resistencia. En ambos fenómenos, la planta muestra resistencia local (LAR, Locally Acquired Resistance) o sistémica (SAR, Systemically acquired Resistance) a un ataque subsecuente del patógeno. La resistencia sistémica adquirida es una respuesta de defensa activa de amplio espectro que está asociada a una alta expresión de genes PR (Hammerschmidt, 1999). En la mayoría de los casos, la SAR es igualmente efectiva contra hongos, bacterias, virus o nemátodos, independientemente del organismo inductor.

El ácido Jasmónico (AJ), además del ácido salicílico (AS) y etileno (ET) son las moléculas más reconocidas en defensa (Hammond & Parker, 2003). Estas rutas de defensa antagónicas no funcionan independientemente y forman parte de una red de señalización compleja que determina la respuesta de defensa de la planta (Glazebrook, 2005). El AJ es una molécula importante de señalización en respuestas de defensa a patógenos. La activación de estas respuestas difiere dependiendo del tipo de patógeno invasor. La señalización mediada sólo por AJ activa la respuesta de defensa contra hongos necrótrofos tales como *Botrytis cinerea* y *Alternaria brassicicola* (Glazebrook, 2005).

Además, el AJ y el ET actúan sinérgicamente para inducir la expresión de ciertos genes de defensa tales como PDF1.2, PR-3 y PR-4. Mientras que AS y AJ pueden actuar sinérgicamente o antagónicamente durante la activación de genes de defensa ante un patógeno específico (Devadas *et al.*, 2002). Por lo tanto, la resistencia inducida por patógenos es regulada por una red de interconexiones de rutas de defensa en donde el AS, el AJ y el ET son moléculas claves de señalización (Glazebrook, 2005).

Los primeros estudios acerca del fenómeno SAR se realizaron en tabaco infectado con virus (Ross, 1961). La manifestación de SAR de manera sistémica en la planta implica la existencia de algún sistema de señales capaces de transmitirse a través de los tejidos. Las investigaciones realizadas indican que ácido salicílico (AS) es la molécula que ha mostrado mayores evidencias de estar involucrada en las vías de SAR. De esta forma, la inducción de SAR generalmente se correlaciona con incrementos en la acumulación de AS tanto localmente como sistémicamente (Lawton *et al.*, 1995).

2.8 Ácido salicílico (AS)

Es una fitohormona de defensa, tanto para la resistencia local como sistémica (SAR) en las plantas. Su acumulación exógena, así como la síntesis por infección de los patógenos, provee a las plantas de una alta resistencia al ataque de fitopatógenos. El AS es un compuesto que interviene en distintos procesos biológicos además de ser sintetizado en mayor cantidad por la planta cuando es atacada por patógenos biótrosos y por estímulos abióticos externos, como el exceso de ozono, de radiación, o daño mecánico (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

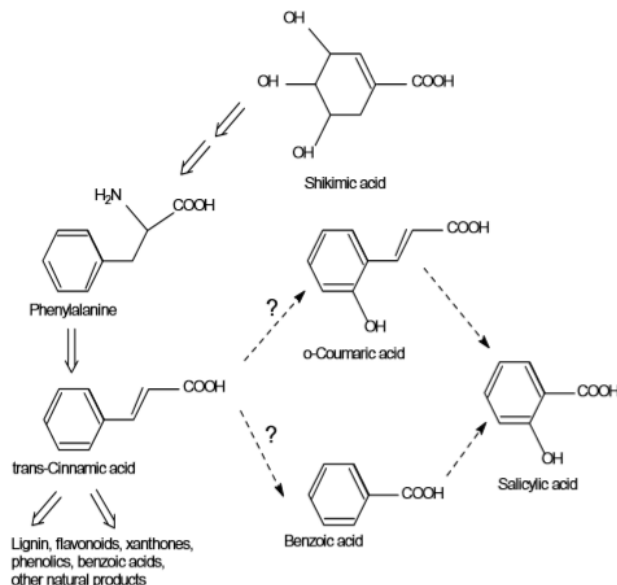


Figura 1. Ruta de biosíntesis de AS dependiente del Ácido Shiquímico.

Fuente: Hayat & Ahmad, 2007.

Investigaciones en búsqueda de los isotopos de AS, han sugerido que este se sintetiza a partir del cinamato, producido inicialmente por la fenilalanina amonioliasa (PAL). Estudios genéticos indican que las grandes cantidades sintetizadas por algunas plantas de AS son producidas por el isocorismato (ICS). Si se da atención a las rutas dependientes de la PAL y del ICS en la acumulación de AS, lo cual se ha demostrado por experimentos utilizando mutantes genéticos, silenciador de genes e inhibidores químicos, se considera posible que exista una relación metabólica entre las dos rutas o pertenezcan a una red reguladora de la biosíntesis de AS (Ver Figura 1).

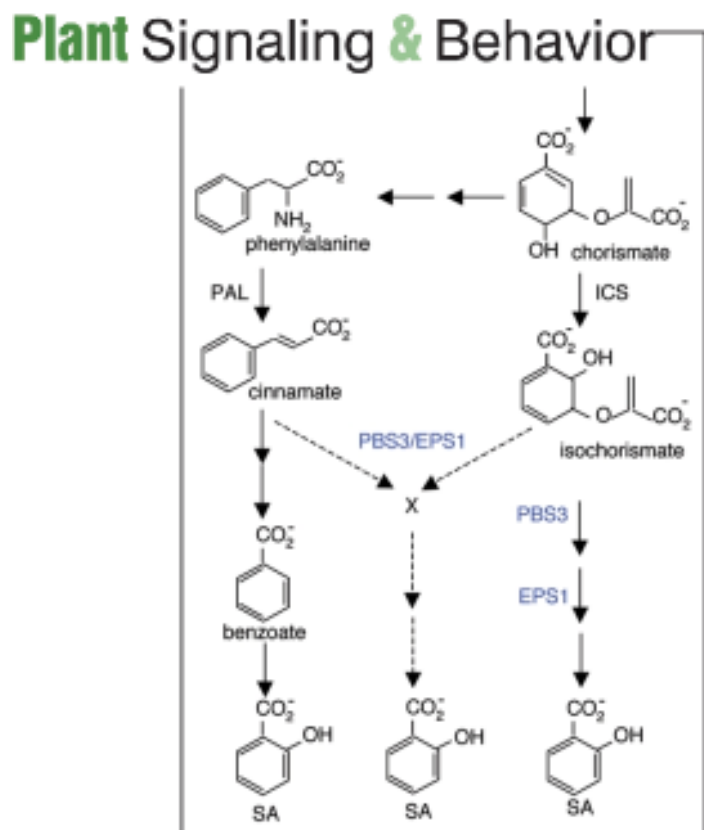


Figura 2. Rutas de Biosíntesis del Ácido Salicílico (AS) en las plantas.

Fuente: Hua, 2009.

El AS es una molécula importante en la señalización de defensa a virus, bacterias y hongos fitopatógenos (Vlot *et al.*, 2008). Tras la infección viral se encuentran altos niveles de AS y/o su compuesto volátil Metil-salicílico (MeAS), se incrementa la expresión de genes implicados en SAR. El AS es esencial en la ruta de transducción de señales que conducen a la activación de genes que codifican proteínas PR's (Vlot *et al.*, 2008). Por el contrario, se ha demostrado que mutantes en donde existe inhibición de su síntesis o acumulación, tienen disminución o bloqueo en las respuestas de defensa, por lo que la acumulación de AS sirve como una señal natural que media diferente respuesta de defensa en las plantas.

Se ha propuesto un modo de acción para el AS basándose en el hallazgo de que éste se une e inhibe a la enzima catalasa (Klessig and Malamy, 1994; Loake & Grant, 2007)

(Figura 2). La inhibición de la catalasa podría conducir a un incremento en la concentración del peróxido de hidrogeno (H_2O_2) o de otras especies reactivas de oxígeno derivadas de esta molécula. El H_2O_2 podría tener una actividad antibiótica en contra de patógenos, y sus intermediarios podrían participar en la cascada de señalización para la expresión de genes de defensa (Durner *et al.*, 1997; Loake & Grant, 2007).

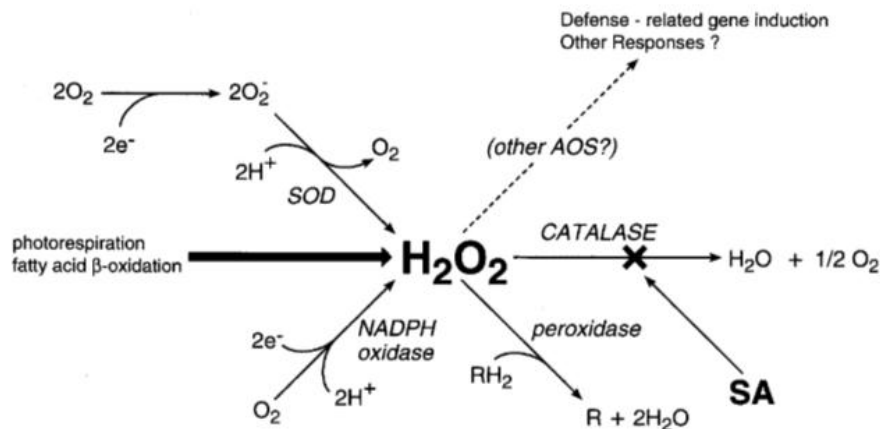


Figura 2. Metabolismo del peróxido de hidrogeno (H_2O_2) en plantas.

Fuente: Klessig and Malamy, 1994.

Luego del incremento de las concentraciones de AS también se han reportado incrementos en los niveles de proteínas relacionadas a la patogénesis o PR's. Estas se caracterizan por su bajo peso molecular, resistencia a las proteasas, de localización extracelular y con valores de pH extremos (Kawano & Furichi, 2007). Estas se han clasificado en cinco grupos. Las más estudiadas y de las cuales se reporta actividad microbiana son las PR-2 y PR-3. Las PR-2 tienen actividad sobre las b-1,3-glucanasas y las PR-3 sobre las quitinasas, lo que sugiere que la síntesis de PR's posterior a la activación por el incremento de concentración de AS, inhibe el desarrollo de patógenos que posean b-1,3-glucano y quitina.

2.9 Fungicidas y la activación de defensa en las plantas

Dentro de los fungicidas químicos utilizados como inductores de defensa de plantas son el probenazole, el cual se utiliza para controlar *Pyricularia oryzae* en arroz y cebada,

este actúa por medio de la inducción de respuestas de defensa, estimulando la acumulación de sustancias tóxicas para los patógenos como ácido α -linoléico, incrementando la actividad de fenilalanina amono-liasa (PAL), peroxidasa (POX) y catecol-metiltransferasa, además de presentar un efecto fungicida directo inhibiendo el desarrollo temprano de hongos (Oliver & Hewitt, 2014). Otro de los fungicidas químicos actuales con mayor estudio encontramos el benomilo, el cual tiene un efecto protector ante el estrés oxidativo, elevando la actividad de la súper oxido dismutasa (SOD), y evita la peroxidación de los lípidos de las membranas de las clorofilas (Calatayud y Barreno, 2001); el Fosetyl-Al, estimula la actividad de enzimas antioxidantes como la SOD y la PAL en presencia de enfermedad, induciendo la defensa de las plantas (Robledo-Esqueda *et al.*, 2012) y en ausencia de enfermedad se ha demostrado que incrementa la actividad de POX y SOD (Serrano-Cervantes *et al.*, 2016). Por otro lado, el fluoxastrobin (estrobilurina) también induce la actividad de la SOD en plantas sanas (Serrano-Cervantes *et al.*, 2016).

2.10 Literatura citada

- Acuña I., (2008). Manejo integrado del tizón tardío y estrategias de control químico. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Informativo, 62: 1-4.
- Azcón-Bieto, J.; Talon, M. (2008) Fundamentos de fisiología vegetal. Segunda edición. McGraw-Hill. Interamericana de España, 2: 577-581.
- Calatayud, A. and E. Barreno (2001). Chlorophyll a fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. Environmental Pollution 115: 283-289.
- Chen, Z., Silva, H., and Klessig, D.F., (1993). Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance induced by salicylic acid. Science, 262: 1883-1886.
- De Wit, PJGM. (1997). Pathogen avirulence and plant resistance: a key role for recognition. Trends in Plant Science 2: 452-458.
- Devadas, S. K., Enyedi, A., & Raina, R. (2002). The Arabidopsis hrl1 mutation reveals novel overlapping roles for salicylic acid, jasmonic acid and ethylene signalling in cell death and defense against pathogens. The Plant Journal, 30(4), 467-480.
- Díaz de la Cruz, C. Lozoya-Saldaña H., Sahagún-Castellanos J., Peña-Lomelí A. (2014). The Pathosystem *Solanum tuberosum* L.-*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Chapingo, Mexico. Expected, Observed, and Simulated. Am. J. Potato Res. 91:312–326.
- Durner, J., and Klessig, D.F., (1996). Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalases, J. Biol. Chem., 272: 28492-28501.
- Escalante Ortiz, M., & Farrera Pino, R. (2004). Epidemiología del tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont de Bary) de la papa en zonas productoras del Estado Táchira, Venezuela. Bioagro, 16(1): 47-54.
- Gaffney, T., Friedrich, L., Vernooij, B., Negroto, D., Nye, G., Uknes, S., Ward, E., Kessmann, H., and Ryals, J., (1993). Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance, Science, 261: 754–756.

- Glazebrook J, Chen W, Estes B, Chang HS, Nawrath C, Metraux JP. (2003). Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. *Plant J*; 34(2):217–28.
- Glazebrook, J. (2005). Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 205-227.
- Haiyang Xu, Jing Li, Shiming Wang, Linxiang Xu, Rui Cheng, Jianfa Zhang (2017). Oligosaccharide elicitor prepared from Salecan triggers the defense responses of *Arabidopsis thaliana* Col0 against *Botrytis cinerea* infection *World J Microbiol* 33: 165.
- Hammerschmidt R. (2009). Systemic acquired resistance. *Advances in Botanical Research* 51:173-222.
- Hammerschmidt, R. (1999). Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55: 77-84.
- Hammond-Kosack, KE; Parker, JDG. (2003). Resistance gene dependent plant defense responses. *The Plant Cell* 8: 1773-1791.
- Hayat, Ali and Ahmad A. (2007). Salicylic acid: biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. Department of Botany, Aligarh Muslim University, Aligarh, INDIA: 1-14
- Horton, D. (2016). Las papas en los países en desarrollo. *Revista Latinoamericana de la papa*, 1(1): 9-17.
- Hua L. (2009) Dissection of salicylic acid-mediated defense signaling networks, *Plant Signaling & Behavior*, 4:8, 713-717, DOI: 10.4161/psb.4.8.9173
- Judelson H.S. (2014) *Phytophthora infestans*. In: Dean R., Lichens-Park A., Kole C. (eds) *Genomics of Plant-Associated Fungi and Oomycetes: Dicot Pathogens*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp 175-208
- Kawano, T., Furuichi, T. (2007). Salicylic acid as a defense-related plant hormone. Roles of oxidative and calcium signaling paths *In: salicylic acid biology*. pp, 277-321.

- Klessig, D. F. and Malamy, J. (1994). The salicylic acid signal in plants. *Plant Molecular Biology* 26: 1439-1458.
- Lawton, K., Weymann, K., Friedrich, L., Vernooij, B., Uknes, S., Ryals, J. (1995). Systemic acquired resistance in *Arabidopsis* requires salicylic acid but not ethylene. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 8: 863-870.
- Loake, G. y Grant, M. (2007). Salicylic acid in plant defence-the players and protagonists. *Current Opinion in Plant Biology*. 10: 466-472.
- Madriz O. K. (2002). Mecanismos de defensa en las interacciones planta- patógeno. *Manejo integrado de plagas*, 63: 22-32.
- Maleck, K., Levine, A., Eulgem, T., Morgan, A., Schmid, J., Lawton, K. (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nat Genet* 2000, 26: 403–10.
- M-Mani, B., M.traux, J. (1998). Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Annals of Botany*, 82: 535-540
- Nicholson, R.L., Hammerschmidt, R. (1992). Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 30: 369-389.
- Oliver, R. P. & Hewitt, H.G. (2014). *Fungicides in Crop Protection*. Gutenberg Press Ltd, Tarxien, Malta, 2: 123-127.
- Pérez, W., Forbes, G. (2008). El tizón tardío de la papa. *Centro Internacional de la Papa (CIP)*. Apartado 1558, Lima 12, Perú. 35: 11-21.
- Panina, N. G. Gerasimova, G. I. Chalenko, N. I. Vasyukova, and O. L. Ozeretskoy (2005). Salicylic Acid and Phenylalanine Ammonia-Lyase in Potato Plants Infected with the Causal Agent of Late Blight. *Russian Journal of Plant Physiology*, 52(4): 511–515
- Rairdan G.J., Delaney, T.P. (2002). Role of salicylic acid and NIM1/NPR1 in race-specific resistance in *Arabidopsis*. *Genetics*, 161:803–11.

- Robledo-Esqueda., M. N., Lozoya-Saldaña, H., & Colinas L., M. T., (2012). Inducción de defensa en papa (*Solanum tuberosum* L.) contra *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary por fungicidas. *Interciencia*, 37(9): 689-695.
- Rocha, R., Quijano, J. (2015). Producción de Papa en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Celaya, GTO., México 72: 4-15.
- Ross, AF. (1961). Systemic acquired resistance induced by localized virus infection of plants. *Virology* 14: 340-358.
- Sanzón G.D., y Zavaleta M.E. (2011). Respuesta de Hipersensibilidad, una muerte celular programada para defenderse del ataque por fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29:154-164.
- Serrano-Cervantes, R., Lozoya-Saldaña, H., Colinas-León, M. A. & Gerardo Leyva-Mir, S.G. (2016). Algunas alteraciones enzimáticas en papa causadas por fungicidas. *Rev. Fitotec. Mex*, 39(1): 25 – 31.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). Metabolitos secundarios y defensa de las plantas. *In* Taiz, L., & Zeiger, E. (Eds.) *Fisiología vegetal* 4: 530-580).
- Van Doorn, Woltering EJ. 2005. Many ways to exit Cell death categories in plants. *Trends in Plant Science* 10: 117-122.
- Van Etten, H.D., Sandrock, R.W., Wasmann, C.C., Soby, S.D., Mc Cluskey, K., Wang, P. (1995). Detoxification of phytoanticipins and phytoalexins by phytopathogenic fungi. *Canadian Journal of Botany* 73: 518-525.
- Van Loon, L.C., Van Kammen, R.T. (1970). Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var "Samsun NN". Changes in proteins constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology* 40: 199-211.
- Vivanco, J., Cosío, E., Loyola-Vargas, V., Flores, H. (2005). Mecanismos químicos de defensa de las plantas. *Investigación y Ciencia*. (4): 68-75.

- Vlot, A.C., Klessing, D.F. and Park, S. (2008). Systemic acquired resistance the elusive signal(s). *Current Opinion in Plant Biology* 11: 436-442.
- Warrier R. R.*, Paul, M., Vineetha, V. (2013). Estimation of salicylic acid in eucalyptus leaves using spectrophotometric methods. *Genetics and Plant Physiology*, 3: 90–97.
- Williams, B., and Dickman, M. (2008). Plant programmed cell death: can't live with it; can't live without it. *Molecular. Plant Pathology* 9: 531-544.

3. ÁCIDO SALICÍLICO EN PAPA (*Solanum tuberosum*) COMO RESPUESTA A LA INFECCIÓN DE TIZÓN TARDÍO (*Phytophthora infestans*)

RESUMEN

El tizón tardío, causado por el oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont de Bary), es la enfermedad más importante del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.), y entre las reacciones de defensa que la planta tiene ante esta amenaza, destaca la síntesis del ácido salicílico (AS). Considerando lo anterior, se estableció el presente ensayo con el objetivo de cuantificar y entender la síntesis de AS en papa, en relación con dos condiciones ambientales (campo e invernadero) y genéticas del hospedante (variedad resistente y susceptible), con y sin aplicación de fungicidas (oxtiapripolin + famoxadona), para lo cual se cuantificó tanto la infección como el AS. La variedad resistente sintetizó dos veces más AS que la susceptible, tanto en condiciones de invernadero (sin el patógeno) como de campo (con el patógeno). Por otro lado, el contenido de AS se redujo hasta un 20 % en plantas resistentes y susceptibles que recibieron aplicación de fungicida y por ende, tenían un menor grado de infección. El porcentaje de infección fue cuatro veces mayor en la variedad susceptible sin fungicida que en la resistente sin aplicación de fungicida, y en ésta el contenido de AS fue dos veces mayor. Por otro lado, la infección fue tres veces menor en las plantas susceptibles con fungicidas y el AS dos veces menor que en las que no lo tuvieron. Se encontró una alta correlación ($p < 0.0001$) en la concentración de AS y el porcentaje de infección de la variedad susceptible, no así en la resistente. El contenido de AS disminuyó a medida que el fungicida controló al patógeno y disminuyó la infección en la variedad susceptible. Se concluye que el fungicida no estimula los sistemas de defensa de la planta asociados al AS y la síntesis de éste dependió del nivel de infección de *P. infestans* en la variedad susceptible. En la variedad resistente fue inversamente proporcional a la infección del patógeno, esto es, a mayor infección correspondió menor contenido de AS.

Palabras clave: hormona de defensa, SAR, patogénesis.

ABSTRACT

The late blight, caused by the oomycete *Phytophthora infestans* (Mont de Bary), is the most important disease of potato (*Solanum tuberosum* L.), and among the defense reactions that the plant has to this threat, the synthesis of the salicylic acid (SA) is relevant. Under these considerations, the present experiment was established with the objective of quantifying and understanding the synthesis of SA in potato, in relation to two environmental conditions (field and greenhouse), and the host genetic pool (resistant and susceptible varieties), with and without the application of fungicides (oxtiapripolin + famoxadone), for which both, infection and SA were quantified. The resistant variety synthesized twice as much SA as the susceptible one, both in the greenhouse (without the pathogen) as well as in the field (with the pathogen). On the other hand, the SA content was reduced up to 20 % in resistant and susceptible plants that received application of fungicide, therefore, with a lower degree of infection. The percentage of infection was four times higher in the susceptible variety without fungicides than in the resistant one without application of fungicides, and in this one the SA content was two times higher. Besides that, the infection was three times lower in the susceptible plants with fungicides and the SA twice less than in those that were not sprayed. A high correlation ($p < 0.0001$) was found in the concentration of SA and the percentage of infection of the susceptible variety, but not in the resistant one. The SA content decreased as the fungicide controlled the pathogen and decreased the infection in the susceptible variety. It is concluded that the fungicide does not stimulate the plant defense systems associated with the SA and the SA synthesis depended on the level of infection of *P. infestans* in the susceptible variety. The opposite was true in the resistant variety. The more infection the less SA content.

Key words: defense hormone, SAR, tubercle, pathogenesis.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es considerada la planta dicotiledónea de mayor importancia a nivel mundial, y ocupa el quinto lugar por área de siembra e importancia, después del trigo, el maíz, el arroz y el frijol (Rocha & Quijano, 2015). La exposición a condiciones climáticas tales como las heladas, el granizo, y la sequía son fuentes importantes de riesgos en la producción generando condiciones adecuadas para enfermedades como el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), ya que afecta la mayoría de zonas de tierras altas y clima templado, siendo la enfermedad de mayor importancia económica en el cultivo y la que limita a grandes magnitudes el rendimiento (Horton, 2016). *Phytophthora infestans* es un agente patógeno ubicado entre los oomicetos en el reino de las algas (Judelson, 2014) que, al inducir la enfermedad del tizón tardío, puede desarrollarse como epidemia en rangos adecuados de humedad y temperatura; comportándose en el campo como una enfermedad poli cíclica (Díaz de la Cruz *et al.*, 2014). Su agresividad limita el rendimiento del cultivo de papa, al depender de aplicaciones de fungicidas químicos y del uso de variedades o clones resistentes (Escalante & Farrera, 2004). Algunos de los fungicidas químicos utilizados comercialmente para combatir enfermedades fungosas como el benomilo, posee un efecto protector ante el estrés oxidativo, elevando la actividad de la súper oxido dismutasa (SOD), y evita la peroxidación de los lípidos de las membranas de las clorofilas (Calatayud y Barreno, 2001); el Fosetyl-Al, estimula la actividad de enzimas antioxidantes como la SOD y la PAL en presencia de enfermedad, induciendo la defensa de las plantas (Robledo-Esqueda *et al.*, 2012) y en ausencia de enfermedad se ha demostrado que incrementa la actividad de POX y SOD (Serrano-Cervantes *et al.*, 2016).

Según De Wit (1997), la interacción planta-patógeno, depende tanto del genotipo como del patógeno que interaccionan, y es más fácil de estudiar en variedades, es decir, en genotipos que han sido sometidos a mejoramiento genético en donde existen poblaciones de plantas con un material genético más homogéneo. La inoculación localizada con patógenos virulentos capaces de producir lesiones necróticas da como resultado la inducción local o sistémica de resistencia. La resistencia sistémica

adquirida (SAR, Systemically Acquired Resistance) es una respuesta de defensa activa, la cual se induce posteriormente a la infección de un patógeno incrementando los contenidos de Ácido Salicílico, el cual es el mensajero primario que a su vez genera una alta expresión de genes PR, los cuales traducen la señal generando metabolitos secundarios que reducen el ataque de los patógenos, limitando el desarrollo de las enfermedades (Glazebrook *et al.*, 2003).

Además del incremento de las concentraciones de AS también se han reportado incrementos en los niveles de proteínas relacionadas a la patogénesis o PR`s. Estas se caracterizan por su bajo peso molecular, resistencia a las proteasas, de localización extracelular y con valores de pH extremos (Van Loon & Van Kammen, 1970).

Se ha comprobado la hipótesis de que la forma libre de AS participa en la activación de la SAR, traduciendo la señal a otros tejidos distantes al sitio de infección, de donde se deriva el nombre de resistencia sistémica (Gaffney *et al.*, 1993; Rairdan & Delaney, 2002; Panina *et al.*, 2005). La ruta de acción para el AS se ha basado en el hallazgo de que se une e inhibe a la enzima catalasa (Chen *et al.*, 1993; Loake & Grant, 2007). La inhibición de la catalasa conduce a un incremento en la concentración del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) o de otras especies reactivas de oxígeno. El H₂O₂ tiene una actividad antibiótica en contra de patógenos, y que algunas otras formas de radicales libres precursores de esta molécula, participan en la activación de otras rutas de defensa contra patógenos (Loake & Grant, 2007).

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar y comparar el contenido Ácido Salicílico (AS) en un Clon resistente (94-03-08) y una variedad susceptible (Lucero) de papa, cultivados en presencia y ausencia de *Phytophthora infestans* (Campo e Invernadero) con aplicaciones del fungicida Zorvec Enicade 500 mL/Ha (30 g/L oxtiapriolin + 300 g/L famoxadona) y sin fungicida. Zorvec Enicade actúa mediante la inhibición de una proteína de unión al oxisterol, con efecto residual y con movimiento sistémico acrópeto (movimiento ascendente) dentro de los tejidos de las plantas tratadas. Debido a su capacidad sistémica ascendente, protege también a los nuevos brotes en el intervalo de aplicación en que se utiliza (DUPONT, 2017).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental y tratamientos

El experimento se estableció tanto en surcos a campo abierto, como en macetas dentro de invernadero. Se estableció un diseño de tratamientos factorial 2³. Los tratamientos se distribuyeron en bloques completamente al azar con 4 repeticiones en cada una de las localidades, para luego evaluar los resultados de manera conjunta asumiendo un diseño de bloques al azar generalizados. El factor ambiente tuvo como niveles invernadero, o en ausencia del patógeno *P. infestans* (Invernadero) y campo, o en presencia del patógeno *P. infestans* (Campo); el factor variedad con los niveles clon resistente (Clon 94-03-08, INIFAP) y variedad susceptible (Lucero) y el factor control de la enfermedad contó con los niveles, sin aplicación (Sin) y con aplicación de fungicida (Con) (Zorvec Enicade, 30 g/L oxtiaprioplin + 300 g/L famoxadona), (Cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de tratamientos

Tratamiento	Ambiente	Variedad	Fungicida
T1	Campo	Clon 94-03-08	Zorvec (500 mL/ha) ^z
T2	Campo	Clon 94-03-08	Sin aplicación
T3	Campo	Lucero	Zorvec (500 mL/ha)
T4	Campo	Lucero	Sin aplicación
T5	Invernadero	Clon 94-03-08	Zorvec (500 mL/ha)
T6	Invernadero	Clon 94-03-08	Sin aplicación
T7	Invernadero	Lucero	Zorvec (500 mL/ha)
T8	Invernadero	Lucero	Sin aplicación

^zLa aplicación de fungicida se realizó semanalmente, a partir del día 38 después de la siembra y un total de 5 aplicaciones

Muestreo

La recolección de tejido fresco para la extracción de AS se realizó una vez por semana, se cortaron hojas maduras de la altura media de las plantas, colocándolas en bolsas completamente cerradas e identificadas previo al transporte al laboratorio, en donde se

continuó con la cadena de frío. Se llevaron a cabo 7 muestreos, el muestreo 1 a los 31 días después de la siembra (aun sin infección) y posteriormente a los 38, 45, 52, 59, 66 y 73 días después de la siembra. Las lecturas de infección se realizaron en las mismas fechas que las de recolección de los tejidos para la cuantificación de AS.

Ácido salicílico

Para la cuantificación de AS se utilizó el método por colorimetría descrito por Warrier *et al.* (2013), con ligeras modificaciones. Se pesaron muestras de tejido vegetal fresco de 50 mg, las cuales se homogenizaron con 5 mL de agua destilada, para luego colocar en tubos de centrifuga. Se centrifugó (Sorvall RC 6+, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts) a 25,000 xg 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 agito y midió la absorbancia de la solución a 540 nm en el espectrofotómetro (Genesys 10 UV Scanning, Thermo scientific, Waltham, Massachusetts). Se realizaron cuatro repeticiones para cada una de las muestras para luego calcular un promedio de los resultados o en ocasiones eliminar el valor más alejado de la media. 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 luego 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 de las muestras.

Porcentaje de infección

La determinación del porcentaje de infección de *P. infestans*, se realizó de manera visual, utilizando las escalas diagramáticas propuestas por Henfling (1987), publicadas por el International Potato Center (CIP). Se tomaron lecturas del porcentaje de infección en 4 plantas al azar (repeticiones) a los 38, 45, 52, 59, 66, 73 y 80 días después de la

siembra, solamente en el bloque establecido bajo condiciones de campo abierto, por ende, en presencia del patógeno de interés.

Análisis estadístico

En análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, 9.4) considerando el modelo estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

En el cual la variable respuesta asociada a la repetición k del tratamiento i en el bloque j ; μ es la media general, τ_i es el efecto del tratamiento i , β_j es el efecto del bloque j , $(\tau\beta)_{ij}$ es el efecto de interacción del tratamiento i con el bloque j , ε_{ijk} y es un término de error supuesto tal que $E(\varepsilon_{ijk}) = 0$, $Var(\varepsilon_{ijk}) = \sigma^2$, siendo variables aleatorias no observables e independientes. Con respecto a los índices se tiene que $i = 1, \dots, 8$; $j = 1, 2$; $k = 1, \dots, 4$.

En este caso los $8=2^3$ tratamientos se obtuvieron a partir de las combinaciones posibles de los niveles de los tres factores estudiados, y el bloque correspondió al ambiente en que realizó el experimento, campo o invernadero. Mediante el análisis de varianza concluyó que algunos efectos de interacción fueron significativos, por lo que el análisis consistió en estudiar los efectos de interacción mediante comparaciones múltiples de las medias respectivas. Mediante límites de confianza basados en el rango estudentizado (prueba de Tukey) y con nivel de significancia $\alpha = 0.05$ se determinó la significancia estadística de las interacciones dobles y triples de los factores evaluados. Además, se realizó un análisis de correlación mediante el cálculo de los coeficientes de correlación de Pearson, para medir la interacción de la variable porcentaje de infección y concentración de AS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones iniciales de AS en el clon resistente establecido en invernadero, fueron relativamente más altas que en el resto de muestreos, tanto en plantas con

fungicida como aquellas que no recibieron aplicación alguna, y su concentración disminuyó con el transcurrir de los días de manera similar para las plantas que recibieron aplicación de fungicida como para las que no recibieron aplicación de fungicida (Figura 4b y 4d).

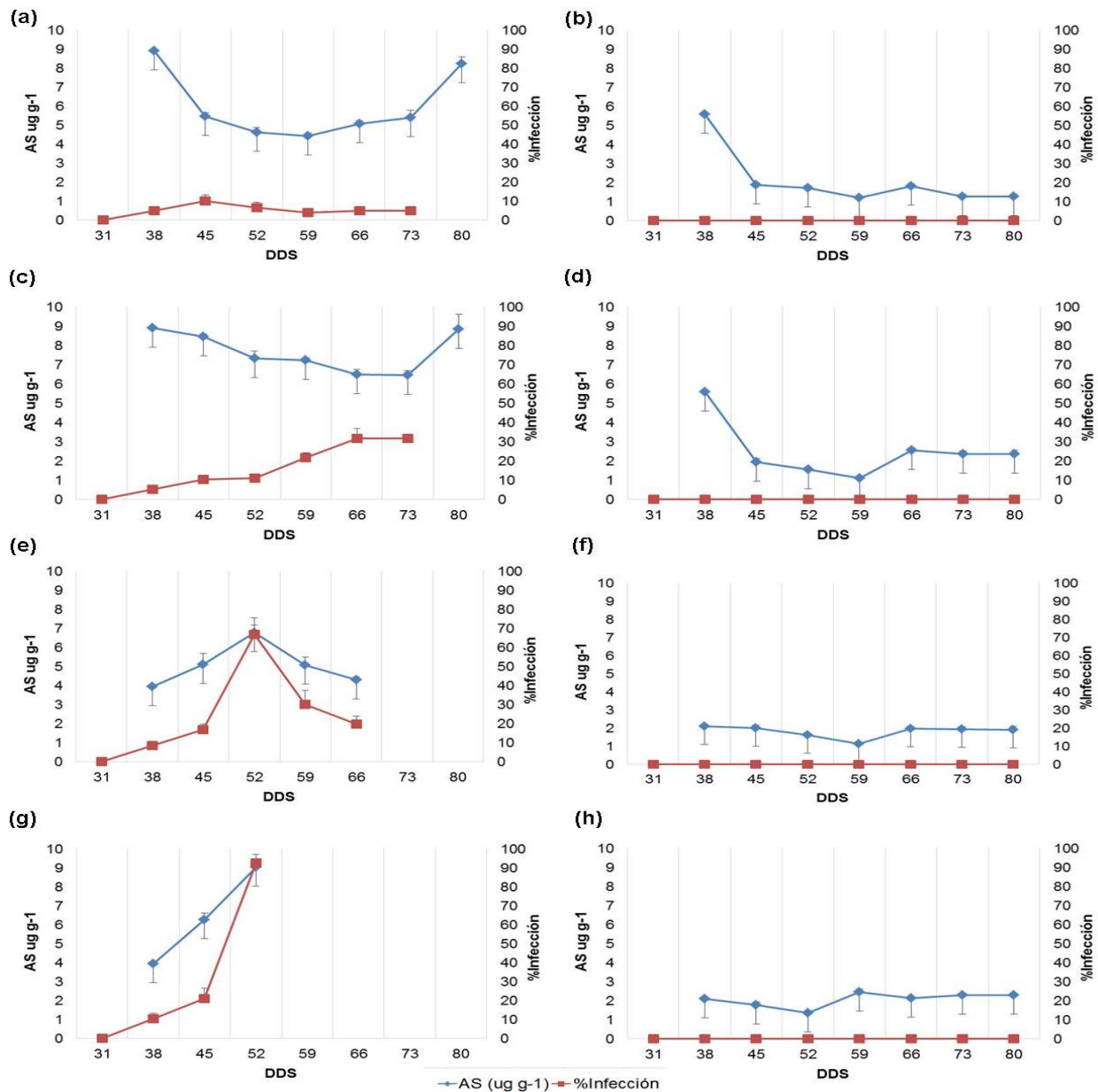


Figura 4. Concentración de AS y % de Infección en las diferentes fechas de muestreo.

^z(a) Campo*Clon*Con; (b) Invernadero*Clon*Con; (c) Campo*Clon*Sin; (d) Invernadero*Clon*Sin; (e) Campo*Lucero*Con; (f) Invernadero*Lucero*con; (g) Campo*Lucero*Sin; (h) Invernadero*Lucero*Sin.

La concentración de AS en la variedad susceptible dentro del invernadero, no mostró cambios significativos a través del tiempo (Figura 4f y 4h), manteniendo niveles relativamente bajos ($1.93 \mu\text{g g}^{-1}$).

Como era de esperarse, el porcentaje de infección tanto para la variedad susceptible como para la resistente fue de 0 durante los muestreos realizados, esto demuestra que el fungicida no influye de forma directa en la síntesis de AS en las plantas, y que la activación de la defensa de las plantas es dependiente de la infección de *F. infestans* (Thomas et. al 2018). Además que la disminución de la concentración en plantas infectadas por el patógeno se debe al control de la enfermedad, reduciendo la necesidad de defenderse de manera natural causando variaciones en la concentración de AS en los tejidos.

Ácido salicílico

Los límites de confianza para las variedades Clon y Lucero, mostraron significancia estadística ($\alpha \leq 0.05$), siendo los tratamientos con el nivel de variedad resistente “Clon” los que presentaron la mayor expresión de AS (T1, T2, T5 y T6) y estadísticamente diferentes a los tratamientos con el nivel de variedad susceptible “Lucero” (T3, T4, T7 y T8) según la prueba múltiple de medias de Tukey ($\alpha \leq 0.05$) (Cuadro 2a). Esto puede explicar la resistencia del clon al ataque de *P. infestans*.

Los límites de confianza para los diferentes niveles de la interacción de Ambiente*Variedad, mostraron ser estadísticamente significativos ($\alpha = 0.05$) siendo la concentración de AS de la interacción del nivel del factor ambiente “Campo” y del nivel del factor variedad “Clon” superior y estadísticamente diferente al resto según la prueba múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 2b).

Se registró significancia estadística ($\alpha = 0.05$) para los límites de confianza de cada uno de los niveles de la interacción Ambiente*Variedad*Fungicida. La concentración de AS en las plantas, fue mayor y estadísticamente diferente al resto en las interacciones de los niveles Campo*Clon*Sin (T2) y en los niveles Campo*Clon*Con (T1) según la prueba múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 2c).

Cuadro 2. Prueba múltiple de medias de Tukey para la variable concentración de AS ($\mu\text{g g}^{-1}$); (a) para el factor Variedad; (b) para la interacción Ambiente*Variedad; (c) para la interacción Ambiente*Variedad*Fungicida.

(a) Variedad		Estimación		
Clon		4.756	a	
Lucero		2.396		B
(b) Ambiente	Variedad	Estimación		
Campo	Clon	6.850	a	
Campo	Lucero	2.853		B
Invernadero	Clon	2.661		B
Invernadero	Lucero	1.939		B
(c) Ambiente	Variedad	Fungicida	Estimación	
Campo	Clon	Sin	7.686	a
Campo	Clon	Con	6.015	a
Campo	Lucero	Con	3.603	B
Invernadero	Clon	Con	2.826	B
Invernadero	Clon	Sin	2.498	B
Campo	Lucero	Sin	2.104	B
Invernadero	Lucero	Sin	2.064	B
Invernadero	Lucero	Con	1.816	B

²Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha = 0.05$)

A pesar de que el Clon presento un valor de concentración mayor, bajo condiciones de invernadero con y sin la aplicación de fungicida (2.82 y $2.49 \mu\text{g g}^{-1}$) que la variedad susceptible (2.06 y $1.81 \mu\text{g g}^{-1}$), la síntesis no se incrementó de manera significativa hasta que existió la infección del patógeno *P. infestans* (Campo), activando los mecanismos de defensa y la síntesis de AS.

Porcentaje de infección

Los límites de confianza ($\alpha = 0.05$) establecidos para los niveles del factor variedad (Clon y Lucero) mostraron ser estadísticamente significativos, siendo la variedad susceptible “Lucero” el que presento el mayor grado de infección y estadísticamente

diferente a la variedad resistente “Clon” según la prueba múltiple de medias de Tukey (Cuadro 3a).

Cuadro 3. Prueba múltiple de medias de Tukey para la variable porcentaje de infección (a) para el factor Variedad; (b) para la interacción Ambiente*Variedad; (c) para la interacción Ambiente*Variedad*Fungicida.

(a) Variedad		Estimación		
Lucero		20.937	a	
Clon		5.2634		B
(b) Ambiente	Variedad	Estimación		
Campo	Lucero	41.8741	a	
Campo	Clon	10.5268		b
Invernadero	Lucero	2.66E-15		C
Invernadero	Clon	-2.66E-17		C
(c) Ambiente	Variedad	Fungicida	Estimación	
Campo	Lucero	Sin	60.6232	A
Campo	Lucero	Con	23.125	b
Campo	Clon	Sin	16.035	b c
Campo	Clon	Con	5.0179	c D
Invernadero	Lucero	Sin	9.57E-15	D
Invernadero	Clon	Con	6.92E-16	D
Invernadero	Lucero	Con	-424E-15	D
Invernadero	Clon	Sin	-602E-17	D

^zMedias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha = 0.05$)

Los límites de confianza ($\alpha = 0.05$) para la interacción de los diferentes niveles de los factores Ambiente*Variedad, mostraron ser estadísticamente significativos para la interacción de los niveles Campo*Clon y Campo*Lucero, ya que en ausencia del patógeno (Invernadero) no existió infección, y por lo tanto los valores de porcentaje de infección son cero para ambas variedades. El mayor porcentaje de infección se registró en la variedad susceptible “Lucero” expuesta a las condiciones de campo (presencia de *P. infestans*), siendo este valor estadísticamente diferente al resto ($\alpha = 0.05$), seguido

por la variedad resistente “Clon” establecido en el ambiente de cultivo de campo (Cuadro 3b).

Se registró significancia estadística ($\alpha = 0.05$) para los límites de confianza de los niveles de las interacciones triples Campo*Clon*Sin (T2), Campo*Lucero*Sin (T4) y Campo*Lucero*Con (T3). El porcentaje de infección de las plantas por *P. infestans*, fue mayor y estadísticamente diferente al resto de las interacciones, en la interacción con los niveles de los factores Campo*Lucero*Sin (T4), según la prueba múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 3c). Las plantas susceptibles recibieron un mayor daño de la enfermedad al no recibir la aplicación de un fungicida para el control del patógeno, ocasionando a los 52 días después de siembra, la muerte de las plantas (Figura 4, g).

Análisis de correlación

El análisis de correlación se realizó para las variables concentración de AS y porcentaje de infección, a los tratamientos establecidos en campo y por ende en presencia del patógeno *P. infestans*. Para la variedad resistente “Clon”, únicamente se registró significancia estadística para el tratamiento que no recibió aplicación de fungicida, siendo este coeficiente de valor negativo. Esto explica que, al momento de incrementar el porcentaje de infección en el material resistente, se reduce la concentración de AS de manera inversamente proporcional y en las plantas que recibieron aplicación de fungicida, el AS se incrementó al igual que el porcentaje de infección (Figura 4a y 4c). Kawano and Furuichi (2007) describen que el AS sintetizado en la planta al no verse volatilizado en forma de ASme, se puede conjugar con azúcares (SAG; Ácido Salicílico β -glucósido). En las plantas tratadas con fungicida (T1), los niveles se incrementaron ya que a pesar de que se sintetizara AS este no fue utilizado por la planta ya que de manera exógena se estaba haciendo el control del patógeno mediante el control químico, mientras que en las plantas sin aplicación de fungicida (T2) la concentración de AS disminuyó de manera inversamente proporcional, lo que puede explicar la resistencia de la variedad a la infección de *P. infestans*, y que la mayoría del AS sintetizado se volatilizó en su forma libre (ASme) para generar una respuesta de SAR

para reducir el desarrollo del patógeno en los tejidos adyacentes de las plantas infectadas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Coeficientes de correlación (r) entre variables porcentaje de Infección y AS ($\mu\text{g g}^{-1}$) para los tratamientos establecidos en campo.

Interacción	Tratamiento	Variedad	Fungicida	Correlación
Infección/AS	T1	Clon	Con	0.7863
	T2	Clon	Sin	-0.8488*
	T3	Lucero	Con	0.8749*
	T4	Lucero	Sin	0.9470*

*Significancia estadística p valor <0.001

La variedad susceptible, registró significancia estadística en los coeficientes de correlación tanto para las plantas tratadas con fungicida (T3) y las plantas tratadas sin fungicida (T4) siendo los valores positivos para ambos casos, lo que sugiere que la concentración de AS se vió incrementada de manera proporcional a medida que el porcentaje de infección de la enfermedad aumenta (Figura 4e y 4g), pero sin conferirle resistencia ni ventaja alguna con su síntesis (Cuadro 4). Thomas *et al.* (2018), demostraron que el pre-tratamiento genotipos susceptibles de concentrados de cultivos filtrados de *P. infestans*, generan la defensa rápida de las plantas de papa, reduciendo la patogénesis de la enfermedad, sugiriendo que luego de elicitar genes de resistencia PR-1, PR-4, la PAL, POX (peroxidasa), y THT (tiramina hidroxycinamoil transferasa), todas estas rutas de defensas son dependientes del desarrollo del tizón tardío y que su inducción depende de una inducción en cadena y no solo de una de ellas.

Navarre & Mayo (2004) explican que para que la señal mediada por el AS cobre efecto sobre la reducción de la infección del patógeno, la variedad debe de poseer los genes de resistencia *PR-1* para que sean estimulados por la señal del AS, y así se sintetizen proteínas relacionadas a la patogénesis (PR's) que limiten el desarrollo de la enfermedad. A pesar de que las cantidades de AS se incrementan al igual que el porcentaje de infección de la enfermedad, no se genera la resistencia al patógeno, lo

que puede explicar la susceptibilidad de la variedad Lucero a *P. infestans*, y en caso contrario la presencia de los genes de resistencia que codifiquen para metabolitos secundarios responsables de la resistencia de la variedad resistente los cuales limiten el desarrollo de la enfermedad.

DISCUSIÓN GENERAL

Las plantas de la variedad Clon resistente establecido en campo y por lo tanto en presencia de *P. infestans* y sin aplicación de fungicida, concentraron una mayor cantidad de AS a diferencia de los demás tratamientos, seguido por el Clon resistente establecido en campo con aplicaciones de fungicida, luego la variedad susceptible Lucero establecida en campo con y sin aplicación de fungicidas, seguido del Clon resistente establecido en invernadero con y sin aplicación de fungicida y por último la variedad susceptible establecida en invernadero con y sin la aplicación de fungicida. La concentración de AS disminuyó a medida que se realizaron las aplicaciones de fungicida y así el control de la enfermedad, en aquellos tratamientos establecidos en campo. El porcentaje de infección de *P. infestans* fue mayor en las plantas de la variedad susceptible Lucero sin aplicación de fungicida y con aplicación de fungicida establecidas en campo seguido del Clon resistente sin aplicación y con aplicación de fungicida establecidos en presencia del patógeno. La concentración de AS se incrementó de forma directamente proporcional al porcentaje de infección en la variedad susceptible Lucero establecida en campo sin aplicación de fungicida e inversamente proporcional en el Clon resistente establecido en el mismo ambiente de cultivo sin aplicación de fungicida.

A diferencia de otras especies, el cultivo de papa muestra diferencias en cuanto a la expresión de la señalización mediada por AS, como alta concentración de AS y expresión de genes PR de manera natural, a diferencia de estudios realizados en tabaco y *Arabidopsis* (Navarre & Mayo, 2004). Panina *et al.* (2005) demostraron por medio de ensayos en porciones de tubérculos de papa inoculados con zoosporas de *P. infestans* y una raza incompatible (10^4 /mL), que la concentración de AS era 6 veces mayor en la raza incompatible y además que por sí solo no induce la SAR, pero si

promueve la resistencia de los tejidos posteriormente al ataque de la enfermedad, luego de generarse la muerte celular de una porción de tejidos.

Las rutas de la resistencia sistémica adquirida (SAR), están mediadas por el AS, los jasmonatos y el etileno, causando alteraciones en la expresión de genes (Glazebrook, *et al.*, 2003; Panina, *et al.*, 2005). Además de estar relacionado en la expresión de genes de resistencia (genes PR) el AS es el principal regulador de la ruta de señalización de la SAR, y a pesar que no se conoce con certeza todo su proceso, se conoce que la gran mayoría de los genes PR se expresan durante el proceso de resistencia e interacción de las plantas a distintos patógenos (Maleck, *et al.*, 2000). Klessig and Malamy (1994), demostraron que el AS inhibe la acción de la catalasa lo que podría conducir a un incremento en la concentración del peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y/o de otras especies reactivas de oxígeno (Figura 5).

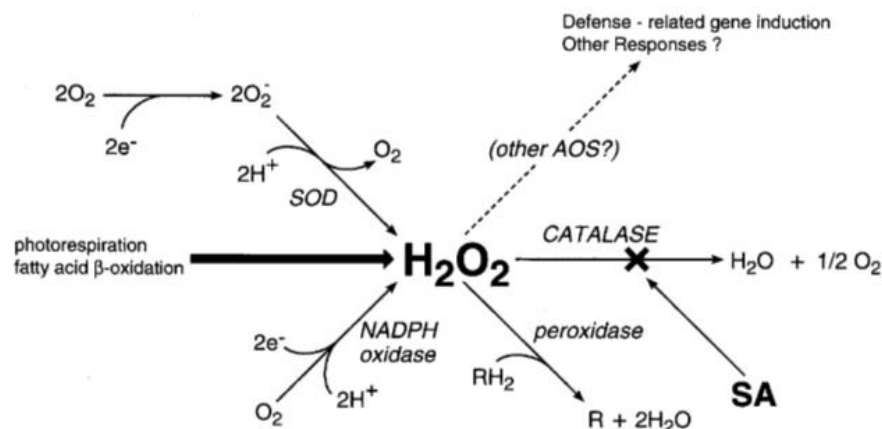


Figura 5. Metabolismo del peróxido de hidrogeno (H_2O_2) en plantas.

Fuente: Klessig and Malamy, 1994.

El peróxido de hidrógeno posee una acción antimicrobiana, y además sus intermediarios podrían incrementar la expresión de genes PR y por ende la cascada de señalización de resistencia sistémica adquirida (SAR), lo cual reduciría el desarrollo de ciertos patógenos. Ensayos en el cultivo de tabaco, han demostrado que el AS activa a la proteína kinasa, y que dicha activación es la responsable de diferentes respuestas de defensa en las plantas, incluyendo la SAR (Zhang & Liu, 2001).

Forohuar (2005) sugirió que formas del AS como el metil salicílico (MeSA), es empleado por las plantas para la resistencia local, gracias a una mayor permeabilidad en las membranas celulares en los tejidos cercanos, y que su forma básica (AS) sí induce las respuestas de SAR. Estudios han demostrado que el AS es transportado por el floema, a tejidos distantes al que se ha producido la infección de un patógeno, y que el bloqueo del transporte por el floema reduce las respuestas de defensa en especial la SAR (Delaney, 2004). En otros estudios en los cultivos de pepino y tabaco, se ha demostrado que el AS se transporta a través del floema, desde los tejidos basales infectados por patógenos, encontrando concentraciones similares en las diferentes porciones de tejidos de las plantas.

El desarrollo de *P. infestans*, se vió reducido a pequeños porcentajes de infección, además de encontrarse importantes concentraciones de AS en el Clon resistente a diferencia de la variedad susceptible Lucero que presentó altos porcentajes de infección y menor concentración de AS, por lo que se puede afirmar que la resistencia de la variedad Clon a dicha enfermedad está dada por la SAR inducida por el AS, y que además se sugiere que dentro de su genoma, posee genes PR que al ser activados intensifican la resistencia a dicho patógeno como lo menciona Navarre & Mayo (2004). No obstante, en la variedad susceptible Lucero, a pesar de que se encontraron concentraciones considerables de AS luego de la infección del patógeno, se puede apuntar a que no cuenta con genes PR que limiten el desarrollo de la enfermedad, ocasionando la muerte de todas las plantas que no recibieron aplicación alguna de fungicida.

Además se encontró que el fungicida Zorvec Enicade (30 g/L oxtiapripolin + 300 g/L famoxadona) no induce la biosíntesis de AS tanto en el Clon resistente como en la variedad susceptible Lucero, en presencia y en ausencia de *P. infestans*, y que al contrario reduce la concentración del mismo al controlar el desarrollo de la enfermedad en las hojas infectadas.

CONCLUSIONES

La resistencia a *P. infestans* del Clon resistente, esta mediada por la rápida síntesis de AS y a los posibles genes de resistencia responsables de la respuesta de defensa SAR, mientras que la variedad susceptible Lucero a pesar de que sintetizó niveles importantes de AS con y sin aplicación de Fungicida (2.1 y 3.6 $\mu\text{g g}^{-1}$) no fue capaz de presentar resistencia al ataque del patógeno.

La concentración de AS, se vió incrementada tanto en el Clon resistente como en la variedad susceptible Lucero cultivados en condiciones de campo en presencia de *P. infestans*, en comparación de aquellas plantas cultivadas en invernadero y en ausencia del patógeno.

Las aplicaciones de fungicida Zorvec Enicade (30 g/L oxtiapriolin + 300 g/L famoxadona), redujeron la concentración de AS significativamente en los dos materiales, debido al control del patógeno *P. infestans*. Esto pudiera deberse a que al eliminarse la amenaza y la presencia del tizón en la planta, ésta no sintetizó AS por ausencia de infección.

BIBLIOGRAFÍA

- Calatayud, A. and Barreno, E. (2001). Chlorophyll a fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. *Environmental Pollution* 115: 283-289.
- Chen, Z., Silva, H. and Klessig, D.F. (1993). Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance induced by salicylic acid. *Science*, 262: 1883-1886.
- De Wit, P. (1997). Pathogen avirulence and plant resistance: a key role for recognition. *Trends in Plant Science* 2: 452-458.
- Delaney, T. (2004). Salicylic acid, *In*: Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action!, Davies, P. J. (Ed.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, pp. 635-653.

- Díaz de la Cruz, C., Lozoya-Saldaña, H., Sahagún-Castellanos, J., Peña-Lomelí A. (2014). The Pathosystem *Solanum tuberosum* L.-*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Chapingo, Mexico. Expected, Observed, and Simulated. Am. J. Potato Res. 91:312–326.
- DUPONT MÉXICO (2017). Homero Núm. 206, Col. Chapultepec Morales, 11570 México, D.F. www.productosagricolas.dupont.com.mx
- Durner, J., and Klessig, D.F. (1996). Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalases, J. Biol. Chem., 272: 28492-28501.
- Escalante Ortiz, M., & Farrera Pino, R. (2004). Epidemiología del tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont de Bary) de la papa en zonas productoras del Estado Táchira, Venezuela. Bioagro, 16(1): 47-54.
- Forouhar, F., Yang, Y., Kumar, D., Chen, Y., Fridman, E., Park, S. W., Chiang, Y., Acton, T.B., Montelione, G. T., Pichersky, E., Klessig, D. F., and Tong, L. (2005). Structural and biochemical studies identify tobacco SABP2 as a methyl salicylate esterase and implicate it in plant innate immunity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 102: 1773-1778.
- Gaffney, T., Friedrich, L., Vernooij, B., Negroto, D., Nye, G., Uknes, S., Ward, E., Kessmann, H., and Ryals, J. (1993). Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance, Science, 26: 754–756.
- Glazebrook, J., Chen, W., Estes, B., Chang, H.S., Nawrath, C., Metraux, J.P. (2003). Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. Plant J; 34(2):217–28.
- Henfling, J. W. (1987). Late Blight of potato: *Phytophthora infestans*. Technical Information Bulletin 4. International Potato Center, Lima, Peru. 25 p.
- Hammerschmidt, R. (1999). Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens. Physiological and Molecular Plant Pathology 55:77-84.
- Horton, D. (2016). Las papas en los países en desarrollo. Revista Latinoamericana de la papa, 1(1), 9-17.

- Judelson, H.S. (2014). *Phytophthora infestans*. In: Dean R., Lichens-Park A., Kole C. (eds) Genomics of Plant-Associated Fungi and Oomycetes: Dicot Pathogens. Springer, Berlin, Heidelberg. pp 175-208.
- Kawano, T., Furuichi, T. (2007). Salicylic acid as a defense-related plant hormone. Roles of oxidative and calcium signaling paths In: salicylic acid biology. pp 277-321.
- Klessig, D. F. and Malamy, J. (1994). The salicylic acid signal in plants. Plant Molecular Biology 26: 1439-1458.
- Loake, G. & Grant, M. (2007). Salicylic acid in plant defence-the players and protagonists. Current Opinion in Plant Biology. 10: 466-472.
- Maleck, K., Levine, A., Eulgem, T., Morgan, A., Schmid, J., Lawton, K.A. (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. Nat Genet 2000;26:403–10.
- Navarre, D. and Mayo, D. (2004). Differential characteristics of salicylic acid-mediated signaling in potato. Physiological and Molecular Plant Pathology 64; 179–188
- Panina, G., Gerasimova, G., Chalenko, N., Vasyukova, and Ozeretskovskaya, L. (2005). Salicylic Acid and Phenylalanine Ammonia-Lyase in Potato Plants Infected with the Causal Agent of Late Blight. Russian Journal of Plant Physiology, 52(4): 511–515.
- Rairdan, G., Delaney, T. (2002). Role of salicylic acid and NIM1/NPR1 in race-specific resistance in *Arabidopsis*. Genetics, 161: 803–11.
- Robledo-Esqueda, M. N., Lozoya-Saldaña, H., & Colinas-León, M. T., (2012). Inducción de defensa en papa (*Solanum tuberosum* L.) contra *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary por fungicidas. Interciencia, 37(9); 689-695.
- Rocha, R., y Quijano, J. (2015). Producción de Papa en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Celaya, GTO., México. 72: 4-15.

- Serrano-Cervantes, R., Lozoya-Saldaña, H., Colinas-León, M. A. y Leyva-Mir, G. (2016). Algunas alteraciones enzimáticas en papa causadas por fungicidas. *Rev. Fitotec. Mex*, 39 (1): 25 – 31.
- Thomas, C., Mabon, R., Andrivon, D., Val, F. (2018). The effectiveness on induced defense responses in a susceptible potato genotype depends on the growth rate of *Phytophthora infestans*. DOI: <https://doi.org/10.1094/mpmi-03-18-0064-R>
- Van Loon, L.C. and Van Kammen, RT. (1970). Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var "Samsun NN". Changes in proteins constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology* 40:199-211.
- Warrier, R.R.*, Paul, M. and Vineetha, M. (2013). Estimation of salicylic acid in eucalyptus leaves using spectrophotometric methods. *Genetics and Plant Physiology*, 3: 90–97
- Zhang, S. and Liu, Y. (2001). Activation of salicylic acid-induced protein kinase, a mitogenactivated protein kinase, induces multiple defense responses in tobacco. *Plant Cell*, 13: 1877-1889.

APÉNDICES

Apéndice 1. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos

Cuadro 5. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos, para variable concentración de AS del factor Variedad.

Variedad	Estimación	Error estándar	t valor	Pr > t	Alfa	Inferior	Superior
Clon	4.756	0.2206	21.56	<.0001	0.05	4.321	5.190
Lucero	2.396	0.2206	10.87	<.0001	0.05	1.962	2.831

*Significancia estadística p valor <0.0001

Cuadro 6. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos, para variable concentración de AS de la interacción de los factores Ambiente*Variedad.

Ambiente	Variedad	Estimación	Error estándar	t valor	Pr > t	Alfa	Inferior	Superior
Campo	Clon	6.850	0.311	21.96	<.0001	0.05	6.235	7.465
Campo	Lucero	2.853	0.311	9.15	<.0001	0.05	2.238	3.468
Invernad	Clon	2.661	0.311	8.53	<.0001	0.05	2.046	3.276
Invernad	Lucero	1.939	0.311	6.22	<.0001	0.05	1.325	2.554

*Significancia estadística p valor <0.0001

Cuadro 7. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos, para variable concentración de AS de la interacción de los factores Ambiente*Variedad*Fungicida.

Ambien	Variedad	Fun	Estimación	Error estándar	t valor	Pr > t	Alfa	Inferior	Superior
Campo	Clon	Con	6.015	0.441	13.64	<.0001	0.05	5.146	6.885
Campo	Clon	Sin	7.686	0.441	17.42	<.0001	0.05	6.817	8.556
Campo	Lucero	Con	3.603	0.441	8.17	<.0001	0.05	2.734	4.472
Campo	Lucero	Sin	2.105	0.441	4.77	<.0001	0.05	1.235	2.974
Invern	Clon	Con	2.826	0.441	6.41	<.0001	0.05	1.956	3.695
Invern	Clon	Sin	2.498	0.441	5.66	<.0001	0.05	1.628	3.367
Invern	Lucero	Con	1.816	0.441	4.12	<.0001	0.05	0.947	2.685
Invern	Lucero	Sin	2.064	0.441	4.68	<.0001	0.05	1.194	2.933

*Significancia estadística p valor <0.0001

Cuadro 8. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos, para variable porcentaje de infección del factor Variedad.

Variedad	Estimación	Error estándar	t valor	Pr > t	Alfa	Inferior	Superior
Clon	5.263	1.700	3.1	0.0022	0.05	1.913	8.614
Lucero	20.937	1.700	12.32	<.0001	0.05	17.587	24.287

*Significancia estadística p valor <0.0001

Cuadro 9. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos, para variable porcentaje de infección de la interacción de los factores Ambiente*Variedad.

Ambiente	Variedad	Estimación	Error estándar	t valor	Pr > t	Alfa	Inferior	Superior
Campo	Clon	10.5268	2.404	4.38	<.0001	0.05	5.789	15.265
Campo	Lucero	41.8741	2.404	17.42	<.0001	0.05	37.136	46.612
Invernad	Clon	-2.66E-15	2.404	0	1	0.05	-4.738	4.738
Invernad	Lucero	2.66E-15	2.404	0	1	0.05	-4.738	4.738

*Significancia estadística p valor <0.0001

Cuadro 10. Límites de confianza de medias de cuadrados mínimos, para variable porcentaje de infección, de la interacción de los factores Ambiente*Variedad*Fungicida.

Ambien	Variedad	Fun	Estimación	Error estándar	t valor	Pr > t	Alfa	Inferior	Superior
Campo	Clon	Con	5.017	3.400	1.48	0.1414	0.05	-1.683	11.719
Campo	Clon	Sin	16.035	3.400	4.72	<.0001	0.05	9.335	22.736
Campo	Lucero	Con	23.125	3.400	6.8	<.0001	0.05	16.424	29.826
Campo	Lucero	Sin	60.6232	3.400	17.83	<.0001	0.05	53.923	67.324
Invern	Clon	Con	6.92E-16	3.400	0	1	0.05	-6.701	6.701
Invern	Clon	Sin	-6.02E-15	3.400	0	1	0.05	-6.701	6.701
Invern	Lucero	Con	-4.24E-15	3.400	0	1	0.05	-6.701	6.701
Invern	Lucero	Sin	9.57E-15	3.400	0	1	0.05	-6.701	6.701

*Significancia estadística p valor <0.0001