

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA
AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN PROTECCIÓN VEGETAL

EVALUACIÓN DE CLONES DE PAPA (*Solanum
tuberosum* L.) PARA LA RESISTENCIA CONTRA EL
TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans* Mont de Bary),
EN TOLUCA, MEX.

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

PRESENTA:

AVILA PEREZ MARICELA



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

Chapingo, México, agosto de 2008.

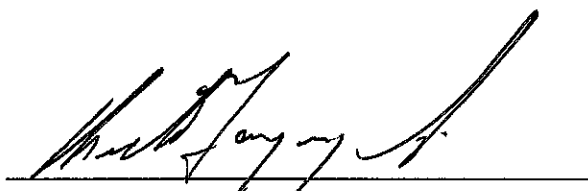


Esta tesis realizada por Maricela Avila Pérez, titulada “EVALUACIÓN DE CLONES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) PARA LA RESISTENCIA CONTRA EL TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans* Mont de Bary)”, fue dirigida por el Dr. Héctor Lozoya Saldaña; ha sido revisada y aprobada por el siguiente jurado examinador, como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

JURADO

DIRECTOR



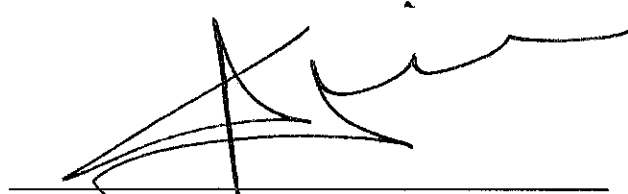
Ph. DR. HECTOR LOZOYA SALDAÑA

ASESOR



Ph. DR. MARIA TERESA COLINAS LEÓN

ASESOR:



DR. VICTOR MANUEL PINTO

Chapingo, México, julio de 2008

AGRADECIMIENTOS

A mi **Dios Jesús**, aunque ande en valle de sombra no temeré mal alguno por que tú estas conmigo.

A la **Universidad Autónoma Chapingo** y a los Departamentos de **Fitotecnia y Parasitología Agrícola**, porque he surcado mi camino profesional en sus aulas y pasillos.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por el otorgamiento de la beca para poder realizar los estudios de Maestría en Ciencias.

Al **Ph. Dr. Héctor Lozoya Saldaña**, por el apoyo en la dirección de esta tesis, además de la paciencia y amabilidad que siempre me ha otorgado.

A la **Ph. Dr. María Teresa Colinas León** y el **Dr. Victor Manuel Pinto**, por su participación en la revisión y sugerencias para la mejoría de este trabajo.

Al **M. C. Royman Montejo Córdova** y el **Ing. Marco Polo Castro Ceronio** por el apoyo en la parte estadística de este trabajo.

Al personal del Laboratorio de Usos Múltiples de Fitotecnia, gracias por su apoyo y sugerencias.

Especialmente a mis padres **Martín Avila** y **Teresa Pérez** y a mis hermanos **Ramón, Sofy, Lucy, Eli y Dide** por ser siempre mi apoyo incondicional (los amo).

DATOS BIOGRAFICOS DEL AUTOR

Maricela Avila Pérez, nació el 14 de julio de 1980, en el Municipio de Chiconcuac, Estado de México. Durante el periodo 1995-1998 cursó la Preparatoria Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, donde también concluyó la carrera obteniendo el título de Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia (Generación 1998 – 2002).

En el periodo del 2003 al 2005, trabajó en la Unidad de Investigación, Capacitación y Evaluación para el Desarrollo Rural S. C. (UNICEDER S. C.), recopilando y procesando datos de campo para la evaluación externa de distintos programas gubernamentales a nivel nacional.

Del periodo 2005-2007 cursa la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, en la Universidad Autónoma Chapingo.

A partir del junio de 2007 a la fecha colabora en Grupo Gaia, Extensionismo Agrícola, en el Estado de Tlaxcala, donde imparte asesoría técnica y financiera a grupo de productores que se dedican al cultivo de trigo, maíz, cebada y triticale.

INDICE GENERAL

	Págs.
INDICE DE CUADROS.....	iv
INDICE DE FIGURAS.....	v
INDICE DE ANEXOS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo general.....	2
2.2. Objetivos específicos.....	2
3. HIPÓTESIS.....	2
4. REVISION DE LITERATURA.....	3
4.1. Importancia del cultivo de papa (<i>Solanum tuberosum</i>).....	3
4.1.1. Problemas fitosanitarios de <i>Solanum tuberosum</i>	4
4.1.2. Principales plagas de <i>Solanum tuberosum</i>	5
4.2. Resistencia de las plantas a nfermedades.....	6
4.2.1. Resistencia Específica a razas de <i>P. nfestans</i>	8
4.2.2. Resistencia adquirida local y sistémica.....	12
4.2.3. Transducción de señales en la RA.....	15
4.2.4. Resistencia parcial o cuantitativa (Resistencia de campo).....	16
4.3. Mecanismos de defensa de las plantas.....	16
4.3.1. Bioquímicas.....	17
4.3.1.1. Fitoalexinas.....	17
4.3.1.2. Compuestos fenólicos.....	20

4.3.1.3. Actividad de Peroxidasa EC 1.11.1.7 (POX).....	23
4.3.1.4. Actividad de Superóxido dismutasa EC 1.15.1.1 (SOD).....	25
4.3.1.5. Actividad de Fenilalanina amonio-liasa EC.4.3.1.5 (PAL).....	25
5. MATERIALES Y METODOS.....	29
5.1. Material vegetal.....	29
5.2. Variables evaluadas.....	29
5.3. Fase de campo.....	29
5.4. Fase de laboratorio.....	30
5.4.1. Polvo de acetona.....	31
5.4.2. Determinación de Fenoles totales.....	31
5.4.3. Determinación de la Actividad de Peroxidasa EC.1.11.1.7 (POX).....	32
5.4.4. Determinación de la Actividad de Superóxido Dismutasa EC.1.15.1.1 (SOD)	32
5.4.5. Determinación de la Actividad de Fenilalanina amonio-liasa EC.4.3.1.5. (PAL).....	33
5.5. Análisis de resultados.....	34
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
6.1. Resistencia a <i>Phytophthora infestans</i>	40
6.2. Rendimiento por familia.....	40
6.3. Clones seleccionados para la determinación de enzimas.....	42
6.4. Determinación de las enzimas..	43
6.4.1. Fenoles totales.....	43
6.4.2. Actividad de Peroxidasa EC.1.11.1.7 (POX).....	45
6.4.3. Actividad de Superóxido Dismutasa EC.1.15.1.1 (SOD).....	46

6.4.4. Actividad de Fenilalanina amonio-lias EC.4.3.1.5 (PAL).....	47
6.5. Análisis de correlación de las variables.....	49
6.5.1. Correlación entre familias.....	49
6.5.2. Correlación dentro de familias.....	51
7. DISCUSION GENERAL.....	54
8. CONCLUSIONES.....	55
9. LITERATURA CITADA.....	56

INDICE DE CUADROS

	Págs.
Cuadro 1. Producción agrícola 2006.....	4
Cuadro 2. Cruzas y clones a evaluar para resistencia a tizón tardío de la papa en el campo agrícola experimental ICAMEX-PICTIPAPA, Metepec, Estado de México. Verano del 2006.	30
Cuadro 3. Rango de infección de <i>P. infestans</i> en la parte aérea (tallo y follaje) de plantas de papa por familia.....	39
Cuadro 4. Peso (g) de los tubérculos de papa de los tubérculos evaluados	40
Cuadro 5. Clones seleccionados para las pruebas de laboratorio.	43
Cuadro 6. Correlaciones de las variables evaluadas entre familias seleccionada..	49
Cuadro 7. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 243.....	51
Cuadro 8. Correlaciones de las variables evaluadas de peso fresco en follaje de los entre clones de la Familia 249.....	52
Cuadro 9. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 255.	52
Cuadro 10. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 270.	53
Cuadro 11. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 278.	53
Cuadro 12. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 319.	54

INDICE DE FIGURAS

	Págs.
Figura 1. Curva del Tizón Tardío de papa variedad alfa.....	35
Figura 2. Panorama general del lote con los clones. Toluca-Metepec, Mex. 2006.....	36
Figura 3. Panorama de las plantas muestreadas en campo para el análisis de laboratorio.....	37
Figura 4. Tubérculos de los clones de la Familia 243.....	41
Figura 5. Tubérculos de los clones la Familia 270.....	41
Figura 6. Concentraciones de fenoles totales en mg g^{-1} de peso fresco en follaje.....	44
Figura 7. Actividad enzimática de Peroxidasa (POX) en U g^{-1} de peso fresco en follaje de los clones seleccionados.....	46
Figura 8. Actividad enzimática de Superoxido de Dismutasa (SOD) en U g^{-1} de peso fresco.	47
Figura 9. Actividad enzimática de Fenilalanina amonio-liasa (PAL) en U g^{-1} de peso fresco en follaje de los clones seleccionados.....	48
Figura 10. Condiciones meteorológicas imperantes durante el ciclo de cultivo de los lotes experimentales del presente reporte (verano del 2006, estación meteorológica propia). Humedad barras parte superior, temperatura y nubosidad parte inferior.....	68

INDICE DE ANEXOS

Págs.

ANEXO I: Temperatura, humedad y precipitación..... 68

ANEXO II: Salida del programa SPSS del ANOVA y Coeficiente de
Regresión..... 69

EVALUACIÓN DE CLONES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) PARA RESISTENCIA CONTRA TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans* Mont de Bary) EN TOLUCA, MEXICO

POTATOES (*Solanum tuberosum* L.) CLONE RESISTANCE EVALUATION AGAINST BREEDING (*Phytophthora infestans* Mont de Bary) IN TOLUCA, MEXICO

Maricela Avila-Pérez¹ y Héctor Lozoya-Saldaña²

RESUMEN

Con el fin de identificar la resistencia a *Phytophthora infestans* Mont de Bary en clones de papa (*Solanum tuberosum* L.), se expuso al material vegetal a la infección natural y sin protección química en el Valle de Toluca, Méx. En el campo sobrevivió una mínima población (8 %), sobresaliendo las familias 243, 270, 282, 278 y 319, con hasta 40 % de infección foliar final, identificándose dos progenitores comunes; el A096850-1 y el A096781-1. Las familias 243, 249, 300, 329 y 333 obtuvieron la mayor cantidad de clones con peso superior a 500 g/planta. Como complemento al estudio, se cuantificaron reacciones enzimáticas de defensa contra el oomiceto. Se presentaron correlaciones negativas entre familias en niveles de infección con fenoles, superóxido dismutasa (SOD) y fenilalanina amonioliase (PAL), así como entre infección/ peroxidasas (POX), SOD y PAL. Las correlaciones positivas fueron en infección/ (POX), fenoles/SOD y fenoles/PAL. Otra relación positiva, aunque débil fue para POX/SOD ($r=0.475$). Dentro de cada familia se obtuvo significancia estadística en las correlaciones en la familia 255 con PAL/fenoles ($r=0.999$), la 270 en infección/POX ($r=0.998$) y la 278 en peso de tubérculo/POX ($r=0.998$). La desuniformidad de comportamiento explica el origen genético distinto de los clones.

Palabras clave: mejoramiento genético, POX, PAL, SOD, Fenoles.

ABSTRACT

In order to identify resistance to *Phytophthora infestans* Mont de Bary in potato clones (*Solanum tuberosum* L.), the vegetative material was exposed to natural infection, without chemical protection in the Toluca Valley, México. A minimal population survived in the field (8%), mainly from the families 243, 270, 282, 278, and 319, with as much as 40% final foliar infection, and two common progenitors were identified; A096850-1, and A096781-1. The families 243, 249, 300, and 333, has the largest number of clones with tuber weight higher than 500 g/plant. In addition, some enzymatic defense mechanisms were quantified. Negative correlations were obtained among families regarding infection levels and phenols, superoxide dismutase (SOD) and phenylalanine ammoniolyase (PAL), as well as among infection, peroxidases (POX), SOD and PAL. Positive correlations were found in infection/POX, phenols/SOD, and phenols PAL. Another positive, although weak, correlation was detected for POX/SOD ($r=0.475$). There were also statistically significant positive correlations within the family 255 with PAL/phenols ($r=0.999$), the family 270, with infection/POX ($r=0.998$), and the family 278 in tuber weight/POX ($r=0.998$). The lack of uniformity in behavior explains the different genetic origin of the clones.

Key words: breeding, POX, PAL, SOD, phenols.

¹ Posgrado en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo, Carr. Méx-Texcoco Km. 38.5 Chapingo, Edo. De Méx. C.P. 56230 e-mail: mavilap2000@hotmail.com

² Profesor-Investigador, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es el quinto cultivo alimenticio de mayor importancia mundial, después de trigo, arroz, maíz frijol, por unidad de superficie es de los primeros en producción de carbohidratos y proteína (después de la soya (ASERCA, 2007). Desafortunadamente, también es uno de los cultivos para consumo humano de mayor demanda de insumos, particularmente de fungicidas, debido a que su principal enfermedad es el tizón tardío, causado por el oomiceto *Phytophthora infestans* Mont De Bary. Este patógeno apareció casi simultáneamente en Europa y Estados Unidos en la década de 1830-1840, causando severos daños a la papa, particularmente en Irlanda, ya que arrasó con los cultivos que eran la base de la alimentación del pueblo Irlandés, causando una gran hambruna que desencadenó en la muerte y la migración de una cuarta parte de la población (Romero, 1993).

En los últimos 60 años al Valle de Toluca se le ha considerado como el centro de mayor diversidad genética del oomiceto, pues éste se presenta regularmente con mucha agresividad cada verano, por lo que es un sitio ideal para probar la resistencia genética del hospedante y la efectividad de los fungicidas. En este contexto, desde entonces algunos fitomejoradores de diversas partes del mundo han enviado clones al Valle de de Toluca para evaluación de la resistencia; en el caso particular de este trabajo, se contempló la evaluación de materiales enviados por el Departamento de Agricultura de E. U. A., de Idaho.

Como complemento a esta evaluación, se identificaron algunos clones resistentes, a los que se les hicieron estudios de seguimiento de los mecanismos de resistencia en

relación a fenoles totales, peroxidasa (Pox), Superoxido de dismutasa (SOD) y fenilalanina amonio-liasa (PAL), considerando los siguientes objetivos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la resistencia genética de clones de papa a la infección natural por el oomiceto *Phytophthora infestans*, causante del tizón tardío.

2.2. Objetivos específicos

- Cuantificar la resistencia de la población estudiada e identificar los clones resistentes al patógeno bajo condiciones naturales de infección.
- Determinar algunos mecanismos de defensa de clones selectos.

3. HIPÓTESIS

- Los clones evaluados serán resistentes al tizón tardío.
- Hay una relación directa entre la presencia y acción de los metabolitos de defensa con la resistencia mostrada por los hospedantes.

4. REVISION DE LITERATURA

4.1. Importancia del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.)

La papa es uno de los productos con tradición en nuestro continente. Originaria del Sur de América, se considera fue cultivada desde hace más de 2,000 años; siendo así, sin duda, un legado al mundo, que significó desde su introducción a Europa una importante fuente de alimento para los países del viejo continente, que se refleja hoy en día en altos niveles de consumo (ASERCA, 2008).

Por su valor nutritivo y energético, la papa, es un alimento básico y necesario en la dieta de los mexicanos, su cultivo tiene gran importancia económica y social para numerosas familias del campo mexicano, para quienes constituye una fuente de trabajo. De acuerdo a datos de la FAO, ONU, de 1992 al 2001 la producción mundial de la papa registró un incremento del 11%, concentrándose en países como China, Rusia, Polonia, Estados Unidos y Ucrania (ASERCA, 1998). En México su producción durante 1997 fue de 65,500 ha en 21 estados, con un promedio de 20.85 ton por hectárea. Entre los principales estados productores se encuentran: Sinaloa, Estado de México, Chihuahua, Nuevo León y Michoacán (CONPAPA, 2000). Sinaloa que es el principal productor, ha logrado en los últimos años rendimientos superiores a las 22 toneladas por hectárea, en promedio en el estado, gracias a que el cultivo se ubica, en su mayor parte, en zonas de riego y al uso de semilla certificada; en cambio Puebla, que es el tercer productor nacional, alcanza rendimientos apenas superiores a las 10 toneladas por hectárea (ASERCA, 1998).

En el 2006 la producción de la papa alcanzó un rendimiento promedio de hasta 26.20 toneladas, con un valor en producción de \$1, 220,672.65 (Cuadro 1) (SIAP, 2008).

Cuadro 1. Producción agrícola 2006 (SIAP, 2008)

Cultivo	Tipo/ Variedad	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento Ton/Ha	PMR	Valor Producción Miles de Pesos
PAPA		7,319.50	7,245.50	189,817.22	26.20	6,430.78	1,220,672.65
PAPA	ALPHA (Blanca)	53,601.05	53,020.05	1,320,409.6 2	24.90	4,560.83	6,022,167.53
PAPA	CRIOLLA	979.00	979.00	12,384.50	12.65	2,681.21	33,205.50
PAPA (SEMILLA)		102.00	102.00	4,365.60	42.80	7,000.00	30,559.20

En México esta hortaliza, tiene importancia debido a dos aspectos; uno es su alto valor nutritivo y otro es por ser una fuente generadora de empleos. Entre los principales problemas que presenta el cultivo de papa en México, están el poco uso de semilla de calidad genética y sanitarias, la presencia excesiva d plagas y enfermedades, causadas por bacterias, hongos y virus, las practicas agronómicas deficientes en procesos de producción, falta de variedades para uso industrial, manejo inadecuado de la semilla y la presencia de intermediarismo en la comercialización de la cadena Agroalimentaria (ASERCA, 2008).

4.1.1. Problemas fitosanitarios de *Solanum tuberosum* L.

Dentro de las principales enfermedades que atacan al cultivo de papa y que se presentan en México, esta la marchitez bacteriana" vaquita de la papa" (*Ralstonia solanacearum*) la cual ataca al sistema vascular de raíces, tallos y tubérculos (Teliz, 1999). Otras enfermedades principalmente fungosas que atacan al cultivo de papa

son: Tizón tardío (*Phytophthora infestans*), Tizón temprano (*Alternaria solani*) y viruela (*Rhizoctonia solani*) (Mendoza, 1996). Entre la incidencia de nematodos que ataca al cultivo tenemos a *Globodera rostochiensis* y *G. pallida* (nematodos del quiste), *Meloidogyne spp.* (nematodos agallador), *Nacobbus avernas* (nematodo falso agallador) y *trichodorus* y *Patrichodorus* (nematodos vectores de virus) (Bayer de México, 1996).

4.1.2. Principales plagas de *Solanum tuberosum* L.

Entre las principales plagas que presenta el cultivo de la papa esta el pulgon *Myzus spp.* trasmisor de virus, otra plaga es la catarina o escarabajo de la papa (*Leptinotarsa decemlinea*), la cual puede causar defoliación casi total de la planta dejando nada más los tallos. La palomilla de la papa (*Phthorimaea operculella*), esta plaga perfora y hace galerías en las ramas así como también en la nervadura central de las hojas, pero el daño más importante es cuando barrenan el tubérculo. El picudo de la papa (*Epicaerus cognatus*), sus larvas cusan daño ya que se alimentan de los tubérculos y raíces; hacen agujeros en las papas y van dejando sus excrementos en las galerías que abren. La mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), succiona la savia para alimentarse debilita la planta retrasando su desarrollo, además en las hojas de las plantas secretan una sustancia melosa sobre la que se desarrollan los hongos (fumaginas), en daños severos se observan plantas raquílicas (Lagunes, *et. al.*, 1998).

4.2. Resistencia de las plantas a enfermedades

Las plantas se protegen contra los patógenos gracias a sus características estructurales, como la presencia de una cutícula muy gruesa o diferentes pelos que impiden la penetración del patógeno al hospedante y luego su distribución en los tejidos (Bovey y Baggiolini, 1989). Otra manera de defenderse es la producción de sustancias tóxicas para los patógenos, pudiendo provocar también otras condiciones desfavorables para que se desarrolle el parásito, como es el cambio de pH de los tejidos atacados, siendo desfavorable para el patógeno. Aunque las características estructurales pueden definir en algunos casos la resistencia a la infección, más comúnmente son las sustancias químicas, las que determinan la resistencia (Agrios, 2007).

Se considera un hospedante resistente cuando no puede ser atacado por el patógeno; sin embargo en la relación hospedante-patógeno la resistencia puede ser de varios niveles y algunos individuos o clones, pueden estar más afectados que otros. La resistencia puede ser total (100%) o parcial (Turkesteen y Flier, 2002).

Cuando la reacción emana de un serial proveniente de una célula, el mecanismo de resistencia puede ser altamente específico, involucrando interacciones de gene por gene entre los genes de virulencia del patógeno y los genes correspondientes de resistencia en la planta. La respuesta puede ser también no específica, involucrando reacciones generales de resistencia como la acumulación de fitoalexinas inducidas por una señal de estrés, o desarrollando resistencia sistémica adquirida (RSA). En ambos tipos de resistencia están involucrados numerosos genes. Este último concepto ha sido estudiado por numerosos científicos en una amplia gama de

especies determinando la presencia de compuestos denominados elicitores de resistencia, presentes en el agente patógeno, y que al ser detectados por la planta inducen una respuesta no específica de resistencia, las respuestas de resistencia inducida, en una importante proporción, se manifiestan como cambios físicos y químicos de la pared celular. Destacan la acumulación de proteínas ricas en hidroxiprolina, lignificación y suberización, sedimentación callosa, acumulación de compuestos fenólicos, biosíntesis y acumulación de fitoalexinas, acumulación de inhibidores de proteinasas y liberación de oligosacáridos (Parodi, 2001).

Ha sido muy poco el éxito en lograr la resistencia de variedades de papa a *P. infestans*, a pesar de que existe una reserva de genes en especies silvestres de *Solanum*, debido a que se conoce muy poco sobre la fisiología y las bases moleculares de la resistencia (Vleeshowers, *et al.*, 2000).

Wastie (1991) opina que un mayor conocimiento de la bioquímica de los mecanismos de resistencia sobre los cuales todavía hay grandes inexactitudes, podría ayudar al desarrollo de las técnicas de selección. Las técnicas *in vitro* para la producción de haploides, combinadas con el tamizado *in vitro* favorecerían el proceso de mejoramiento.

El programa de mejoramiento del Centro Internacional de la Papa viene utilizando la resistencia del germoplasma de México y Sur América, a través de cuatro ciclos de selección recurrente de fenotipos. Las características agronómicas, incluyendo la adaptación a la longitud de día y el periodo de maduración, también se mejoraron.

Estos parentales sobresalientes son una fuente de germoplasma valioso, para los programas de mejoramiento de otros países (Mendoza, 1996).

4.2.1. Resistencia específica a razas de *P. infestans*

En la interacción *S. tuberosum/Phytophthora infestans*, el tipo de resistencia más comúnmente estudiado, es la resistencia específica a razas, la cual está gobernada por un solo gen resistente y dominante (gen R), y por lo tanto, efectiva contra una determinada raza del patógeno y se rompe fácilmente por una evolución rápida del patógeno, por lo que se hace poco durable en el campo (Jaramillo, 2003).

La resistencia específica es manifestada por una respuesta o reacción de hipersensibilidad (RH) rápida, que produce una necrosis localizada en el sitio de la infección, lo que restringe el patógeno al sitio de la lesión, impidiendo su expansión a otros tejidos de la planta, debido a que el producto de un gen de resistencia dominante de la planta (R), interactúa específicamente con un elicitor específico de la raza del patógeno, producto de un gen genéticamente dominante de avirulencia que resulta en el estímulo de una reacción de hipersensibilidad (Cornelissen y Melchers, 1993).

Las proteasas extracelulares ricas en serina inician la reacción necrótica sobre las hojas de papa (respuesta hipersensible) y por análisis estadístico del banco de datos de la Universidad de Agricultura de Wageningen (Holanda), encontraron un clon que tiene alta homología con las proteasas aspárticas, las cuales pueden elicitar la necrosis en las hojas microinyectadas y las células muertas sobre cultivos celulares de papa (Paris y Lamattina, 2002).

Estrada (2000) indica que la síntesis de las fitoalexinas, es mediada por la formación de elicitores-ácidos grasos insaturados de la pared celular del patógeno. Los elicitores reaccionan con la lectina de la papa, glicoproteínas ricas en hidroxiprolina y otros fragmentos similares de la pared celular, que sirven como receptores de las células, que mueren junto con las del patógeno invasor, dando como resultado una reacción de incompatibilidad. La síntesis es inhibida cuando se presenta glucanos (cadenas de glucosa, específicos y solubles en agua) formados por patotipos especiales, bloquean los sitios receptores, reduciendo o impidiendo la formación de terpenoides tóxicos, dándose una reacción de compatibilidad.

Cada patotipo posee un sistema patogénico no específico para inducir la síntesis de fitoalexinas y por otro lado, un sistema específico para bloquear la síntesis, si se encuentra receptores específicos en el hospedante. Parece que la reacción de hipersensibilidad no está relacionada con las fitoalexinas (Estrada, 2000).

En ciertas especies de plantas, existe cobertura mucho mas limitada, ya que algunos patógenos tienen la capacidad de evadir el sistema de reconociendo del hospedante y crecen extensivamente dentro de la planta, en este caso, la susceptibilidad de la planta es expuesta y el crecimiento extenso del patógeno pueden causar varios grados de daño. Sin embargo, ciertas razas dentro de la especies patógenas como bacterias y fúngicas son reconocidas por ciertos cultivares o genotipos del hospedero y se acciona la reacción de hipersensibilidad. el reconocimiento de patógeno acciona una gama grande de defensa, que se cree puede contribuir a la resistencia total en la planta (Mona, 1994).

Los mecanismos inducidos en el sitio de la infección y asociados con la RH incluyen los compuestos antimicrobianos entre los que están la mayoría de los compuestos fenólicos tales como los ácidos clorogénicos y caféico, o los productos de la oxidación de los compuestos fenólicos y las fitoalexinas, que en su mayoría también son compuestos fenólicos (Agrios, 2007). Algunos de los agentes químicos producidos de esa forma se hallan en concentraciones lo bastante altas para contrarrestar los daños por hongos y bacterias, alteraciones en la síntesis de las proteínas estructurales de la membrana celular. Muchas de estas respuestas son debidas a la activación transcripcional de los genes específicos que se conocen colectivamente como defensa de la planta o genes relacionados con la defensa. Sin embargo, algunos de los compuestos que liberan cierto tipos de plantas, al parecer tienen una función inhibitoria ante el ataque de ciertos patógenos (Mona, 1994).

La conexión entre la reacción de hipersensibilidad y la acumulación de fitoalexinas ha sido demostrado en *Brassica napus* (Rouxel *et. al.* 1989). Supone que la acumulación de fitoalexinas también se presenta en las células muertas. Por eso se convierten en un depósito de sustancias antibióticas y barrera química adicional que limita el desarrollo del patógeno. Una vez establecido el patógeno en la planta se requieren de varios mecanismos de patogenicidad; por ejemplo enzimas capaces de degradar las paredes celulares de la planta o toxinas con las cuales inhibe reacciones en la célula. Las toxinas pueden funcionar como algunas moléculas que inhiben las reacciones de defensa de la planta y pueden hacer que la interacción incompatible se convierta en una interacción compatible (Jankiewicz y Sobieczewski, 2003).

La pudrición blanda de la papa (*Erwinia carotovora*), inmediatamente después de invadir el tejido de la planta, produce una enorme cantidad de enzimas que degradan la pared celular del hospedero generando los síntomas típicos de la pudrición. En algunos cultivares de la soya, la herida o la muerte de una célula presenta una reacción de hipersensibilidad (RH), la cual se requiere para la activación inmediata de células próximas que rodean para desplegar respuestas de la defensa al elicitor ó inductor glucano de la pared celular contra el patógeno *Phytophthora sojae*. Estas respuestas próximas de la defensa incluyen la deposición de polímeros fenólicos y acumulación de fitoalexinas gliceolinas (Abbasi *et. al.*, 2001).

Se ha mostrado que en el mecanismo de RH las formas activas de oxígeno desempeñan un papel importante. Cuando la reacción de hipersensibilidad se ha iniciado las formas activas de oxígeno (AO) aumentan rápidamente alrededor del sitio de infección. A este fenómeno se le ha denominado explosión oxidativa y ocurre en muchas especies de plantas llamadas AOS (Active Oxygen Species). Esta respuesta a los patógenos o elicitores se ha observado en diversas monocotiledóneas y dicotiledóneas incluyendo arroz, tabaco, soya, etc. Las formas activas predominantes en interacciones planta patógeno son el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y el radical hidroxilo ($OH^\cdot$). La explosión oxidativa se correlaciona con la RH en los trabajos de interacciones planta-patógeno y por lo tanto puede ser un elemento importante que contribuye a la resistencia de la enfermedad (Jankiewicz y Sobieczewski, 2003).

La evidencia actual es limitada pero varios estudios indican que la explosión oxidativa reduce directamente la viabilidad del patógeno. Para un número de hongos patógenos, la germinación de esporas, se ha demostrado que es inhibida por concentraciones macromolares del H_2O_2 ; además, niveles más bajos de enzimas antioxidantes a la infección del patógeno (Buonaurio *et al.*, 1987).

Los peróxidos lipídicos generados por la reacción no enzimática de la explosión oxidativa pueden servir como precursores en la síntesis del ácido jasmónico, un regulador conocido de varios genes de defensa expresados durante la RH (Farmer y Ryan, 1992).

La alta acumulación localizada de H_2O_2 tiene un papel directo como agente antimicrobiano. El H_2O_2 de la explosión oxidativa desempeña un papel dominante en la ordenación de una respuesta hipersensible de la planta durante la expresión de resistencia a enfermedades (Levine *et al.*, 1994).

4.2.2. Resistencia adquirida local y sistémica

Frecuentemente los tejidos alrededor del lugar donde ocurre la reacción de hipersensibilidad adquieren fuertemente resistencia, esto es la resistencia local adquirida; si esta resistencia se extiende también sobre las partes más distantes o a veces, sobre toda la planta se dice que es una resistencia sistémica que fue adquirida. Esta resistencia puede detectarse tiempo después de la infección inicial. Es dirigida no solamente sobre patógenos que la indujo, sino también sobre la otra amplia gama de patógenos (Jankiewicz y Sobieczewski, 2003).

Una reacción de plantas a la infección del patógeno es la inducción de un duradero y amplio espectro de resistencia sistémica a infecciones subsecuentes. Esta inducción de resistencia a la enfermedad ha sido conocida por muchos años bajo diversos nombres tales como inmunidad fisiológica adquirida o resistencia sistémica inducida; actualmente se le reconoce como Resistencia Sistémica Adquirida (RSA). La perspectiva es que la RSA es un componente integrado por un gran repertorio de resistencia a enfermedades de la planta (Ryals *et al.*, 1994).

La RSA se presenta cuando se da un ataque localizado de un patógeno, sin lograr el éxito. Involucra un incremento del estado de resistencia a una amplia gama de patógenos y está asociada con el incremento de la expresión de los genes que codifican para las proteínas relacionadas con la patogénesis (Vleeshouwers, *et al.*, 2000).

En los últimos 30 años, la RSA se ha demostrado en muchas especies de plantas y el espectro de resistencia se ha ampliado para incluir no solamente virus y bacterias, sino también muchos hongos fitopatógenos de importancia agronómica (Kuc, 1982).

Ryals *et al.*, (1994) proponen un modelo de trabajo actual de la resistencia; este modelo no es muy completo pero sirve como base para construir y probar hipótesis. De acuerdo a este modelo la RSA se puede dividir en dos fases, iniciación y mantenimiento. La fase de iniciación puede ser transitoria e incluye a todos los acontecimientos que conducen al establecimiento de la resistencia.

El primer paso en el desarrollo es el reconocimiento de la infección del patógeno por la planta, una vez que la planta reacciona al patógeno, se mandan las señales que accionan la resistencia en lugares adyacentes así como tejidos distantes. Algo importante, es que no todas las interacciones planta-patógeno conducen a la inducción de RSA, sino solamente las interacciones compatibles. Así, el patógenos necesita inducir una reacción de resistencia gen por gen (Kuc, 1982).

Claramente se puede decir que la RSA es un componente importante de resistencia a enfermedades que contribuye significativamente en la salud de la planta. Entender las bases bioquímicas y moléculares de la RSA puede conducir al desarrollo de un fungicida que actúe estimulando los mecanismos naturales de resistencia a la enfermedad y variedades mejoradas (Ryals *et al.*, 1994).

En tomate, Enkerli *et al.* (1993), indujeron la resistencia sistémica infectando las hojas con *Phytophthora infestans*. El nivel de resistencia aumentó siete días después y permaneció por lo menos otros siete días más. Los cambios de proteínas solubles ácidas y la actividad de la quitinasa se indujeron y aumentaron en forma paralela a la resistencia.

4.2.3. Transducción de señales en la SRA

De forma temprana en la infección ente el hospedero y el patógeno, se producen señales que inducen respuestas en lugares respectivos. Este proceso implica la interacción entre las moléculas patógeno- asociadas (elicitors) y los receptores de la planta. Este reconocimiento resulta por una cascada de transducción de señales resultado de la activación de genes de defensa y la expresión de la resistencia a la

enfermedad por parte del hospedero. El reconocimiento específico entre el hospedero y el patógeno determina el resultado de la interacción (Keen, 1981). La resistencia o la susceptibilidad de las plantas a diversas razas de un patógeno es determinada por la cantidad dominante de genes de resistencia (De Wit, 1992). El éxito de la resistencia de hospedero contra la invasión del patógeno requiere el reconocimiento, la expedición y activación del repertorio de defensa necesario. Una respuesta alta en las plantas implica el reconocimiento de genes dependientes involucrados en la resistencia (genes R) de elicitores derivados de patógenos y la iniciación localizada en la necrosis en la célula en el sitio de la infección del patógeno (Devadas y Raina, 2002).

La característica más sensible de esta respuesta de resistencia gene dependiente (R) es la rápida muerte celular y puede ser definida dentro del sitio de infección como un proceso de respuesta hipersensitiva (RH). La muerte celular es precedida por cambios en los flujos de iones, explosión oxidativa y reticulación de proteínas de pared celular. Los procesos de muerte celular son acompañados por un incremento en la biosíntesis del ácido salicílico (AS), la activación transcripcional de varios genes patogénicos (GP) de transcripción relacionados y el establecimiento de una respuesta sistémica duradera conocida como resistencia sistémica adquirida (RSA) (Hammond-Kosack y Jones, 1996).

La ruta de las señales para que se de la RSA, resistencia genética y susceptibilidad a enfermedades son afectadas por la acumulación de ácido salicílico. Las plantas que no pueden acumularlo están expuestas a la infección y establecimiento del patógeno. Entonces la dependencia del AS en la transducción de señales juega un

papel central en la defensa de las plantas contra los patógenos (Ryals *et al.*, 1994). Chen *et al.* (1993) indican que el ácido salicílico puede ser el inductor de los genes específicos de la defensa de la planta durante el desarrollo de la RSA.

4.2.4. Resistencia parcial o cuantitativa (Resistencia de campo)

En contraste con los grandes efectos asociados a la resistencia con genes R, se presenta una gran resistencia producto de la suma de muchos efectos pequeños, los cuales están bajo control poligénico, denominada resistencia parcial, de campo o resistencia no específica y se atribuyen a las expresiones del fenotipo en las parcelas de campo, contribuyen a la reducción de la enfermedad, pero es difícil de analizar por las técnicas mendelianas e incluso por marcadores moleculares, dada la naturaleza poligenética de la resistencia y la poliploidia y heterocigosis de la papa (Jaramillo, 2003).

Se asume que este tipo de resistencia es de tipo poligénica, de herencia cualitativa y que confiere resistencia a la variedad, por disminución de la infección, la tasa de colonización del tejido y reducción de la esporulación. Las bases moleculares y bioquímicas de este tipo de resistencia son desconocidas y el mejoramiento por esta vía se ha realizado por técnicas convencionales (Umaerus, 1970).

4.3. Mecanismos de defensa de las plantas

Antes se pensaba que la resistencia a un patógeno se debía a la presencia de una sustancia tóxica en las plantas hospedantes; sin embargo existe la teoría de que

para cada gen de resistencia en el hospedante hay un gen de virulencia correspondiente en el patógeno, una relación de gen por gen (Agrios, 2007).

4.3.1. Bioquímicas

Las plantas cuentan con estrategias que dependen de la producción de compuestos químicos tóxicos para los microorganismos, cuya síntesis se estimula cuando la planta reconoce la presencia de un posible patógeno. Estos mecanismos incluyen la acumulación de compuestos de bajo peso molecular conocidos como fitoalexinas y la deposición, en la pared celular, de glicoproteínas ricas en aminoácidos (prolina), las cuales se entrecruzan químicamente con los componentes de la pared celular incrementando su fuerza y la generación de especies reactivas derivadas del oxígeno molecular (García, 2004) .

4.3.1.1. Fitoalexinas

Las fitoalexinas son una molécula de masa relativamente pequeña, por lo que las proteínas no se encuentran en este grupo. En griego alexin significa proteger, defenderse. Se producen en las plantas en respuesta al ataque de patógenos o bajo influencia de factores de estrés como las heladas o rayos ultravioleta. En la planta no infectada y sin sufrir estrés, las fitoalexinas no se encuentran o están en cantidades mínimas. Para la producción es necesaria la expresión de las enzimas apropiadas, a veces se llaman sustancias antimicrobianas inducidas (Jankiewicz y Sobieczewski, 2003).

Las fitoalexinas son sustancias tóxicas que las plantas producen en cantidades apreciables sólo después de haber sido estimulados por los diferentes tipos de microorganismos fitopatógenos, o bien después de haber sufrido daños causados por agentes químicos o mecánicos. Las fitoalexinas se producen por las células necróticas y dañadas, en respuesta a sustancias que se difunden a partir de las células dañadas. La resistencia ocurre cuando una o más fitoalexinas alcanzan una concentración suficiente para inhibir el desarrollo de patógeno, la mayoría de las fitoalexinas conocidas son tóxicas a bacterias, nemátodos y otros patógenos (Andreu *et al.*, 2000).

Algunas de las fitoalexinas mejor estudiadas incluyen a la faseolina y la cievitona en el frijol (*Phaseolus vulgaris*); la pisatina en el chícharo (*Pisum sativum*); la hidroxifaseolina en la soya (*Glycine max*); en alfalfa (*Medicago sativa*); la medicarpina y el cumesterol, en cebolla (*Allium sepa*); el capsidiol en chile (*Capscum annuum*) (Agrios, 2007)

Hasta hoy se conoce poco de cómo el ataque de patógenos o daños físicos generan la producción de fitoalexinas. Hahn *et al.*, (1981) encontraron que los fragmentos de polisacaridos pectínicos de las paredes celulares de la planta pueden servir como inductores (elicitores) de la producción de fitoalexinas. Este fenómeno puede ser interesante ya que las enzimas del hongo al destruir las paredes celulares del hospedante producen fragmentos de este tipo. Parece ser que los factores físicos como congelamiento, causa la producción de fitoalexinas estimulando primeramente la producción de las enzimas que separan fragmentos de las paredes celulares de la planta, sirviendo en seguida como elicitores (Lyon y Albersheim, 1982).

Mucharromah *et al.*, (1995), al inocular rodajas de tubérculos de papa con *Phytophthora infestans*, encontraron una acumulación de fitoalexinas. Se han aislado los inductores de tipo ácido graso, ácido araquidónico y ácido eicosapentanoico, relacionados a las hormonas animales prostaglandianas (Bostock *et al.*, 1981). Según Darvill y Albersheim (1984), los inductores actúan a nivel de transcripción liberando la expresión de los genes que codifican las enzimas necesarias para la producción de fitoalexinas, ya que son tóxicas para ellos mismos. Los elicitores de fitoalexinas se producen más frecuentemente como consecuencia de la infección por bacterias, las cuales inducían la producción de medicarpina en trébol blanco (*Trifolium repens*) (Gustine *et al.*, 1991).

El etileno aumenta bruscamente durante el estrés y cuando este estrés es causado por la infección de un patógeno, el etileno puede iniciar la producción de fitoalexinas, que es lo que sucede en zanahoria (Boller, 1992).

El nivel de ácido jasmónico (AJ) a su ester metílico (AJ-Me), también aumenta rápidamente en plantas heridas o dañadas por los patógenos y existe la suposición de que debido a este fenómeno se incrementa la segregación de etileno en los tejidos, ya que se conoce que los jasmónicos influyen en la producción de etileno y viceversa. Al tratar los tejidos con éster metílico del ácido jasmónico aumenta la expresión de los genes que codifican la fenilalanina-amonio-liasa (PAL) y la sintasa de chalcona, las cuales están involucradas en la formación de fitoalexinas (Saniewski, 1995).

Cvikrová *et al.*, (2003) aplicaron etefon a alfalfa y aumentó la concentración de etileno exógeno en las células embriogénicas e indujo cambios en el metabolismo de sustancias fenólicas y actividad de la peroxidasa. También hubo un incremento en la actividad de la PAL sobre el nivel básico y fue acompañada por una acumulación de ácidos fenólicos, en contraste, el nivel creciente del etileno exógeno no influenció el crecimiento del cultivo de embriones más avanzados ni alteró significativamente el metabolismo del fenilpropanoide. También se sabe que los pesticidas aplicados contra algunos patógenos también pueden inducir la producción de fitoalexinas.

Las funciones de las fitoalexinas terpénicas en la resistencia parecen bastante prometedoras; sin embargo, en síntesis acelerada inhiben el crecimiento de la hifa del hongo, pero no los niveles de esporulación del mismo; además, los niveles de fitoalexinas en interacciones compatibles son muy bajos y por lo tanto incapaces de afectar el desarrollo del hongo, cosa que no ocurre en interacciones incompatibles. Por lo tanto, este tipo de resistencia puede ser interpretada como resistencia vertical, ya que se conocen tres factores genéticos que regulan la expresión de las proteínas responsables de la síntesis de estos compuestos y su carácter cuantitativo. Además, las plantas contienen comúnmente no una sino todo un complejo de fitoalexinas, lo que hace aun mas eficaz la defensa contra patógenos, esto puede explicarse porque las fitoalexinas tienen un amplio espectro de actividad (Jankiewicz y Sobieczewski, 2003).

4.3.1.2. Compuestos fenólicos

El término de fenoles o polifenoles es usado para definir sustancias que poseen uno o más sustituyentes hidroxilo (OH⁻) unidos por un anillo aromático (Waterman y

Mole, 1994), incluyendo derivados funcionales como ésteres, esteres de metilo, glucósidos, etc. Los fenoles son aquellas sustancias derivadas a partir del metabolismo fenilpropanoide y la ruta de ácido shiquímico. Sin embargo estos autores no consideran que algunos fenoles se puedan sintetizar de la ruta acetato/malonato y acetato/mevalonato. De los 100,000 compuestos conocidos del metabolismo secundario gran parte pertenecen a los fenoles (Jankiewicz y Sobieczewski, 2003).

Se ha observado que ciertos compuestos fenólicos que son tóxicos para los patógenos se producen y acumulan a un ritmo mayor en una variedad resistente que en una susceptible después de haberse producido una infección, algunos de éstos son el ácido cafeico y la escopoletina (Agrios, 2007). Los fenoles son de gran importancia como material de soporte y forman parte de la pared celular (ligninas, suberinas), algunos se pueden acumular como fitoalexinas como resultado del ataque de microorganismos contribuyendo a la resistencia de enfermedades. Algunas plantas exudan de la raíz fenoles que actúan como toxinas (cinamato en *Parthenium argentatum*). Muchos fenoles y la oxidación de sus productos como las quinonas son altamente tóxicas al hongo invasor. En la actualidad se puede establecer que los fenoles juegan un papel importante en la determinación de la resistencia o susceptibilidad de un hospedero a la infección de un parásito. La acumulación de compuestos fenólicos durante la infección por patógenos ha sido reportada como alta en plantas resistentes y baja en plantas susceptibles (Velazhahan y Vidhyasekeran, 1994). Estos autores, al trabajar con variedades susceptibles y resistentes de *Arachis hypogaea* L. a *Puccinia arachidis* encontraron

que la inoculación con el patógeno resultó en mayor concentración de fenoles en plantas resistentes que en susceptibles.

La suberización rápida de los tubérculos es importante para evitar la infección por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* y *Fusarium sambucinum*. Además se encontró que los fenoles de la suberina son importantes en la disposición de suberina dentro de la primera capa de la célula, proporcionándole cierto grado de resistencia. En trigo susceptible (WL711) a *Neovossia indica*, los fenoles totales alcanzaron un máximo a los dos días después de la inoculación (Gogoi *et. al.* 2001).

Hay células especializadas de plantas que sintetizan fenoles y los almacenan en su vacuola durante los procesos normales de la diferenciación. Tales fenoles se distribuyen dentro de la mayoría de los tejidos finos. En algunos de estos tejidos ocurren uniformemente en todas las células, mientras que en otros ocurren de forma dispersa o aleatoriamente, y en otros inmóviles aparecen establecidos estratégicamente en los puntos potenciales de entrada. Debido a la descompartamentación de estas células primeramente pueden provocar una rápida oxidación de su contenido fenólico, lignificación y suberización de células y su muerte celular. En segundo lugar, si esta defensa falla y persiste la tensión, estos mismos procesos promueven la acumulación prolongada de ácido indolacético y de etileno que promuevan otra cascada de reacciones en células periféricas que incluya respuestas secundarias del metabolismo como resultado de defensa mayor (Beckman, 2000).

4.3.1.3. Actividad de Peroxidasa EC 1.11.1.7 (POX)

Esta enzima se encuentra en animales, plantas y microorganismos. En las plantas se localiza parcialmente soluble en el citoplasma y parcialmente insoluble en la pared. Es una enzima que se presenta en todos los vegetales superiores, suele contener un grupo prostético hemo (ferriprotoporfirina IXX), no obstante, también puede utilizar otros grupos. El proceso catalítico parece producir la oxidación transitoria del ión férrico Fe^{+3} a estado de valencia más alta Fe^{+5} o Fe^{+4} . El peróxido puede ser peróxido de hidrógeno o un peróxido orgánico. En la reacción el peróxido es reducido a la vez que resulta oxidado un donador (pudiendo ser ascorbato, los fenoles, las aminas u otros compuestos orgánicos) de electrones (Duglas y Richarson, 1993).

La actividad de la peroxidasa puede determinarse por la disminución de peróxido del hidrógeno donador por la donación de compuestos oxidados. Por otro lado controlan el crecimiento fisiológico de las plantas, su diferenciación y desarrollo. Es bien conocido que esta enzima participa en la construcción y lignificación de la pared celular, la biosíntesis de etileno a partir del ácido 1-aminociclopropanocarboxílico y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), la regulación de niveles de auxinas, la protección contra el deterioro de tejidos e infección por niveles de auxina, la protección contra el deterioro de tejidos e infección por microorganismos patógenos, la oxidación de ácido indolacético, etc. La peroxidasa y la polifenoloxidasas catalizan la oxidación de los compuestos fenólicos (Van de Velde *et al.*, 2001).

Existe dificultad para entender los efectos de la actividad de peroxidasa. Por ejemplo, primero no existe como una enzima simple en frutos y vegetales; como

otras enzimas vegetales, la actividad de peroxidasa se encuentra en la forma de un número de discretas isoenzimas; segundo, hay varios compuestos fenólicos que se encuentran en forma natural en todos los tejidos vegetales, cada uno de los cuales puede ser oxidado por peroxidasa en presencia de pequeñas cantidades de hidroperóxido; tercero, el intervalo de productos formados es muy extenso debido a la diversidad de compuestos que son susceptibles a oxidarse por peroxidasa (Robinson, 1991).

Velazhahan y Vidhyasekaran (1994), en su trabajo realizado en *Arachis hypogaea* L., encontraron que la actividad de la polifenoloxidasas y peroxidasa fue menor en las variedades susceptibles a *Puccinia arachidis* Speg, que en las resistentes al patógeno. En el trabajo realizado por Gogoi *et. al.* (2001), en trigo, se encontró que en variedades resistentes la actividad de la peroxidasa fue la más alta a los dos días después de la infección y en variedades susceptibles los niveles más altos de POX se presentaron a los seis días después de la infección.

El papel de esta enzima en resistencia a las enfermedades probablemente se debe en gran medida a su propiedad de oxidar los compuestos fenólicos hasta quinonas, las cuales con frecuencia son más tóxicas a los microorganismos que los fenoles originales, además también aumenta la velocidad de la polimerización de esos compuestos en sustancias similares a la lignina que se depositan en las paredes y papilas celulares e interfieren con el posterior crecimiento y desarrollo del patógeno (Agrios, 2007).

4.3.1.4. Actividad de Superoxido de dismutasa EC 1.15.1.1 (SOD)

El peróxido de hidrógeno puede ser eliminado por varias enzimas antioxidantes tales como las catalasas, las cuales se localizan en los peroxisomas y en las mitocondrias de las células y convierten en agua y oxígeno, el peróxido de hidrógeno que se produce durante la respiración. Las peroxidasas que utilizan el peróxido de hidrógeno durante las reacciones de lignificación y la enzima ascorbato peroxidasa localizada en los cloroplastos y en el citoplasma eliminan el peróxido de hidrógeno utilizando ácido ascórbico para convertirlo en agua. La enzima Superóxido dismutasa (SOD) la cual cataliza la dismutación del O_2 y lo convierte en peróxido de hidrógeno, se encuentra en el citoplasma, en los cloroplastos y en las mitocondrias de las plantas. El peróxido de hidrógeno producido por esta reacción enzimática puede a su vez ser eliminado por los mecanismos antes descritos (García, 2004).

Hasta la fecha no existen reportes de mecanismos enzimáticos para eliminar la producción del radical hidroxilo, quizá por sus alto grado de reactividad y su corta vida media; así parece que la eliminación de este radical depende de su reactividad con las biolimpolécúlas que se encuentran cerca de su sitio de generación y la síntesis o disponibilidad de moléculas pequeñas que son capaces de secuestrarlo, tales como el ácido ascórbico y el tocoferol (García, 2004).

4.3.1.5. Actividad de Fenilalanina amonio-liasa EC.4.3.1.5 (PAL)

Una enzima que por lo regular exhibe una mayor actividad o una nueva síntesis, mucho mayor en los tejidos enfermos es la fenilalanina amonio-liasa (PAL), la cual es una enzima clave en la producción de la molécula básica que se utiliza para la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos, entre ellos las fitoalexinas y la

lignina (Goodman, *et al.*, 1986). Way *et al.*, (2002) al trabajar con tabaco transgénico encontraron que la fenilalanina amonio-liasa tiene un importante papel en la resistencia de las plantas.

Esta enzima cataliza la conversión de L-fenilalanina-amonioliasa a ácido transcinámico que es el primer paso de la ruta del fenilpropanoide, que provee los recursos para los pigmentos flavonoides, lignina, los protectores UV, las fitoalexinas furanocoumarinas (Lewis y Yamamoto, 1990). El metabolismo fenilpropanoide, se activa en respuesta a una amplia gama de aspectos del desarrollo y a las señales ambientales, y, por lo tanto, los fenilpropanoides se sintetizan durante el proceso normal de desarrollo y bajo condiciones de stress como irradiación UV, daño mecánico, o ataque del patógeno (Dixon y Lamb, 1990). Se sabe también que los fenilpropanoides pueden actuar como señales moleculares en procesos de reconocimiento entre *Agrobacterium* y *Rhizobium* y sus plantas hospederas (Lynn y Chang, 1990). La fluctuación en actividad de PAL se ha demostrado por ser un elemento clave que controla la síntesis de fenilpropanoides y aumenta la actividad de PAL.

Las plantas leguminosas responden a la infección por hongos patógenos o moléculas inductoras en las paredes celulares de esos patógenos, por la síntesis de fitoalexinas antimicrobiales y fenoles limitados a pared celular derivados de la L-fenilalanina-amonioliasa. La PAL cataliza el primer paso encaminado a la biosíntesis de esos compuestos relacionados con la defensa como fenilpropanoides y la conversión de la L-fenilalanina-amonioliasa en ácido trans-cinámico. La respuesta de defensa de fitoalexinas implica la activación rápida de genes de

transcripción que codifican un número de enzimas para sintetizar fitoalexinas incluyendo la PAL. Los cambios en el contenido de fenoles totales dependen de las alteraciones y la actividad de las enzimas responsables de su biosíntesis. La PAL es importante en las síntesis de varios tipos de fenoles incluyendo los flavanoides, isoflavonoides y ácido hidroxinámicos (Dixon y Harrison, 1991).

En células de pino, la inducción de la actividad de PAL ocurre simultáneamente con el incremento de las actividades de enzimas específicas de lignina, seguido por la deposición en las paredes de la célula. La actividad de PAL y de otras enzimas de la ruta fenilpropanoide también se estimulan altamente en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en hojas hipersensibles al virus del mosaico del tabaco (VMT). La activación del metabolismo fenilpropanoide da lugar a la deposición de polímeros fenólicos acumulando nuevas barreras mecánicas contra la invasión del patógeno (Legrand *et al.*, 1976).

Linke *et al.*, (2002) mencionan que el aumento en la respuesta de defensa abarca la acumulación de cinco genes de defensa relacionados (β -1,3-Glucanasa B2 y A1, Quitinasa B3 y A2, y Fenilalanina amonio-liasa) y elicitación temprana en el aumento del peróxido de hidrógeno. En cebada, el RNAm de la PAL indicó que el nivel del mensaje comenzó a aumentar en 0.5 horas después de la inoculación con *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* y *Erysiphe pisi* (Shiraishi *et al.*, 1995). Existen evidencias que demuestran mayor actividad de PAL en hojas, tallos y raíces de plantas resistentes en comparación con plantas susceptibles a diversos hongos como en arroz (*Oryza sativa*) (Velazhahan y Vidhyasekaran, 1994), así como en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *Sclerotinia sclerotiorum*; en chile (*Capsicum annuum* L.)

inoculadas con *Phytophthora capsici*, en plántulas de cebada (*Hordeum vulgare* L.) infectadas con *Erysiphe graminis* y en mesocotilos de sorgo inoculados con *Bipolaris maydis*, se encontró mayor actividad enzimática de PAL en plantas resistentes en comparación con plantas susceptibles a dichos hongos. Tales resultados sugieren que el aumento en la actividad de PAL está involucrada con la respuesta de defensa de la planta hospedante a la infección por el hongo (Vargas, 1998).

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Material vegetal

Se utilizaron clones del primer año (primera evaluación). Se recibió un tubérculo de cada uno de casi 2,500 clones de papa de cruzamientos recientes, provenientes de Aberdeen, Idaho, del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA/ARS; Drs. Jonathan Whitworth y Richard Novy; Cuadro 2). Se sembraron en junio, bajo condiciones de temporal y sin protección química, para exponerlos a la infección natural de agentes patógenos e insectos.

5.2. Variables evaluadas

Las variables evaluadas se dividieron en fase de campo y fase de laboratorio. En la primera fase se midió porcentaje de infección de *Phytophthora infestans* en la parte aérea de la planta (follaje y tallos), de acuerdo a la escala de Henfling (1987). Las lecturas se realizaron a cada uno de los clones evaluados, una vez por semana a partir de los 20 días de emergencia de la planta, teniendo un total de 10 lecturas a lo largo del ciclo, al final del mismo se registró número y peso de tubérculos por clon. En la parte de laboratorio se cuantificó la concentración de fenoles totales, fenilalanina amonio-liasa (PAL), Peroxidasa (POX) y Superóxido de dismutasa (SOD), en el follaje de los clones seleccionados.

5.3. Fase de campo

La fase de campo fue en el ciclo primavera-verano del 2006 en los campos experimentales del Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa

(PICTIPA), en el Valle de Toluca, Estado de México. Se registraron las condiciones ambientales (temperatura, precipitación y humedad) que se presentó durante el desarrollo de los clones (ANEXO I).

Cuadro 2. Cruzas y clones a evaluar para resistencia a tizón tardío de la papa en el campo agrícola experimental ICAMEX-PICTIPAPA, Metepec, Estado de México. Verano del 2006.

	# Invernadero	CRUZA No.	HEMBRA		MACHO	NUM. CLONES
1	239	A01416	Bol85-87-3	X	Summit Russet	85
2	242	A01448	EGAO9704-1	X	A92158-3	100
3	243	A01450	EGAO9704-1	X	A096850-1	100
4	249	A01503	MX77-18-335	X	Summit Russet	100
5	250	A01516	MX77-18-335	X	Gem Reset	90
6	255	A01592	Perrichoi	X	A93116-3BSR	80
7	264	A02286	A95053-61	X	AOA95154-1	100
8	265	A02293	A95054-177LB	X	A96095-3	87
9	270	A02348	A97039-23	X	AO96781-1	100
10	271	A02379	A97072-LB	X	GemStar Russet	100
11	278	A02414	AO96781-1	X	A96764-19(2/0)	100
12	280	A02424	AO96781-4	X	A97229-1	100
13	282	A02432	AO96850-1	X	AO96781-4	89
14	283	AO2435	AO96850-1	X	Russet Legend	100
15	289	A02545	PA97B10-2	X	A96032-2	100
16	293	A02556	PA97B10-2	X	Lugovskoy	100
17	297	A02574	Lugovskoy	X	GemStar Russet	100
18	300	A02581	Lugovskoy	X	Russet Legend	100
19	316	A03702	A98023-5LB	X	A92030-5	100
20	319	A03717	A98023-60LB	X	AO96893-3	100
21	323	A03745	A98023-60LB	X	Gem Russet	100
22	325	A03861	NY128	X	GemStar Russet	100
23	329	A03893	Stirling	X	A97214-4	100
24	332	A03903	Turn-Over	X	A93157-6LS	95
25	333	A03914	AC93026-9RU	X	WHA99-4156-1	100
México Total						2426

5.4. Fase de laboratorio

Los análisis para la presencia y acción de fenoles totales, fenilalanina amonio-liasa (PAL) (EC.4.3.1.5), Peroxidasa (POX) (EC.1.11.1.7) y Superóxido de dismutasa

(SOD) (EC.1.15.1.1) se realizaron en el Laboratorio de Usos Múltiples del Departamento de Fitotecnia en la Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México.

5.4.1. Polvo de acetona

Se obtuvo a partir de 20 g de hojas + 50 ml de acetona al 100% (4° C) molidas en licuadora y filtrada al vacío descartándose la acetona, la cual se guardó a 4°C para la determinación de fenoles totales. Este proceso se repitió cuatro veces más con el tejido, y se dejó secar a temperatura de laboratorio (18 °C) y se almacenó a -4 °C hasta el ensayo de cada una de las enzimas. Para determinar fenoles totales se utilizó el sobrenadante (Alia-Tejacal, *et. al.*, 2002)

5.4.2. Determinación de Fenoles totales

Se utilizó el método descrito por Waterman y Mole (1994). A 0.03 ml del sobrenadante obtenido de el procesamiento de polvo de acetona, se agregó 16.97 ml. de agua desionizada más 1 ml de Folin-Ciocalteu y 2 ml de carbonato de sodio 20%. Se agitó y dejó reposar por dos horas en la oscuridad, posteriormente se leyó su absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (Spectronic 21D; Milton Roy). La cuantificación se realizó mediante una curva patrón de ácido tánico y la concentración de fenoles totales se registró como miligramos por gramo de peso fresco (mg g^{-1} p. f).

5.4.3. Determinación de la Actividad de Peroxidasa EC. 1.11.1.7 (POX)

La actividad de la POX se determinó mediante la metodología descrita por Alia-Tejacal *et al.*, (2002). La enzima se extrajo a partir de 0.1 g de polvo de acetona con 5 ml de Tris-HCl frío (pH 7.1) conteniendo 1% de polivinilpirrolidona. Se mezclaron en un homogenizador de tejidos durante 50 segundos, posteriormente la mezcla se centrifugó por 20 minutos a 12,500 g a 4 °C. El sobrenadante se utilizó para el ensayo de acuerdo a Flurkey y Jen (1978), con las siguientes modificaciones: la mezcla de ensayo fue con un volumen total de 3 ml, 2.6 ml de amortiguador Tris-HCl (pH 7.1), 0.25 ml de guayacol 0.1 M, 0.1 ml de peróxido de hidrógeno 0.25 % y 0.05 ml del sobrenadante. Se evaluó el cambio de absorbancia a los 30, 60, 120 y 180 segundos en un espectrofotómetro (Spectronic 21D; Milton Roy) a 470 nm. La actividad enzimática se reporta como $U\ g^{-1}\ p.f.$ donde U= Unidad de actividad enzimática y una unidad es igual a la formación de $1\ mmol\ min^{-1}$ de tetraguaiacol.

5.4.4. Determinación de la Actividad de Superoxido Dismutasa EC.1.15.1.1 (SOD)

Se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Beyer y Fridovich (1987), a 0.025 g de polvo de acetona se le agregó 5 ml de solución Buffer Fosfato (pH 7.8) a 4°C, mezclándose con un homogenizador de tejidos durante 50 segundos. La mezcla se centrifugó a 12500 g por 20 minutos a 4° C, posteriormente se sacaron y se dejaron que tomaran la temperatura ambiente. Los siguientes procedimientos se llevaron a cabo en la oscuridad; se tomaron 3 ml de solución Buffer + EDTA, metionina, NBT y triton, colocándose en tubos de ensayo con tapón de rosca, a esta solución se le agregaron 0.5 ml de sobrenadante y se agitó, a la misma se le añadieron 30 μl de riboflavina y se agitó. La anterior solución se colocó por 7

minutos en luz fluorescente, por ultimo se leyó en el espectrofotómetro (Spectronic 21D; Milton Roy) a 560 nm. La actividad enzimática se reporta como $U\ g^{-1}\ p. f.$ donde U = Unidad de actividad enzimática.

5.4.5. Determinación de la Actividad de Fenilalanina amonio-liasas EC. 4.3.1.5 (PAL)

Esta enzima se determino de acuerdo a lo descrito con Martínez-Tellez y La Fuente (1997). A partir de 0.1 g de polvo de acetona con 5 ml de Borato de Sodio 0.1 M (pH 8.8) frío + 20 mM β -mercaptoetanol, mezclándose en homogenizador de tejidos durante 50 segundos. A continuación se agitó la mezcla durante 20 min en baño con hielo ($4^{\circ}\ C$), posteriormente se filtro usando embudo de plástico y malla de tela, enseguida se centrifugó a 12,500 g a $4^{\circ}\ C$ durante 20 minutos. Se extrajo el sobrenadante, la enzima se precipitó agregando 0.46 g de sulfato de amonio por cada mililitro de sobrenadante. El precipitado se redisolvió agregando 5 ml de borato de sodio 0.1 M (pH 8.8), siendo este extracto el que se usó para el ensayo. El ensayo enzimático se realizó de acuerdo con Arz y Grambow (1995). La mezcla para el ensayo consistió de 1.8 ml de Borato de Sodio 0.1 M (pH 8.8), 0.9 ml del extracto final, preincubando a $40^{\circ}\ C$ por 5 min. Posteriormente se agregan 0.3 ml de L-fenilalanina 100 mM y se midió la absorbancia a 290 nm. Simultáneamente se llevó a cabo el ensayo de una repetición de la muestra con 2.1 ml de Borato de Sodio 0.1 M (pH 8.8) y 0.9 ml del extracto final. Se evaluó el cambio de absorbancia en 2 horas a 290 nm, manteniendo la muestra en baño María a $40^{\circ}\ C$. La actividad enzimática se reporta como $U\ g^{-1}\ p. f.$ donde $U=\Delta$ (absorbancia) a 290 nm/h.

5.5. Análisis de resultados

El análisis de los resultados obtenidos se realizó mediante el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) y el programa Excel (V. 2003). Se aplicaron el análisis de correlaciones y se elaboraron gráficas de comportamiento de las diferentes variables evaluadas.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Resistencia a *Phytophthora infestans*

Por facilitar en la discusión, la ubicación del clon, se optó por abreviar la identificación de los clones por su número de invernadero (Cuadro 2), pudiendo identificarlas por familia. En el verano del 2006, en el Valle de Toluca, se presentaron las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo del tizón tardío que son mínimo 10 hrs/día con humedad relativa superior al 90%, temperaturas entre 10 y 15 °C, y nubosidad (Anexo I).

Las condiciones ambientales fueron las óptimas permitiendo el desarrollo de *P. infestans*, el cual al principio del ciclo del cultivo de la planta no se presentó manteniéndose en general el follaje de todas las familias libre del patógeno, pero al paso de los días y con el ambiente propicio para la llegada y desarrollo del tizón el ataque fue evidente, algunas plantas presentaron un ataque rápido provocando la muerte de éstas (Figura 1).

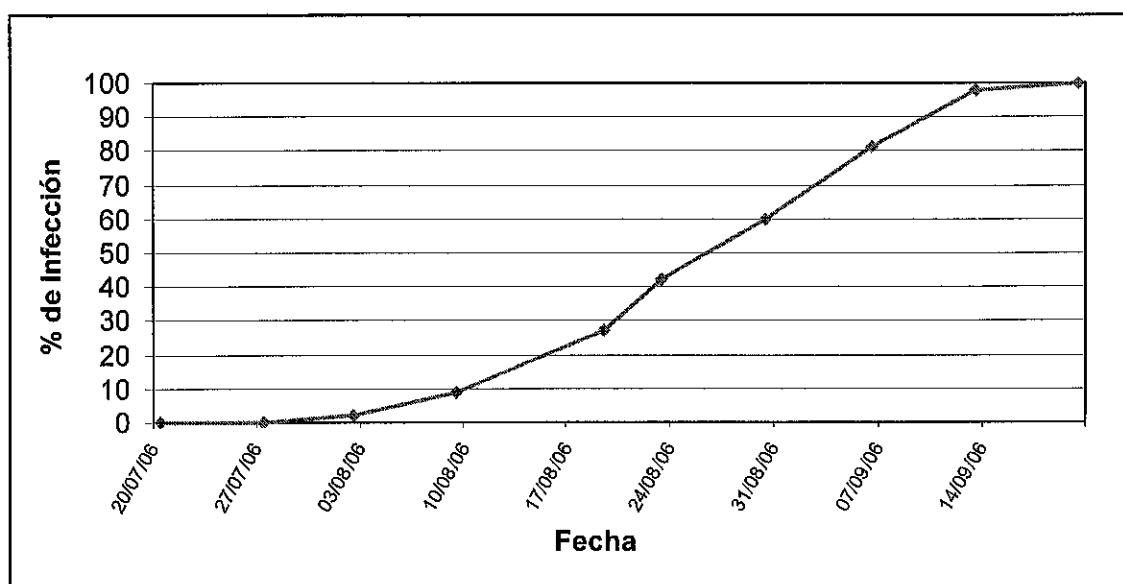


Figura 1. Curva del Tizón Tardío en papa variedad alfa.

A pesar de la uniformidad en la aparición del patógeno, hubo una gran amplitud de respuestas de los clones a la infección por *P. infestans*, debido, principalmente, al origen genético de los clones (Fig. 2).



Figura 2. Panorama general del lote con los clones de papa. Toluca-Metepec, Mex. 2006.

Se consideraron como resistentes aquellos materiales con hasta 30% de infección foliar final, lo cual dio la pauta para muestrear aquellas plantas que presentaban dicho porcentaje y algunas que a pesar de tener un 40% de infección, pero un follaje bastante abundante, se tomó muestra para realizarle los análisis de laboratorio (Fig. 3).

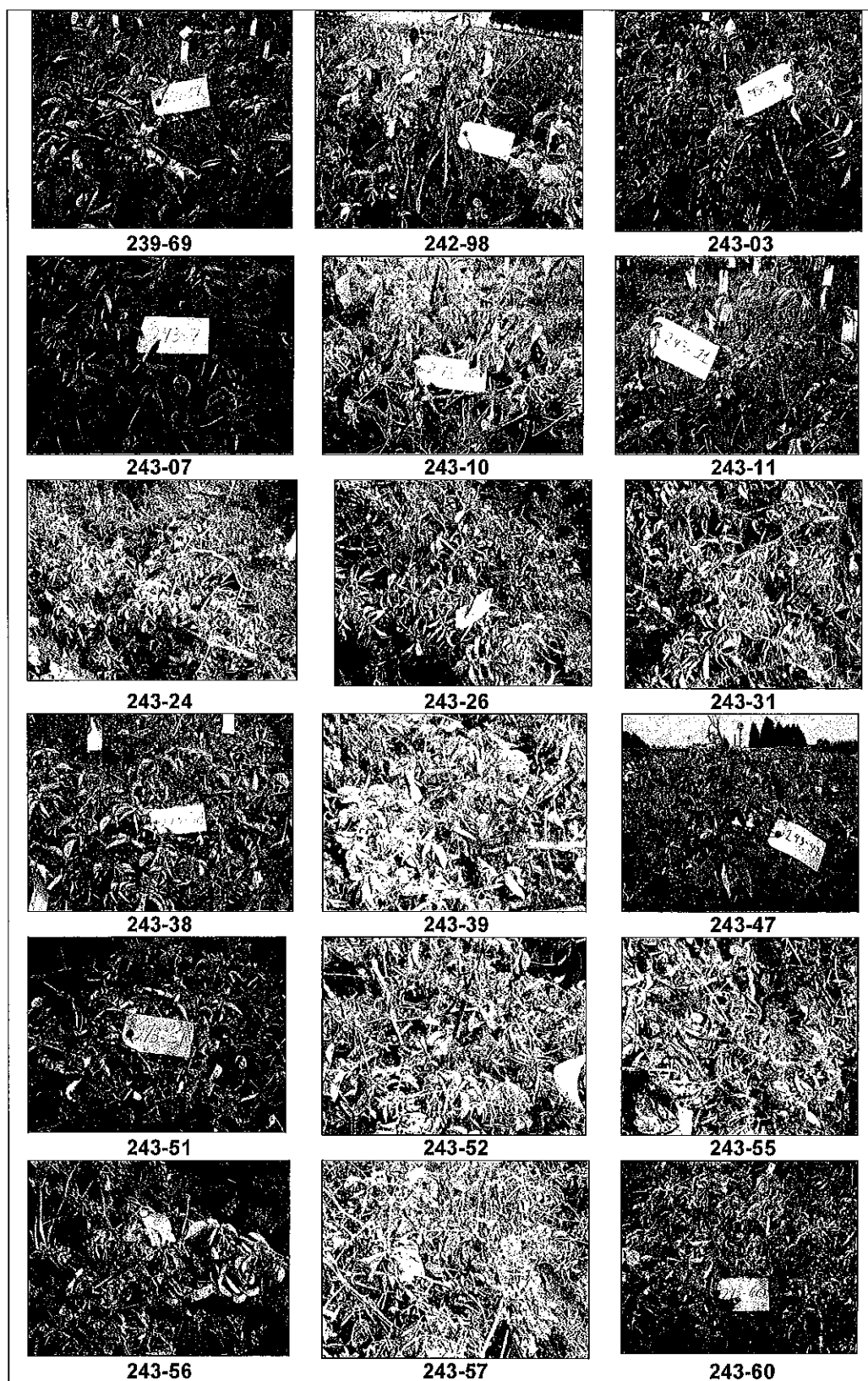
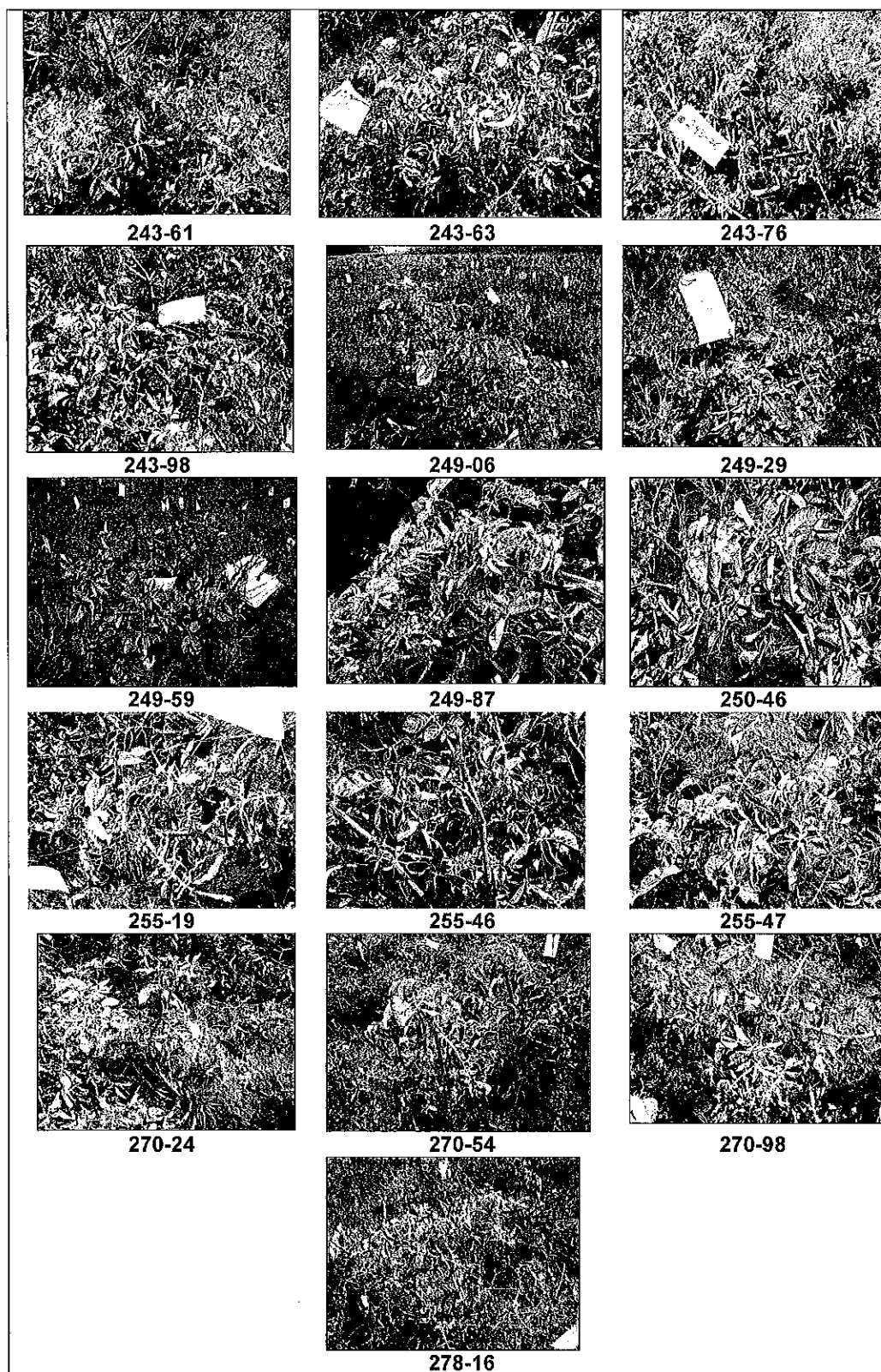


Figura 3. Panorama de las plantas de papa muestreadas en campo para el análisis de laboratorio.



... Continuación de la Figura 3.

Las familias con un mayor número de clones con 30% de infección fueron la 243, 270, 282, 278 y 319, de las cuales presentaron respectivamente 41, 31, 21, 18 y 15 clones con el porcentaje menor al 30% (Cuadro 3). De estas, hubo solo dos progenitores en común, uno fue el clon A096850-1, como macho de la familia 243 y como hembra en la 282. El otro fue A096781-1, como macho en la familia 270 y como hembra en la 278 (Cuadro 2). Las cinco familias sumaron 108 genotipos resistentes, de un total de 174 de todas las familias que presentaron un rango de infección entre 0-30 %. Destacaron, además de las mencionadas, la 249 y 255, que sumaron diez clones cada una con infecciones dentro del rango establecido como resistente.

Cuadro 3. Rango de infección de *P. infestans* en la parte aérea (tallo y follaje) de plantas de papa por familia.

FAMILIA	% DE INFECCIÓN							TOTAL DE CLONES
	0-10	11-20	21-30	Σ (0-30 %)	31-40	41-50	51-100	
239	0	1	2	3	9	5	68	85
242	0	0	0	0	2	3	95	100
243	9	14	18	41	13	7	39	100
249	0	5	5	10	12	7	71	100
250	0	2	5	7	10	4	79	100
255	0	4	6	10	10	3	57	80
264	1	1	2	4	0	5	91	100
265	0	1	1	2	0	0	85	87
270	2	13	16	31	15	7	47	100
271	0	0	1	1	0	2	97	100
278	3	6	9	18	6	8	68	100
280	0	0	1	1	1	1	97	100
282	3	11	7	21	9	11	48	89
283	0	0	0	0	2	0	98	100
289	0	0	0	0	0	0	100	100
293	0	0	1	1	1	1	97	100
297	0	0	0	0	2	0	98	100
300	0	0	0	0	0	2	98	100
316	0	0	2	2	2	2	94	100
319	1	5	9	15	13	8	64	100
323	1	4	1	6	5	8	81	100
325	0	0	0	0	1	1	98	100
329	0	0	0	0	1	1	98	100
332	0	0	1	1	0	5	89	95
333	0	0	0	0	0	0	100	100
TOTAL	20	67	87	174	114	91	2057	2436
%	1%	3%	4%	8%	5%	4%	84%	99%

Turkensteen y Flier (2000), consideraron un hospedante resistente cuando no puede ser atacado por el patógeno; sin embargo en la relación hospedero-patógeno, la resistencia puede ser de varios niveles y algunos individuos o clones, pueden estar más afectados que otros.

6.2. Rendimiento por familia

Las familias 243, 249, 300, 329 y 333 presentan el mayor número de clones con el peso superior a 500 g. Las familias que presentaron menor peso de los tubérculos fueron la 325, 329, 283 y 293 (Cuadro 4).

Cuadro 4. Peso (g) de los tubérculos de papa de los clones evaluados.

FAMILIA	TOTAL DE CLONES	NUM. DE CLONES NO EMERGIDOS	No. DE CLONES SIN TUBERCULO	Σ	RENDIMIENTO EN PESO (g)				
					50-200	2001-350	351-500	501-650	651->
239	85	3	31	3	6	18	13	8	6
242	100	23	40	0	1	14	13	4	5
243	100	6	19	41	1	9	14	16	35
249	100	11	17	10	0	13	21	16	22
250	90	6	25	7	2	19	16	12	10
255	80	0	36	10	1	12	16	5	10
264	100	4	63	4	10	10	9	4	0
265	87	3	41	2	1	19	13	3	7
270	100	4	43	31	1	15	17	8	12
271	100	7	46	1	1	21	12	7	6
278	100	9	50	18	0	18	10	6	7
280	100	0	85	1	0	10	5	0	0
282	89	1	63	21	0	14	6	3	2
283	100	8	53	0	2	27	9	0	1
289	100	15	65	0	0	11	7	0	2
293	100	7	47	1	0	24	14	4	4
297	100	2	40	0	0	27	22	5	4
300	100	3	47	0	0	14	12	8	16
316	100	1	68	2	0	13	9	5	4
319	100	13	37	15	3	15	15	9	8
323	100	3	56	6	1	23	12	4	1
325	100	7	43	0	2	29	19	5	5
329	100	5	56	0	0	7	18	11	13
332	95	10	39	1	0	18	12	10	6
333	100	1	44	0	0	18	13	10	14

Al comparar resistencia-rendimiento, la familia 243 coincidió en ambas características pues tuvo 41 clones resistentes y 35 con rendimiento de tubérculo superior a los 650 g/planta (Fig. 4). Otra familia que presentó la condición anterior pero en menor medida fue la familia 270 con 31 clones resistentes y 12 clones con pesos superiores a 500 g (Fig. 5).

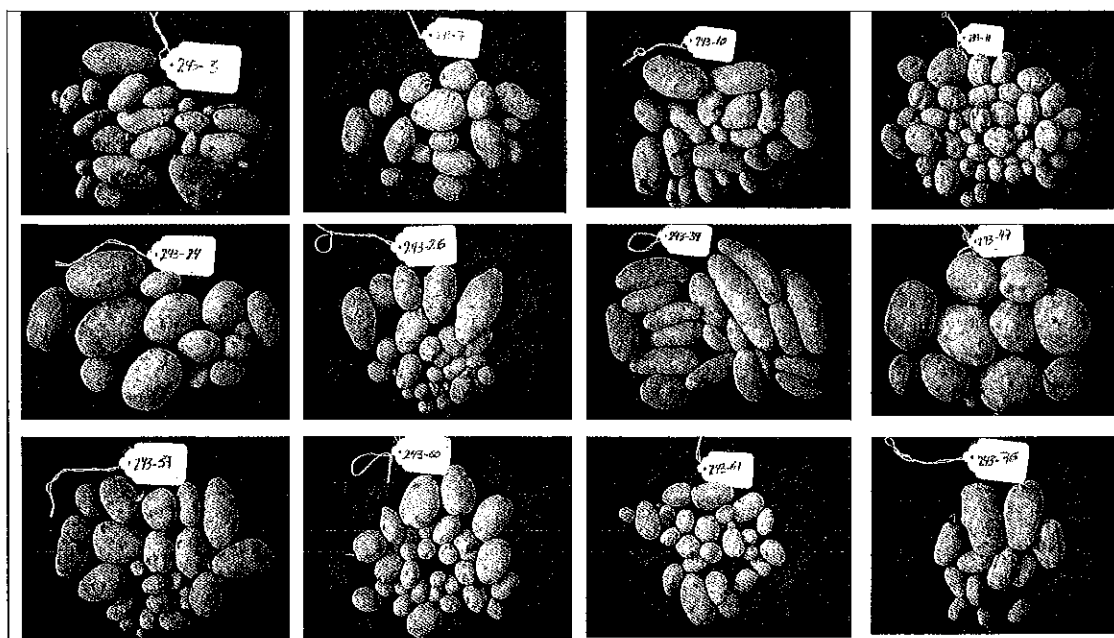


Figura 4. Tubérculos de los clones de papa de la Familia 243

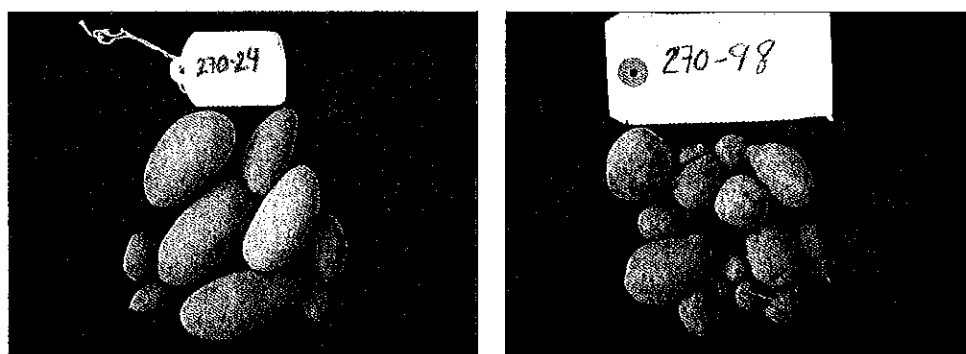


Figura 5. Tubérculos de los clones de papa de la Familia 270

La familia 300, quedó en tercer lugar con 16 clones con rendimientos superiores a los 500 g. Al comparar resistencia-rendimiento, esta familia no presentó la

característica para ser considerada resistente. A pesar de que el tizón acabó con la parte aérea de las plantas, éstas ya habían desarrollado tubérculos, mostrando así la precocidad de la planta.

La familia 249 tuvo 22 clones con un rendimiento superior a las demás, a pesar de que no fue de las que destaco en el porcentaje de infección, lo cual indica que hay presencia de resistencia al patógeno y cierta precocidad en el ciclo fisiológico de la planta.

6.3. Clones seleccionados para la determinación de enzimas

Una semana después de que se tomó la última lectura se realizó la colecta del material vegetal para su análisis de laboratorio. Se tomaron las hojas de aquellos clones que presentaron un porcentaje de infección foliar de ≤ 40 y sobre todo que presentaran 20 g de peso fresco de la hoja. En el Cuadro 5, se observan los clones seleccionados junto con el grado de infección que presentaron al final del ciclo, así como peso y número de tubérculos producido por clon; alguno de los clones no produjeron tubérculo como 243-51, 243-55, 249-29, 250-46, 278-16, 278-49, 278-75 y 319-36; los clones anteriores presentaron un grado de infección de ≤ 45 , característica por la cual pueden ser considerados resistentes a *P. infestans*, más al no tener producción de tubérculo, se consideraron fuera de la selección como clones resistentes.

Sin embargo, se busca para la selección de estos clones de primer año, la resistencia al tizón tardío el cual ataca principalmente al follaje, y en el caso de estos clones (Cuadro 5), fueron los que presentaron mayor resistencia al patógeno. En las

reacciones hospedante-patógeno la planta mantiene su resistencia a los patógenos por medio de hipersensibilidad, es decir, las células atacadas son tan sensibles al patógeno que ellas y muchas células adyacentes mueren de inmediato, aislando al patógeno o causando su muerte (Agrios, 2007).

Cuadro 5. Clones seleccionados para las pruebas de laboratorio.

Familia-Clon	Grado de infección	Peso de los tubérculo (g)	Numero de tubérculos obtenidos	Familia-Clon	Grado de infección	Peso del los tubérculo (g)	Numero de tubérculos obtenidos
239-69	35	400	12	249-06	20	450	16
242-98	40	1000	36	249-29	15	+	+
243-03	45	400	15	249-59	35	860	9
243-07	25	530	16	249-87	20	900	7
243-10	25	1000	21	250-46	45	+	+
243-11	25	1250	38	255-19	25	500	6
243-24	15	800	16	255-46	40	+	+
243-26	15	550	23	255-47	15	400	10
243-31	25	1350	27	270-24	25	350	8
243-38	10	1950	28	270-54	40	430	12
243-39	10	1360	19	270-98	10	250	11
243-47	10	1600	11	278-16	20	+	+
243-51	20	+	+	278-49	20	+	+
243-52	20	620	11	278-75	25	+	+
243-55	10	+	+	278-81	25	350	17
243-56	20	910	17	282-34	10	220	7
243-57	10	610	20	282-36	10	360	12
243-60	15	600	15	297-100	35	970	13
243-61	40	500	21	319-14	20	250	6
243-63	25	550	18	319-34	40	150	10
243-76	15	350	12	319-36	40	+	+
243-98	20	610	18	319-68	40	200	7

+ No hubo tubérculo

6.4. Determinación de fenoles y de las enzimas

6.4.1. Fenoles totales

Se presentó gran variación en la concentración de fenoles totales (Figura 6), siendo los clones 319-14 (1.15 mg g^{-1} de peso fresco), 243-47 (1.00 mg g^{-1} de peso fresco) y 243-63 (1.00 mg g^{-1} de peso fresco) los que presentan los valores más altos. Los clones 255-19 (0.47 mg g^{-1} de peso fresco), 319-34 (0.48 mg g^{-1} de peso fresco) y

243-61 (0.55 mg g⁻¹ de peso fresco) presentaron los niveles mas bajos en concentración de fenoles. El valor del resto de los clones oscila entre 0.98-0.63 mg g⁻¹ de peso fresco.

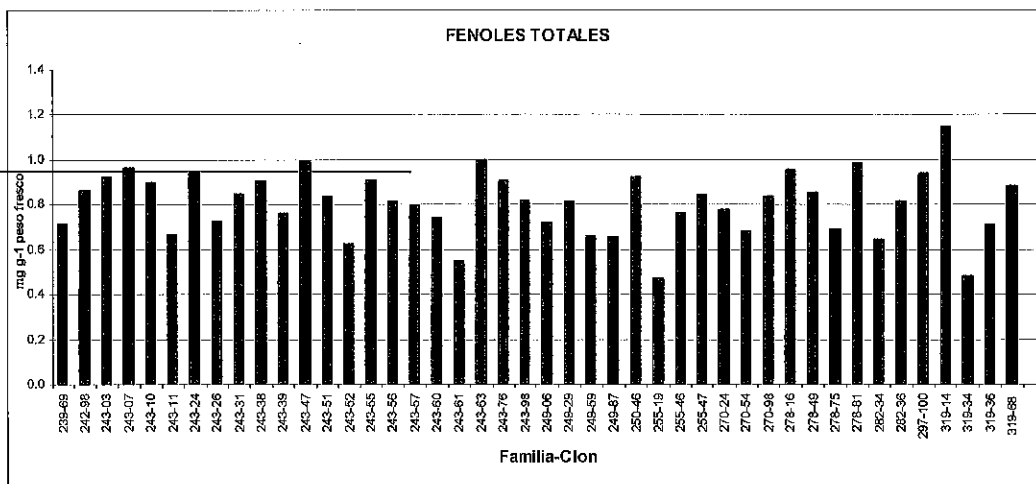


Figura 6. Concentraciones de fenoles totales en mg g⁻¹ de peso fresco en el follaje de los clones seleccionados.

Velazhahan y Vidhyasekaran (1994), mencionan que la acumulación de compuestos fenólicos durante la infección es alta en plantas resistentes y baja en plantas susceptibles entonces se consideró que los clones 319-14, 243-47 y 243-63 son altamente resistentes y que los clones 255-19, 319-34 y 243-61 son altamente susceptibles. Sin embargo el porcentaje de infección de los primeros es 10, 25 y 20% respectivamente y de los segundos 25, 40 y 40% de infección, por lo que se deduce que lo que confirió resistencia a los clones no fue la producción de fenoles totales.

Beckman, (2000), indica que si falla esta defensa, estos mismos procesos promueven la acumulación prolongada de ácido indolacético y de etileno que

promueven otra cascada de reacciones en células periféricas que incluye respuestas secundarias del metabolismo como resultado de una defensa mayor.

6.4.2. Actividad de Peroxidasa EC.1.11.1.7 (POX)

La actividad de esta enzima en los materiales seleccionados fue muy variable (Figura 7). Los valores más altos se presentaron en los clones 319-14 (37661.5 U g^{-1} de peso fresco), 282-34 (34713.2 U^{-1} de peso fresco) y 250-46 (32483.1 U^{-1} de peso fresco), con un rango de infección de 20, 10 y 25% respectivamente. Los valores más bajos los presentaron los clones 242-98 (3923.4 U^{-1} de peso fresco), 243-03 (3569.6 U^{-1} de peso fresco) y 243-39 (3532.3 U^{-1} de peso fresco). Los dos primeros clones presentaron un grado de infección mayor (40 y 45% respectivamente) y el clon 243-19 presentó el valor mas bajo de actividad de esta enzima, con un 10% de infección foliar final.

Los resultados arrojados por los clones seleccionados tienen mucho contraste, en primera porque no tienen relación con lo descrito por los autores Velazhahan y Vidhyasekaran (1994) y Gogoi *et. al.* (2001), los cuales encontraron mayor concentración de peroxidasa en las plantas que fueron infectadas por patógenos.

Siguiendo con la disyuntiva que no hay mucha relación entre la infección y la concentración de POX, se puede observar que en los clones restantes, los valores de concentración de la enzima oscilan entre 31611.3 y 5189.7 U g^{-1} de peso fresco y el nivel de infección fue desde el 10 al 45 %.

Robinson (1991), menciona que la peroxidasa cataliza la oxidación de los compuestos fenólicos y que las funciones fisiológicas de las peroxidasas en plantas no son claras, pero su intervención en reacciones peroxidativas y oxidativas, lignificación y degradación del ácido indolacético son bien conocidas; lo mencionado por estos autores coinciden con los resultados del clon 319-14, que presentó los valores más altos en fenoles, así como en POX.

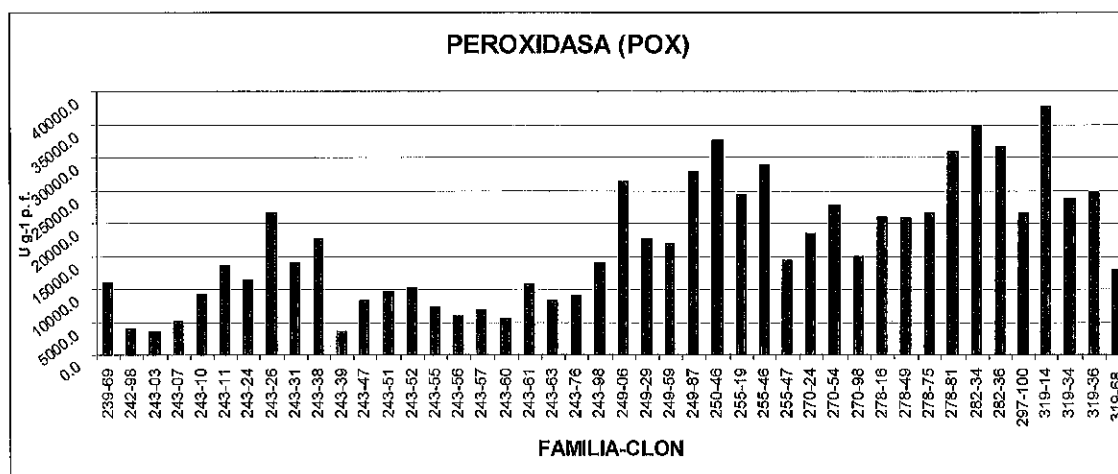


Figura 7. Actividad enzimática de Peroxidasa (POX) en $U\ g^{-1}$ de peso fresco en follaje de los clones seleccionados.

6.4.3. Actividad de Superóxido Dismutasa EC.1.15.1.1 (SOD)

Los clones que presentaron mayor actividad enzimática de Superóxido Dismutasa fueron el 278-75 ($637.73\ U\ g^{-1}$ de peso fresco), el 319-14 ($636.40\ U\ g^{-1}$ de peso fresco) y el 278-16 ($614.55\ U\ g^{-1}$ de peso fresco) cada clon en el orden que se describieron presentó un porcentaje de infección de 25, 20 y 20 (Figura 3).

Los tres clones que presentaron menor actividad de la enzima fueron el 239-69 ($20.55\ U\ g^{-1}$ de peso fresco) con un porcentaje de infección de 35%, el 249-87 ($21.78\ U\ g^{-1}$ de peso fresco) y el 243-63 ($U\ g^{-1}$ de peso fresco). El resto de los clones

presentaron un rango de actividad de la enzima de 581.85 a 52.62 U g⁻¹ de peso fresco (Figura 8).

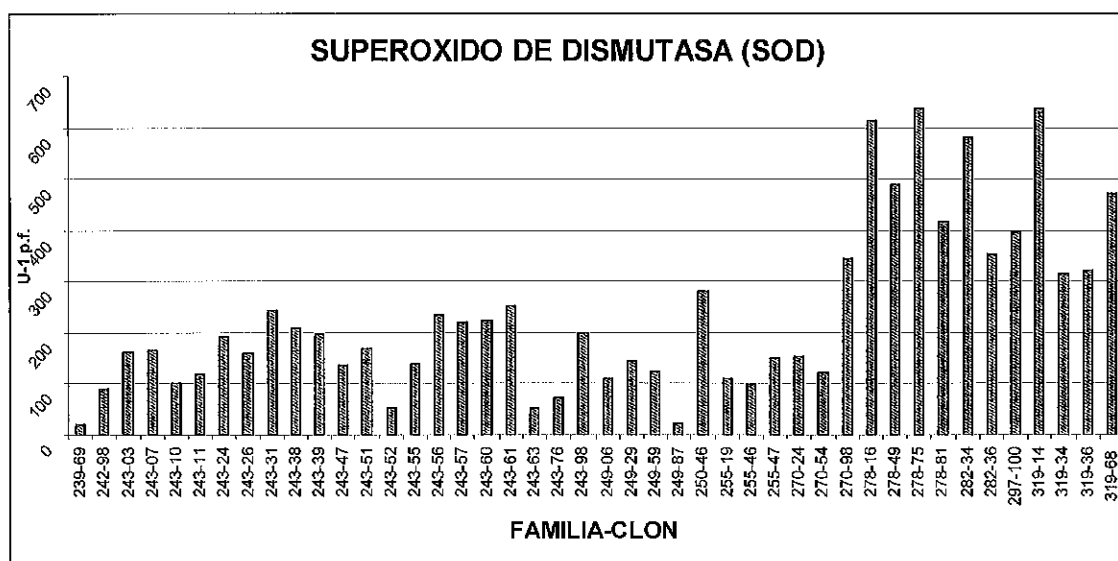


Figura 8. Actividad enzimática de Superoxido de Dismutasa (SOD) en U g⁻¹ de peso fresco en follaje de los clones seleccionados.

6.4.4. Actividad de Fenilalanina amonio-lias EC. 4.3.1.5 (PAL)

Al igual que las enzimas anteriores los valores entre la actividad mas alta y mas baja de la PAL varia (Figura 9). Los valores más altos los presentaron los clones 243-57 (1.080 U g⁻¹ de peso fresco), 297-100 (1.050 U g⁻¹ de peso fresco) y 319-14 (1.040 U g⁻¹ de peso fresco), con un porcentaje de infección de 10, 35 y 20 respectivamente. Los valores más bajos de la actividad ezimática lo manifestaron los clones 243-56 (0.2567 U g⁻¹ de peso fresco), 243-11 (0.2723 U g⁻¹ de peso fresco) y 243-24 (0.3161 U g⁻¹ de peso fresco), los cuales presentaron respectivamente 20, 25 y 15 % de infección.

Goodman, *et. al.* (1986), mencionan que la PAL es una enzima clave en la producción de la molécula básica que se utiliza para la biosíntesis de la mayoría de

los compuestos fenólicos, entre ellos las fitoalexinas y la lignina, lo cual le puede proporcionar cierta resistencia a la penetración y expansión del patógeno en la planta por lo cual de la población total que en un principio se tenía logró escapar a la infección total y ser recolectada para su análisis en laboratorio.

A pesar que Vargas (1998) reporta evidencias que demuestran mayor actividad de PAL en hojas, tallos y raíces de plantas resistentes en comparación con plantas susceptibles a diversos hongos, para el caso de los clones de este estudio, aparentemente no presentan un grado de asociación con el porcentaje de infección (a mayor infección mayor actividad de la PAL), lo cual debería de seguir la línea planteada por Velazhahan y Vidhyasekaran (1994) que indican alta actividad de PAL en los trabajos realizados con plantas de arroz (*Oriza sativa*).

Los resultados de la actividad enzimática entre clon y clon presenta una variación alta, pudiendo explicarse esta resistencia dado al origen genético de cada clon.

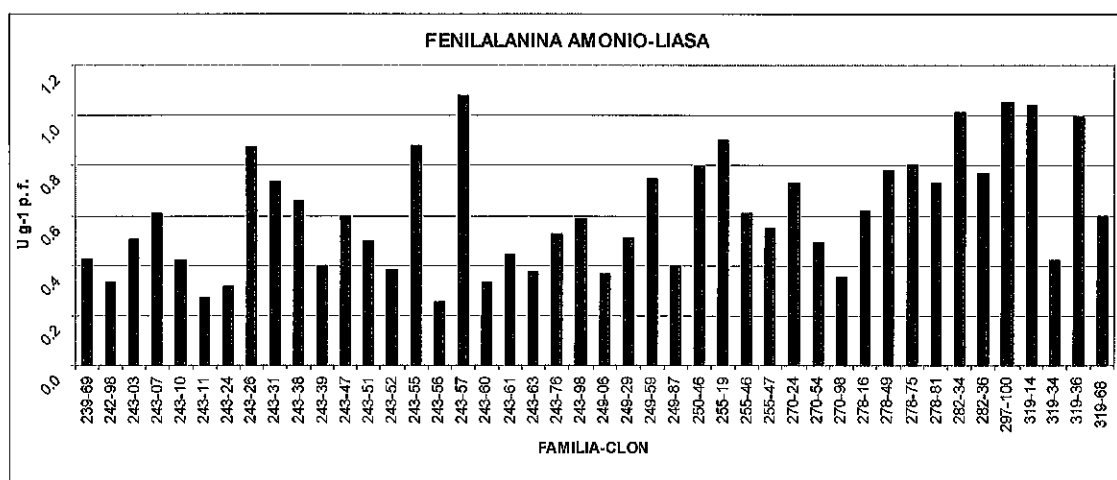


Figura 9. Actividad enzimática de Fenilalanina amonio-liasa (PAL) en U g⁻¹ de peso fresco, en el follaje de los clones de papa seleccionados.

6.5. Análisis de correlación de las variables

6.5.1. Correlación entre familias

Para conocer la magnitud y la dirección de la relación entre dos variables es necesario aplicar análisis de correlación entre éstas. En este estudio se correlacionaron las variables % de infección, peso total de los tubérculos, fenoles, POX, SOD y PAL para lo cual se utilizó el programa de software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (Anexo II), los resultados de la correlación entre una variable y se incluyen en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Correlaciones de las variables evaluadas entre familias seleccionadas

	FENOLES	SOD	POX	PAL	% DE INFECCIÓN	PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (g)
FENOLES	1	0.204 ^{ns}	-0.118 ^{ns}	0.121 ^{ns}	-0.187 ^{ns}	0.072 ^{ns}
SOD		1	0.475 ^{**}	0.490 ^{**}	-0.047 ^{ns}	-0.352 [*]
POX			1	0.500 ^{**}	0.099 ^{ns}	-0.362 [*]
PAL				1	-0.045 ^{ns}	-0.245 ^{ns}
% DE INFECCION					1	-0.224 ^{ns}
PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (G)						1

^{**}La correlación es significativa a nivel 0.05, ns= no significativo

La correlación que existe entre el % de infección con fenoles, SOD y PAL es de tipo negativa y débil, con valores entre -0.045 a -0.187, además los datos no presentan significancia. No existe relación directa entre la variable infección con fenoles, SOD y PAL (Cuadro 6).

Para las correlaciones % de infección/POX, Fenoles/SOD y Fenoles/PAL, la relación es positiva, pero débil lo cual indica que hay poca relación directa, además de que la significancia es imprecisa o no existe.

Cuando la reacción surge de un serial proveniente de una célula, el mecanismo de resistencia puede ser altamente específico, involucrando interacciones de gene por gene entre los genes de virulencia del patógeno y los genes correspondientes de resistencia en la planta. La respuesta puede ser también no específica, involucrando reacciones generales de resistencia como la acumulación de fitoalexinas inducidas por una señal de estrés, o desarrollando resistencia sistémica adquirida (RSA) (Parodi, 2001).

En el caso de la correlación existente entre POX/SOD, es positiva y débil ($r=0.475$), pero con una significancia a nivel 0.01, por lo que existe una relación positiva, si una variable aumenta la otra tenderá a aumentar.

La correlación existente entre POX/PAL es positiva y moderada, con una significancia a nivel de 0.01. En el caso de SOD/PAL la relación que tiende a ser en la misma proporción que la anterior. Para ambos y en poca medida una variable está asociada a la otra.

En general los autores indican que en los experimentos que han estudiado la actividad de las enzimas, así como la concentración de fenoles su acción depende en gran medida del grado de infección de la planta por lo que se estimó una regresión lineal poniendo como variable dependiente el % de infección y las variables predictorias al POX, SOD, PAL y Fenoles totales (ANEXO III).

La salida de resultados del coeficiente de regresión da la ecuación de regresión lineal para estimar el grado de infección de una planta:

$$y = 33.49 - 0.03 x_1 - 11.89x_2 - 3.509x_3 + 0.00x_4$$

y=Infección

x_1 =SOD

x_2 =FENOL

x_3 =PAL

x_4 =POX

La ecuación indica un valor constante (33.49) y a medida que el valor de las "x" aumenta, el porcentaje de infección disminuirá, solo la actividad de la enzima POX no influye en la infección.

6.5.2. Correlación dentro de familias

Se analizó la correlación existente entre cada variable estudiada dentro de cada una de las familias en donde ninguna de la variables tuvo valor significativo para la familia 243 (Cuadro 7).

Cuadro 7. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 243.

	FENOLES	SOD	POX	PAL	% DE INFECCIÓN	PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (g)
FENOLES	1	-0.247 ^{ns}	-0.225 ^{ns}	0.153 ^{ns}	-0.198 ^{ns}	0.063 ^{ns}
SOD		1	0.031 ^{ns}	0.188 ^{ns}	0.023 ^{ns}	0.197 ^{ns}
POX			1	0.256 ^{ns}	-0.137 ^{ns}	0.262 ^{ns}
PAL				1	-0.322 ^{ns}	-0.118 ^{ns}
% DE INFECCION					1	-0.252 ^{ns}
PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (G)						1

ns= no significativo

Para la familia 249 solo se presentó significancia en la relación peso total de los tubérculos/Fenoles, pero dicha relación es negativa ($r = -0.997$), lo cual significa que hay una respuesta inversamente proporcional, a mayor peso menos fenoles (Cuadro 8).

Cuadro 8. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 249.

	FENOLES	SOD	POX	PAL	% DE INFECCIÓN	PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (g)
FENOLES	1	0.664 ^{ns}	-0.386 ^{ns}	-0.173 ^{ns}	-0.655 ^{ns}	-0.997 ^{**}
SOD		1	-0.798 ^{ns}	0.473 ^{ns}	0.113 ^{ns}	-0.654 ^{ns}
POX			1	-0.841 ^{ns}	-0.384 ^{ns}	0.336 ^{ns}
PAL				1	0.801 ^{ns}	0.225 ^{ns}
% DE INFECCION					1	0.675 ^{ns}
PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (G)						1

^{**}La correlación es significativa a nivel 0.01, ns= no significativo

En la familia 255 solo se presentó una correlación significativa para PAL/Fenoles ($r = 0.999$), con un alto nivel de significancia (Cuadro 9), coincidente con Velazhahan y Vidhyasekaran (1994), que indican que la acumulación de compuestos fenólicos durante la infección es alta en plantas resistentes y baja en las susceptibles.

Cuadro 9. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 255.

	FENOLES	SOD	POX	PAL	% DE INFECCIÓN	PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (g)
FENOLES	1	0.492 ^{ns}	-0.408 ^{ns}	0.999 [*]	-0.092 ^{ns}	-0.485 ^{ns}
SOD		1	0.996 ^{ns}	-0.450 ^{ns}	-0.912 ^{ns}	0.523 ^{ns}
POX			1	0.365 ^{ns}	0.947 ^{ns}	-0.600 ^{ns}
PAL				1	0.045 ^{ns}	0.526 ^{ns}
% DE INFECCION					1	-0.826 ^{ns}
PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (G)						1

^{*}La correlación es significativa a nivel 0.05, ns= no significativo

En el caso de la familia 270 se presento una correlación significativa entre las variables % de infección/POX ($r=0.998$) (Cuadro 10). Gogoi *et. al.* (2001), en trigo encontraron que en variedades resistentes la actividad de la peroxidasa fue la más alta a los dos días después de la infección y en variedades susceptibles los niveles más altos de POX se presentaron a los seis días después de la infección.

Cuadro 10. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 270.

	FENOLES	SOD	POX	PAL	% DE INFECCIÓN	PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (g)
FENOLES	1	0.862 ^{ns}	-0.997 ^{ns}	-0.235 ^{ns}	-0.990 ^{ns}	-0.979 ^{ns}
SOD		1	-0.900 ^{ns}	-0.696 ^{ns}	-0.925 ^{ns}	-0.948 ^{ns}
POX			1	0.313 ^{ns}	0.998*	0.992 ^{ns}
PAL				1	0.371 ^{ns}	0.430 ^{ns}
% DE INFECCION					1	0.998 ^{ns}
PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (G)						1

*La correlación es significativa a nivel 0.05, ns= no significativo

La familia 278 presento una alta correlación en las variables Peso total/POX ($r=0.998$). Es decir a más POX correspondió más tubérculo (Cuadro 11).

Cuadro 11. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 278.

	FENOLES	SOD	POX	PAL	% DE INFECCIÓN	PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (g)
FENOLES	1	-0.590 ^{ns}	0.528 ^{ns}	-0.714 ^{ns}	-0.287 ^{ns}	0.574 ^{ns}
SOD		1	-0.749 ^{ns}	-0.114 ^{ns}	-0.139 ^{ns}	-0.785 ^{ns}
POX			1	-0.004 ^{ns}	0.630 ^{ns}	0.998**
PAL				1	0.463 ^{ns}	-0.029 ^{ns}
% DE INFECCION					1	0.577 ^{ns}
PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (G)						1

**La correlación es significativa a nivel 0.01

En la familia 319 ninguna de las variables presentó correlación (Cuadro 12).

Cuadro 12. Correlaciones de las variables evaluadas entre clones de la Familia 319.

	FENOLES	SOD	POX	PAL	% DE INFECCIÓN	PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (g)
FENOLES	1	0.948 ^{ns}	0.457 ^{ns}	0.668 ^{ns}	-0.814 ^{ns}	0.574 ^{ns}
SOD		1	0.497 ^{ns}	0.462 ^{ns}	-0.879 ^{ns}	0.794 ^{ns}
POX			1	0.643 ^{ns}	-0.849 ^{ns}	0.212 ^{ns}
PAL				1	-0.607 ^{ns}	-0.161 ^{ns}
% DE INFECCION					1	-0.617 ^{ns}
PESO TOTAL DE TUBERCULOS OBTENIDOS (G)						1

**La correlación es significativa a nivel 0.01, ns= no significativo

7. DISCUSION GENERAL

Solo sobrevivió en campo un porcentaje mínimo de la población total de los clones bajo estudio, sobresaliendo las familias 243, 270, 282, 278 y 319, con dos progenitores comunes, uno fue el clon A096850-1, como macho de la familia 243 y como hembra en la 282. El otro fue A096781-1, como macho en la familia 270 y como hembra en la 278. Estas circunstancias pueden sugerir que haciendo cruza con estos progenitores daría como resultado, clones más resistentes.

La concentración de fenoles totales, no estuvo relacionada con el porcentaje de infección, POX, SOD, PAL, en algunos casos la relación fue negativa y con significancia estadística; este mismo contexto se presentó para la relación que pudo haber tenido el % de infección con POX, SOD y PAL. Lo anteriormente descrito puede explicarse debido a que el origen genético de cada clon es distinto, cada clon es un individuo diferente y por la forma en reaccionar cada uno va a tener un comportamiento distinto, se requiere de que los clones sobrevivientes, seleccionados de campo y llevados al laboratorio para su análisis, en su segundo

año de evaluación sean sembrados con varias repeticiones por clon, para poder cuantificar de manera mas precisa que está pasando con la actividad enzimática que le pudiese heredar resistencia a *P. infestans*.

8. CONCLUSIONES

Solo una proporción minima de la población resulto resistente (8%), sobresaliendo cinco familias (243, 270, 278, 282 y 319) y dos progenitores en común (A096850-1 y A096781-1).

Los mecanismos de defensa funcionaron de manera limitada. Específicamente en casos positivos y con significancia estadística fueron SOD/POX, POX/PAL Y SOD/PAL. En el caso de SOD/Peso total de tubérculos obtenidos y POX/Peso total de tubérculos obtenidos, es de tipo negativa.

En Fenoles/SOD, Fenoles/POX, Fenoles/PAL, Fenoles/% de infección, SOD/% de infección, POX/ % de infección, PAL/% de infección, Fenoles/ Peso total de tubérculos obtenidos, PAL/ Peso total de tubérculos obtenidos y % de Infección/ Peso total de tubérculos obtenidos, no se presento un mecanismo de defensa.

9. LITERATURA CITADA

- Abbasi P. A., M. Y. Graham and T. L. Graham. 2001. Effects of soybean genotype on the glyceollin elicitation competency of cotyledon tissue to *Phytophthora sojae* glucan elicitor. *Physiol. and Mol. Plant Pathology*. 59:95-105
- Agrios G. N. 2007. Fitopatología. Editorial UTEHA. Noriega Editores Tercera Edición. México, D. F. 538 p.
- Alia-Tejacal I., M. T. Martínez- Damian y M. R. Soto-Hernández. 2002. Factores fisiológicos, biológicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H. E. Moore and Stearn) durante poscosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 8:263:271.
- Andreu A., C. Oliva, S. Distel and G. Daleo. 2000. Production of phytoalexins , glycoalkaloids and phenolics in leaves and tubers of potato cultivars with different degrees of field resistance after infection with *Phytophthora infestans*. *Potato Res*. 44:1-9.
- ASERCA. 1998. Revista Claridades Agropecuaria. Papa y Cebada. 57:1-24
- ASERCA. 2007. Revista Claridades Agropecuarias: "La punta Morada de la Papa" en México. 162:27-32.
- ASERCA. 2008. Revista Claridades Agropecuarias. La papa tesoro enterrado. ¿Porque la papa?. 174: 41-49.

- Arz C. M. and J. H. Grambow. 1995. Interrelationship between peroxidase, polyphenol oxidase activities and phenolic content of wheat for resistance to loose smut. *Biochem. Physiol. Pflanzen*. 180:75-80.
- Bayer de México, S. A. de C. V. 1991 Manual para la protección de la papa. México. 47 p.
- Beyer F. W and I. Fridovich 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analyt. Biochem.* 161:559-566.
- Beckman C. H. 2000. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants?. *Physiol. and Mol. Plant Pathol.* 57:101-110.
- Boller T. 1992. Ethylene-induced biochemical defenses against pathogens. *In*: Wareing P. F. ed. *Plant Growth Substances*. Academic Press. London. pp 303-312.
- Bostock R. M., J. A. Kuc and R. A. Laine. 1981. Eicosapentaenoic and arachidonic acids from *Phytophthora infestans* elicit fungitoxic sesquiterpens in the potato. *Science* 212: 67-69.

- Bovey R. y M. Baggiolini. 1989. La defensa de las plantas cultivadas. Tratado práctico de fitopatología y zoología agrícola. Segunda Edición. Ediciones Omega. Baelona España. 897 p.
- Buonaurio R., G. D. Torre and P. Montalbini. 1987. Soluble superoxide dismutase (SOD) in susceptible and resistant host-parasite complexes of *Phaseolus vulgaris* and tolerant isolates of *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *Physiol. and Mol. Plant Pathol.* 35:97-112.
- Chen Z. H. Silva and D. F. Klessing 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262:1883-1886.
- CONPAPA. 2000. Confederación Nacional de Productores de Papa de la República Mexicana. Boletín informativo. www.conpapa.org.mx.
- Cornelissen, B. J. C. and Melchers, L. S. 1993. Strategies for control of fungal diseases with transgenic plants. *Plant Physiol.* 101:709-712.
- Cvikrová, M., M. Hrubcová, M. Vágner, M Ivana, and J. Eder. 2003. Phenolic acids and peroxidase activity in alfalfa (*Medicago sativa*) embryogenic cultures after ethephon treatment. *Plant Pathol.* 52: 22-29.
- Darvill A. G. and P. Albersheim. 1984. Phytoalexins and their elicitors a defense against microbial infection in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35:243-275.

- Devadas S. K. and R. Raina. 2002. Preexisting systemic acquired resistance suppresses hypersensitive response-associated cell death in *Arabidopsis hr11* mutant. *Plant Physiol.* 128:1234-1244.
- De Wit P. J. G. M. 1992. Molecular Characterization of gene-for-gene systems in plant-fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30:391-418.
- Dixon R. A. and M. J. Harrison. 1991. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. *Adv. Genet* 28: 166-234.
- Dixon R. A. and C. J. Lamb. 1990. Molecular communication interactions between plants and microbial pathogens. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41:339-367.
- Duglas T. y B. Richarson. 1993. Enzimas. *In: Department of Food Science. Química de los alimentos. University of Winsconsin-Madison. Ed. Acriba. pp. 415-536.*
- Enkerli J., U. Gisi and E. Mosinger. 1993. Systemic acquired resistance to *Phytophthora infestans* in tomato and the role of patogenesis related proteins. *Physiol. and Mol. Plant Pathol.* 43:161-171.
- Estrada R. N. 2000. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. CIP-IPRGRI-PRACIPA-IBTA-PROINPA-COSUDE-CID. Edición de Hardy. Bolivia. 372 p.

- Farmer E. E. and C. A. Ryan. 1992. Octadecanoid precursor of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *Plant Cell* 4:129-134.
- Flurkey W. H. and J. J. Jen. 1978. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches . *J. of Food Sci.* 43:1828-1831.
- García P. E. 2004. Oxígeno: Herramienta para la fabricación de defensa bioquímica en la planta del chile. www.cienciaydesarrolloeninternet.com.
- Gogoi R., D. V. Singh and K. D. Srivatava. 2001. Phenols as a biochemical basis of resistance in wheat against Karnal bunt. *Plant Pathol.* 50: 470-578.
- Goodman N. R., Z. Kiraly and K. Wood. 1986. *The Biochemostry and Physiology of Plant Disease*. University of Missouri Press. Columbia. U. S. A. 433 p.
- Gustine D. L., R. T. Sherwood, B. G. Moyer and F. L. Lukezic. 1991. Metabolites from *Pseudomonas corrugata* elicit phytoalexin biosynthesis in white clover. *Phytopatology*. 80:1427-1432.
- Hahn M. G., A. G. Darwill and P. Albersheim. 1981. Host pathogen interaction XIX. The endogenous elicitor, a fragment of a plant cell wall polysaccharide that elicits phytoalexin accumulation in soybean. *Plant Physiol.* 68:1161-1169.

- Hammond-Kosack K. E. and J. D. Jones. 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell*. 8:1773-1781.
- Henfling W. J. 1987. Late blight of potato (*Phytophthora infestans*). Technical information bulletin 4. International Potato Center (CIP). Lima, Peru. 25 p.
- Jaramillo S. V. 2003. Monografía sobre *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. Universidad Nacional de Colombia. pp. 76-88.
- Jankiewicz L. S. y P. Sobieczewski. 2003. Reguladores de crecimiento, desarrollo y resistencia en las plantas. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 427-464 p.
- Keen N. T. 1981. Evaluation of phytoalexins. *In*: Staples R. C. Toenniessen G. H. eds. Plant Disease Control. Resistance and Susceptibility. Wiley-Interscience. New York. pp 155-177
- Kuc J. 1982. Induced immunity to plant disease. *BioScience*. 32:854-860.
- Lagunes, T. A., M. J. C. Rodríguez, S. D. Mota. 1998. Combate químico de plagas agrícolas en México. Colegio de Postgraduados. 266 p.
- Legrand M., B. Friting and and L. Hirth. 1976. Enzymes of the phenylpropanoid pathway and the necrotic reaction of hypersensitive tobacco to tobacco mosaic virus. *Phytochemistry*. 15:1353-1359.

- Levine A., R. Tenhaken, R. Dixon, and C. Lamb. 1994. H₂ O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*. 79: 583-593.
- Lewis N. G. and E. Yamamoto. 1990. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41:455-496.
- Linke C., C. Uwe, J. Wolfgang, B. Thomas, M. Adreas, D. Klaus and H. E. Neuhaus. 2002. Inhibitors of the plastid ATP/ADP transporter protein primes potato tubers for augmented elicitation of defense responses and enhances their resistance against *Erwinia carotovora*. *Plant Physiol.* 129: 1607-1615.
- Lynn D. G. and M. Chang. 1990. Phenolics signals in cohabitation: implications for plant development. *Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol. Biol.* 41:497-526.
- Lyon G. D. and P. Albersheim. 1982. Host-phagen interaction XXI. Extraction of a heat-labile elicitor of phytoalexin accumulation from frozen soybean stems. *Plant Physiol.* 70:406-409.
- Martínez-Tellez M. A. and M. T. La Fuente. 1997. Effect of high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase and polyphenol oxidase activities in flavedoof chilled fortune mandarin fruit. *J. Plant Physiol.* 150:674-678.

- Mendoza Z. C. 1996. Enfermedades Fungosas de Hortalizas. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 11-27.
- Mona C. M. 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiol.* 105:467-472.
- Mucharromah H., R. Burton and J. Kuc. 1995. The effect of sterols on phytoalexin, steroid glycoalkaloid, and sterol accumulation in potato tuber discs inoculated with *Phytophthora infestans* or treated with arachidonic acid. *Physiol. and Mol. Plant Pathol.* 47:13-27.
- Paris R. and L. Lamattina. 2002. Fluctuations of mitochondrial rRNA and rDNA content during the life cycle of *Phytophthora infestans*. En GILB'2 CONFERENCE: late blight managing the global threat. ABSTRATCS. 11-13 Juy, Germeny.
- Parodi P., P. 2001. Resistencia sistémica adquirida. Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Ciencias Vegetales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. X Congreso Nacional de Fitopatología-Resúmenes. 71 (1-2):33-73.
- Robinson D. S. 1991. Peroxidases and their significance in fruits and vegetables. *In*: P. F. Fox (ed.). Food ezymology. Vol. I. Elsevier, London. pp. 339-426.

- Romero C. S. 1993. Hongos Fitopatogenos. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de Patronato Universitario. Chapingo, Méx. 343 p.
- Rouxel T., A. Sarniguet and A. Kollmann. 1989. Accumulation of phytoalexin in *Brassica spp.* In relation to hypersensitive reaction to *Leptosphaeria maculans*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 34: 507-517.
- Ryals J., S. Uknes and E. Ward. 1994. Systemic Acquired Resistance. *Plant Physiol.* 104: 1109-1112.
- Saniewski M. 1995. Methyl jasmonate in relation to ethylene production and other physiological processes in selected horticultural crops. *Acta. Horticulture.* 394:85-98.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2008. www.siap.sagarpa.gob.mx
- Shiraishi T., T. Yamada, R. L. Nicholson and H. Kunoh. 1995. Phenylalanine ammonia-lyase in barley: activity enhancement in response to *Erysiphe graminis f. sp. Hordei* (race 1) a pathogen, and *Erysiphe pisi*, a nonpathogen. *Physiol. And Mol. Plant Pathol.* 46:153-162.
- Teliz O. D. 1999. Enfermedades del Maíz, Frijol, Trigo y Papa. Folleto. 81-84 p.

- Turkesteen L. J. and Flier, W. G. 2002. Late Blight: It's Global Status in 2002 and Beyond. In: Gilb' 02 CONFERENCE Late blight: Managing The global Threat. Abstracts.
- Umaerus, V. 1970. Studies on field resistance to *Phytophthora infestans* 5 Mechanisms of resistance and application to potato breeding. Molecular plant microbe Interactions. Vol. III: pp 72-77.
- Van De Velde F., F. Rantwijk y R. A. Sheldon. 2001. Improving the catalytic performance of peroxidases in organic síntesis. Trenes in Biotechnology 19:73-80.
- Vargas E. M. T. 1998. Cambios inducidos por *Nacobbus averrans* Thorne y Allen en la actividad de PAL en plantas de chile serrano CM-334 resistentes a *Phytophthora capsici* L. Tesis Maestria. Colegio de Posgraduados. Montecillos, México.
- Velazhahan R. and P. Vidhyasekaran. 1994. Role of phenolic compounds, peroxidase and polyphenol oxidase in resistance of groundnut to rust. Acta Phytopathol Entomol Hungarica. 29: 23-29.
- Vleeshouwers V. G. A. A.; Van Dooijeweert, W.; Govers, F.; Kamoun, and Colon, L. T. 2000. Does basal PR gene expression in *Solanum* species Contribute to non-specific Resistance to *Phytophthora infestans*?. Physiological and Molecular Plant Pathology. 57:35-42.

Waterman P. G. and S. Mole. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Ed.
Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK. 238 p.

Wastie R. L. 1991. Breeding for Resistance. In: Advances in Plant Pathology.
Academic Press Limited. 7:193-224.

Way H. M., K. Kazan, N. Mitter, G. Kenneth, G. R. Birch and J. M. Manners. 2002.
Constitutive expression of a phenylalanine ammonia-lyase gene from
Stylosanthes humilis in transgenic tobacco leads to enhanced disease
resistance but impaired plant growth. Physiol. and Mol. Plant Pathol. 60:275-
282.

ANEXO I: Temperatura, humedad y precipitación

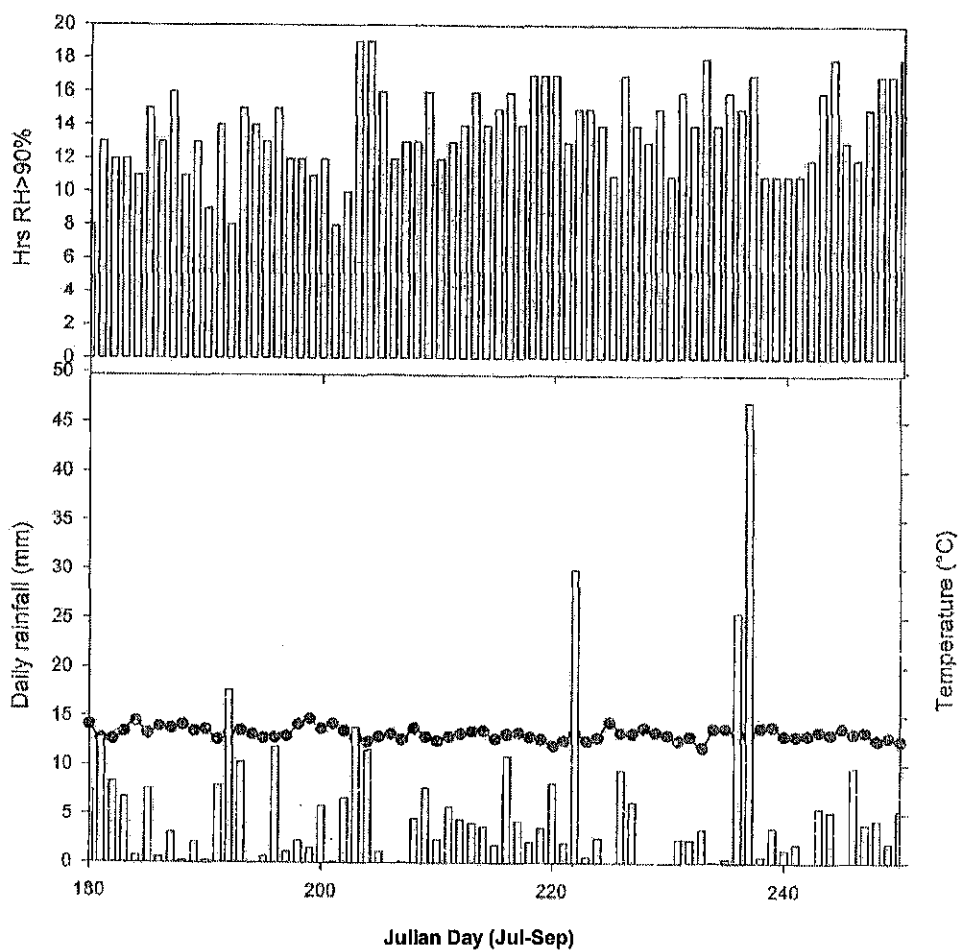


Figura 10. Condiciones meteorológicas imperantes durante el ciclo de cultivo de los lotes experimentales del presente reporte (verano del 2006, estación meteorológica propia). Humedad barras parte superior, temperatura y nubosidad parte inferior.

ANEXO II: Salida del programa SPSS del ANOVA y Coeficiente de Regresión

Variables introducidas/eliminadas(b)

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	pox, fenol, pal, sod(a)	.	Introducir

a Todas las variables solicitadas introducidas

b Variable dependiente: Inf

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,219(a)	,048	-,050	11,314

a Variables predictoras: (Constante), pox, fenol, pal, sod

ANOVA(b)

Modelo		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	250,785	4	62,696	,490	,743(a)
	Residual	4992,397	39	128,010		
	Total	5243,182	43			

a Variables predictoras: (Constante), pox, fenol, pal, sod

b Variable dependiente: Inf

Coeficientes(a)

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	33,499	11,207		2,989	,005
	Sod	-,003	,013	-,046	-,235	,815
	Fenol	-11,891	12,940	-,153	-,919	,364
	Pal	-3,509	9,145	-,074	-,384	,703
	Pox	,000	,000	,139	,707	,484

a Variable dependiente: Inf