

# Efecto de antioxidantes y señalizadores en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) infectadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum* bajo condiciones de invernadero

## Effect of antioxidants and signals in potato plants (*Solanum tuberosum* L.) infected with *Candidatus Liberibacter solanacearum* under greenhouse conditions

Areli González Cortés\*, Eulalia Edith Villavicencio Gutiérrez\*\*,  
María Alejandra Torres Tapia\*\*\*, Víctor Manuel Zamora Villa\*\*\*\*,  
Isidro Humberto Almeyda León\*\*\*\*\*

### Resumen

En México, las pérdidas ocasionadas en el cultivo de la papa por el síndrome punta morada (PMP), son del orden del 30 al 95 %. Este síndrome ha sido asociado principalmente a la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*, la cual, ocasiona reducción en el rendimiento y calidad de la cosecha ya que los tubérculos presentan pardeamiento interno, lo cual, no es deseable ni para el consumo en fresco ni para la industria. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de tres compuestos que actúan como antioxidantes y/o señalizadores para reducir el daño causado en la papa por *Ca. L. solanacearum* bajo condiciones de invernadero. Se utilizaron plantas producidas *in vitro*, infectadas con *Ca. L. solanacearum* y sin infección, Los compuestos evaluados fueron: ácido dehidroascórbico (600 ppm), ácido ascórbico (600 ppm) y peróxido de hidrógeno (1 mM), y se aplicaron en plantas infectadas y no infectadas dos veces por semana. Los controles fueron plantas infectadas y no infectadas sin aplicación de antioxidantes. Para evitar el error experimental en la aplicación de los compuestos evaluados el diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar. Se observó reducción en el daño ocasionado por *Ca. L. solanacearum* y se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos en la producción de tubérculos. El mayor número de tubérculos en los tratamientos que incluyeron plantas no infectadas fue obtenido por la aplicación del peróxido de hidrógeno, superando en un 33 %, 48 % y 59 % a las plantas tratadas con ácido dehidroascórbico, con ácido ascórbico y a las plantas controles respectivamente. De igual manera, el mayor número de tubérculos en tratamientos que incluyeron plantas infectadas se obtuvo con la aplicación de peróxido de hidrógeno, superando en un 33 %, 17 % y 67 % a los tratamientos con ácido dehidroascórbico, con ácido ascórbico y a plantas control respectivamente. Estos resultados demuestran un efecto potencial de los compuestos evaluados en la tolerancia de las plantas de papa contra *Ca. L. solanacearum*, aunque su función no es disminuir el crecimiento o desarrollo de la bacteria.

**Palabras clave:** ácido dehidroascórbico, ácido ascórbico, peróxido de hidrógeno, síndrome, punta morada, papa.

### Abstract

In Mexico, the losses caused by the purple top syndrome in potato range from 30 to 95%. This syndrome has been greatly associated with the bacterium *Candidatus Liberibacter solanacearum*, which produces reduction in yield and in crop

\* Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, Col. Buenavista, CP25315, Saltillo, Coahuila, México, areli\_morelos@live.com.mx.

\*\* Campo Experimental Saltillo-Centro de Investigación Regional del Noreste-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Carr. Saltillo-Zacatecas km. 342+119, Col. Hacienda de Buenavista, CP 25315, Saltillo, Coahuila, México, villavicencio.edith@inifap.gob.mx.

\*\*\* Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, Col. Buenavista, CP25315, Saltillo, Coahuila, México, atorres\_tapia@hotmail.com.

\*\*\*\* Departamento de Fitomejoramiento Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, Col. Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México, vzamvil@uaaan.mx.

\*\*\*\*\* Centro de Investigación Regional Noreste-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km 61 Carr. Matamoros-Reynosa, CP88900, Cd. Río Bravo, Tamaulipas. Autor para correspondencia: almeyda.isidro@inifap.gob.mx.

quality, the tubers have internal browning, which is not desirable either for fresh consumption or for the industry. Present study was conducted to evaluate the efficiency of three products that act as antioxidants and / or signs to reduce damage on potato caused by *Ca. L. solanacearum* under greenhouse conditions. Plants uninfected and infected with the bacterium, produced *in vitro* were used. The products evaluated were: dehydroascorbic acid (600 ppm), ascorbic acid (600 ppm) and hydrogen peroxide (1 mM), and were applied to infected and uninfected plants twice a week. Infected and uninfected plants without application of antioxidants were used as control treatments. To avoid experimental error in the application of the products evaluated the experimental design was a randomized complete block. A reduction of potato damage by *Ca. L. solanacearum* was registered, and there were significant differences among treatments in the tubers production. The largest tuber number in treatments that included uninfected plants was obtained in the hydrogen peroxide application, which exceeded a 33 %, 48 % and 59 % to plants treated with dehydroascorbic acid, with ascorbic acid and the controls respectively. Similarly, the largest tuber number in treatments included infected plants was obtained by hydrogen peroxide, and it exceeded a 33 %, 17 % and 67 % to treatments with dehydroascorbic acid, with ascorbic acid and the controls respectively. These results show a potential effect of the products evaluated to protect potato plants against *Ca. L. solanacearum*, although its function is not to diminish the growth or development of bacteria.

**Key words:** Dehydroascorbic acid, ascorbic acid, hydrogen peroxide, syndrome, purple top, potato.

**Recibido:** febrero 10 de 2014

**Aprobado:** octubre 21 de 2014

## Introducción

En México, las pérdidas ocasionadas por el síndrome de la punta morada de la papa (PMP), son del 30 al 95 %, reduciendo el rendimiento y calidad del cultivo (Martínez *et al.*, 2007; Arellano *et al.*, 2010). La disminución directa en la viabilidad de los tubérculos que se usan como semilla se debe a este síndrome, asociado con la presencia de fitoplasmas de los Grupos 16SrI y 16SrII (Leyva *et al.*, 2002) y *Ca. L. solanacearum*, siendo esta bacteria la que más se asocia con la enfermedad (Rubio *et al.*, 2011). Los síntomas típicos de la infección por este patógeno son la reducción de altura de la planta, engrosamiento del tallo, acortamiento de entrenudos, enrollamiento de la hoja apical, coloración púrpura del follaje, clorosis, formación de tubérculos aéreos, baja producción de tubérculos y diferentes grados de pardeamiento de la pulpa del tubérculo, (Hooker, 1981; INIFAP, 2000; Cadena *et al.*, 2003; Secor *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2007). Considerando que la semilla es el insumo más importante en todo cultivo, la disponibilidad de semilla sana y de buena calidad es uno de los principales factores que limitan la producción de papa.

El síndrome PMP, se ha incrementado notablemente en la región papera de Coahuila y Nuevo León, México, con pérdidas de hasta el 100 %, afectando principalmente la calidad de la papa en cuanto a tamaño, manchado y freído (Flores *et al.*, 2004; Flores y Flores, 2008; Rubio *et al.*, 2006).

El síndrome PMP es un conjunto de síntomas desarrollados principalmente por el ataque de la bacteria *Ca. L. solanacearum* y fitoplasmas (organismos pleomórficos sin pared celular que habitan en el floema de las plantas) (Cadena *et al.*, 2003; Flores *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; Herrera *et al.*, 2013; Garzón *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2006; Alarcón, 2007; Martínez *et al.*, 2007; Alarcón *et al.*, 2009; Rubio *et al.*, 2011). En Estados Unidos la enfermedad causada en la papa por *Ca. L. solanacearum* se le conoce como Zebra Chip (ZC) debido al

pardeamiento que ocasiona en la pulpa del tubérculo (Abad *et al.*, 2009; Liefting *et al.*, 2009), e inicialmente a la bacteria se le nombro *Candidatus Liberibacter psyllauros* (Hansen *et al.*, 2008). Otro problema sanitario es el Amarillamiento del Psílido (AP), ocasionado según algunos autores por la inyección de toxinas que realiza el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc. al alimentarse de la planta (Severin, 1940; Wallis, 1948; Liu *et al.*, 2006), aunque hasta la fecha no se ha realizado la descripción bioquímica de esas toxinas.

Los ensayos realizados por diversos investigadores mencionan una asociación del psílido *B. cockerelli* con la presencia y diseminación de las tres enfermedades antes mencionadas (PMP, ZC y AP); por lo tanto, para asegurar el rendimiento y la calidad de la producción, se han implementado prácticas como el establecimiento de fechas de siembra, eliminación de focos de infestación (plantas de papa con síntomas de PMP y otras hospederas del psílido), uso de semilla-tubérculo sano y de enemigos naturales, así como el uso intensivo de agroquímicos con la finalidad de disminuir las poblaciones del psílido y en consecuencia reducir la incidencia de estas enfermedades (Avilés *et al.*, 2003).

Actualmente las medidas empleadas para combatir la enfermedad no han sido eficientes. Los estudios realizados para la comprensión de mecanismos de patogenicidad de fitoplasmas y *Ca. L. solanacearum* son restrictivos, y la incapacidad de reproducir estos fitopatógenos *in vitro* ha obstaculizado su caracterización bioquímica y pruebas de bioensayos para establecer su control químico (Lee *et al.*, 1998; Seemüller *et al.*, 1998; Poghosyan y Lebsky, 2009; Sánchez, 2010).

El estudio de la naturaleza, función y modo de acción de los agentes causales de la PMP como patógenos de diversos cultivos vegetales es muy difícil, ya que hasta la fecha no existen métodos de aislamiento y cultivo para su experimentación sobre métodos químicos para su control. Una alternativa para reducir el daño ocasionado por los patógenos causantes del síndrome

de punta morada consiste en el incremento de la resistencia o tolerancia de las plantas a estos organismos, ya que la eliminación del patógeno hasta el momento no ha sido posible con ningún tratamiento químico. Por lo anterior, la presente investigación tuvo como finalidad evaluar la efectividad del ácido dehidroascórbico, del ácido ascórbico y del peróxido de hidrógeno, para atenuar la expresión sintomática del síndrome punta morada de la papa y reducir su efecto en la baja producción y pardeamiento interno de los tubérculos

## Materiales y Métodos

El experimento se realizó durante los años 2010 y 2011 en un invernadero del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Campo Experimental Saltillo (INIFAP-CEASAL), con una ubicación geográfica de 25° 27' 55.2" latitud N y 101° 00' 09.1" longitud O. Como material vegetal se utilizaron plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.), variedad Vivaldi que es altamente susceptible al síndrome de punta morada. Las plantas fueron producidas mediante micropropagación en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del INIFAP, ubicado en Saltillo, Coahuila, México, bajo el esquema descrito por Espinoza *et al.* (1985) y Villavicencio *et al.* (2010), y se generaron a partir de plantas colectadas en campo con síntomas de PMP y de plantas no infectadas desarrolladas en invernadero (para establecer la sanidad y/o infección del material vegetal utilizado, se realizaron análisis para la detección de *Ca. L. solanacearum* mediante la técnica de PCR). Plantas *in vitro* en etapa de multiplicación con 30 días de edad se sometieron a la etapa de aclimatación durante 15 d, posteriormente se trasplantaron a macetas de 6" (tres plantas por maceta) que contenían una mezcla de 2:1 v/v de "peat moss" y agrolita. Las plantas se mantuvieron en invernadero con temperatura de 14-26 °C bajo fotoperíodo de 16/8 h luz/oscuridad. Para evitar la contaminación del material sano, las plantas fueron cubiertas con tela antiafidos con un tamaño del poro de 0.82 mm.

Los compuestos evaluados fueron; ácido dehidroascórbico (600 ppm), ácido ascórbico (600 ppm) y peróxido de hidrógeno (1 mM), los cuales, que fueron seleccionados a partir de los trabajos realizados por Romero y López en el 2009 y Sánchez *et al.*, en el 2011. La aplicación de los compuestos se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Sánchez en el 2010, que consistió en aplicar un volumen de 20 mL por maceta, asperjando las plantas con un aspersor Marca Trupper de boquilla de fina (diámetro de gota de 50 a 100 micras), haciendo las aplicaciones dos veces por semana a partir de los 20 d después del trasplante hasta cosecha, realizando en total 32 aplicaciones durante el desarrollo del cultivo, los testigos positivos y negativos se asperjaron con agua destilada, el pH se ajustó a 5.7 con KOH 1N (tabla 1), y se agregó polisorbato 20 (Tween, Reasol) como surfactante

al 0.01% con el propósito de mantener el equilibrio químico y permitir la absorción de los compuestos por las plantas.

**Detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum*.** La detección de la bacteria tanto en plantas no infectadas y con síntomas, se realizó por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La extracción del ADN se realizó a partir de las nervaduras de las hojas más nuevas, de acuerdo al protocolo descrito por Almeyda-León *et al.* (2008). En la detección molecular de *Ca. L. solanacearum* se utilizaron los iniciadores Lp16S-1F/Lp16S-1R (Hansen *et al.*, 2008), que amplifican un fragmento de aproximadamente 400 pb del gen que codifica para el ARN ribosomal 16S de *Ca. L. solanacearum*. Las condiciones de las reacciones y el programa de amplificación utilizado fueron los reportados por Rubio *et al.* (2011).

**Tabla 1.** Tratamientos y dosis utilizadas en la evaluación de tres compuestos para reducir el daño causado por el síndrome de punta morada de la papa.

Tratamiento	Compuesto Evaluado	Dosis
T1	Plantas con <i>Ca. L. solanacearum</i> + Acido dehidroascórbico	600 ppm
T2	Plantas con <i>Ca. L. solanacearum</i> + Acido ascórbico	600 ppm
T3	Plantas con <i>Ca. L. solanacearum</i> + Peróxido de hidrógeno	1 Mm
T4	Plantas con <i>Ca. L. solanacearum</i> sin antioxidantes	-----
T5	Plantas sin <i>Ca. L. solanacearum</i> + Acido dehidroascórbico	600 ppm
T6	Plantas sin <i>Ca. L. solanacearum</i> + Acido ascórbico	600 ppm
T7	Plantas sin <i>Ca. L. solanacearum</i> + Peróxido de hidrógeno	1 Mm
T8	Plantas sin <i>Ca. L. solanacearum</i> y sin antioxidantes	-----

**Variables agronómicas evaluadas.** Las variables evaluadas al final del ciclo fueron: altura de la planta (AP), número de hojas por planta (NHP) y número de folíolos por planta (NFP). En la cosecha, realizada a los 120 días después del trasplante (ddt), al final del ciclo se evaluó el número de tubérculos por planta (NTP), diámetro polar de tubérculos (DPT), diámetro ecuatorial de tubérculos (DET) y peso de los tubérculos por planta (PT). A pesar de su alto grado de variación el DPT, el DET y el PT, se seleccionaron como variables agronómicas a evaluar, ya que se constituyen como las principales características que se toman en consi-

deración para seleccionar las diferentes categorías de tubérculos a nivel comercial.

**Análisis estadístico.** Para reducir en todo lo posible el error experimental, se utilizó el diseño en bloques al azar, cada tratamiento constó de tres plantas con tres repeticiones por tratamiento. El análisis estadístico de cada parámetro se llevó a cabo con el GLM del SAS para determinar el ANOVA y la prueba de medias mediante Tukey al  $P < 0.05$  de probabilidad (SAS, 2001).

## Resultados

**Detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum*.** Las 11 plantas colectadas en campo con síntomas de PMP y a partir de las cuales se obtuvieron las plantas que fueron tratadas con los compuestos evaluados, resultaron positivas por PCR al realizar su análisis para *Ca. L. solanacearum*, amplificando el fragmento esperado de aproximadamente 400 pares de bases (pb) (figura 1). Los fragmentos amplificados fueron secuenciados y comparados con las secuencias de la bacteria reportadas en el Gene Bank (datos no mostrados), corroborándose que las secuencias obtenidas correspondían a *Ca. L. solanacearum*. Posteriormente, a los 30, 60 y 90 ddt, también se realizó el análisis para la detección de la bacteria, confirmándose su presencia en las plantas provenientes de plantas infectadas y la ausencia en las plantas generadas a partir de plantas no infectadas (datos no mostrados).

**Variables agronómicas evaluadas** Se observaron diferencias significativas al  $P < 0.05$  de probabilidad entre los tratamientos evaluados. En el T1 (ac. dehidroascórbico aplicado en plantas infectadas), fue donde se registró la mayor altura de planta, este mismo compuesto aplicado en plantas no infectadas (T5), registró una menor altura de planta, pero estadísticamente fueron similares (tabla 2). Todos los tratamientos tuvieron el mismo manejo agronómico (riego, fertilización, etc.), por lo tanto, se puede inferir que los resultados obtenidos corresponden a la aplicación o no aplicación de los productos evaluados y si estaban infectados o no con la bacteria.

En los tratamientos con ac. ascórbico (T2 y T6) y sin aplicación de antioxidantes (T4 y T8), fue donde se obtuvieron los valores más bajos en la altura de planta y presentaron la misma tendencia que en los tratamientos con ac. dehidroascórbico, donde los mayores

valores de altura de planta se registraron en las plantas infectadas. En los tratamientos con peróxido de hidrógeno (T3 y T7), el mayor valor de altura de la planta se registró en las plantas no infectadas, sin embargo no se registró diferencia estadística entre estos dos tratamientos (tabla 2).

Los resultados observados en el número de hojas y número de folíolos por planta, presentaron una tendencia similar a los obtenidos en la altura de planta. Los valores más altos se registraron en los tratamientos T1 y el T5, siendo estadísticamente similares al  $P < 0.05$  de probabilidad entre ellos, pero diferentes con el resto de los tratamientos a excepción del tratamiento con peróxido de hidrógeno en la variable número de hojas por planta. Los valores más bajos en el número de hojas y número de folíolos por planta se registraron en los tratamientos con ac. ascórbico (T2 y T6) y sin aplicación de antioxidantes (T4 y T8). Los tratamientos con ac. ascórbico y sin aplicación de antioxidantes, presentaron la misma tendencia que en los tratamientos con ac. dehidroascórbico, donde los mayores valores de número de hojas por planta se registraron en las plantas infectadas, excepto con el peróxido de hidrógeno, que mantuvo la tendencia de registrar los mayores valores cuando se aplicó en plantas no infectadas (tabla 2).

**Tabla 2.** Respuesta de las variables agronómicas evaluadas en la variedad Vivaldi de papa bajo condiciones de invernadero.

Tratamiento	AP (cm)	NHP	NFP
T1	40.55 a	14.44 a	43.33 a
T2	29.00 de	10.88 def	32.77 efg
T3	34.77 bc	12.00 cde	36.77 cde
T4	28.11 e	10.44 efg	31.55 fgh
T5	38.44 ab	13.66 ab	40.44 abc
T6	23.66 fg	8.88 gh	27.55 i
T7	35.77 bc	13.11 abc	37.77 bcd
T8	24.88 ef	9.49 fgh	29.33 hi
NS	**	**	**
X	31.83	11.48	34.61
CV	8.37	8.52	8.25

\*\*= Significativo, X=media y CV= Coeficiente de variación. AP = Altura de planta; NHP = Número de hojas por planta; NFP = Número de folíolos por planta.



**Figura 1.** Fragmentos amplificados mediante PCR utilizando los iniciadores Lp16S-1F/Lp16S-1R y ADN de plantas de papa provenientes de campo con síntomas del síndrome de punta morada. Carril M= Marcador de peso molecular; Carriles 1-2, 4-12: Plantas de papa con síntomas de infección por PMP, Carril 3: Control negativo, Carril 13: Control Positivo.

El número de tubérculos por planta, manifiesta una tendencia clara con relación al compuesto aplicado. El T7 (aplicación de peróxido de hidrógeno en plantas no infectadas) obtuvo el mayor número de tubérculos por planta y fue estadísticamente diferente del resto de los tratamientos a excepción del T6. El mayor número de tubérculos en plantas infectadas también se registró en el tratamiento de peróxido de hidrógeno y es estadísticamente similar con los tratamientos T1 y T2. El menor número de tubérculo por planta se registró en los tratamientos sin aplicación de ningún compuesto, tanto en plantas no infectadas como en plantas infectadas (figura 1a).

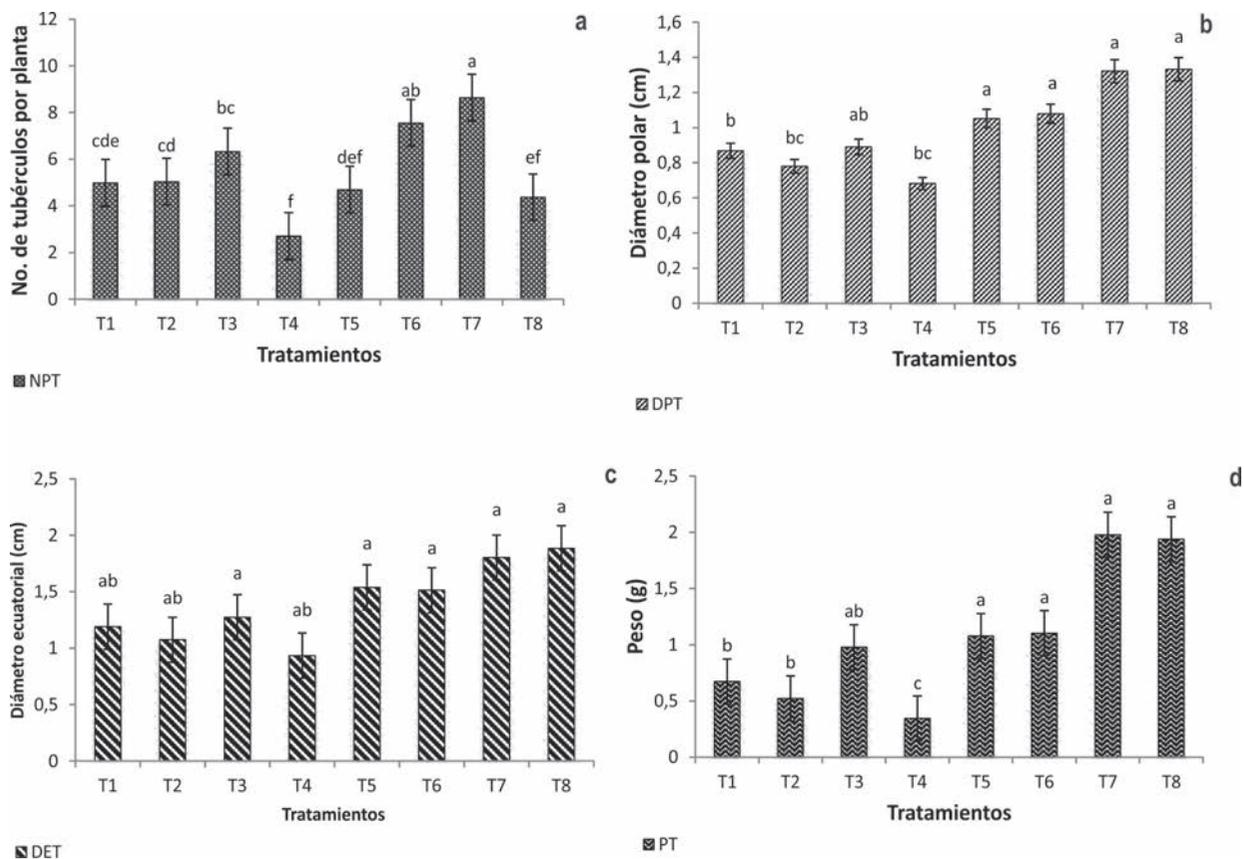
El mayor diámetro polar se registró en plantas no infectadas con aplicación de peróxido de hidrógeno y sin aplicación de antioxidantes (T7 y T8), pero no se observó diferencia estadística al  $P < 0.05$  de probabilidad con los tratamientos T3, T5 y T6. Los valores más bajos del diámetro polar se registraron en los tratamientos aplicados en plantas infectadas y fueron estadísticamente diferentes con el resto de los tratamientos, excepto el T3 (figura 1b). El mayor diámetro ecuatorial también fue registrado en los tratamientos T7 y T8, pero no se registró diferencia estadística al  $P < 0.05$  de probabilidad

con el resto de los tratamientos, aunque los valores más bajos registrados con esta variable al igual que con el diámetro polar fue en los tratamientos aplicados en las plantas infectadas (figura 1c).

El peróxido de hidrógeno aplicado a plantas no infectadas, también fue el compuesto que obtuvo el mayor peso de tubérculo, pero no se registró diferencia estadística al  $P < 0.05$  en esta variable con los otros dos tratamientos aplicados en plantas no infectadas y con plantas no infectadas sin aplicación de ningún compuesto. Tampoco se registró diferencia estadística con el peróxido de hidrógeno aplicado en plantas infectadas (figura 1d).

### Discusión

Este estudio se realizó bajo condiciones de invernadero y las plantas infectadas por *Ca. L. solanacearum* que no tuvieron la aplicación de ningún compuesto, presentaron algunos síntomas típicos de infección por este patógeno parecidos a los observados en campo, tales como el engrosamiento del tallo, acortamiento de los entrenudos y baja producción y peso de tubérculos. Sin embargo, otros síntomas inducidos por la bacteria bajo condiciones de campo como el enro-



**Figura 1.** Efecto de antioxidantes y señalizadores en las variables agronómicas de rendimiento de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Vivaldi en invernadero. a) Número de tubérculos por planta (NT); b) Diámetro polar de tubérculo (DPT); c) Diámetro ecuatorial de tubérculo (DET); d) Peso tubérculo (PT).

llamiento de la hoja apical y coloración púrpura, clorosis y formación de tubérculos aéreos (INIFAP, 2000; Cadena *et al.*, 2003; Secor *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2007), estuvieron ausentes, posiblemente debido a que el ambiente bajo invernadero es más estable en contraste a las condiciones de campo donde se producen cambios ambientales bruscos (Sánchez *et al.*, 2011). Además, bajo condiciones de campo las plantas están expuestas a la colonización constante del vector con el consecuente incremento de la concentración del patógeno, como lo reporta Sánchez (2010), pero en la var. Alpha. Hren *et al.* (2009), reportan el impacto climático en el incremento de expresión sintomatológica en plantas infectadas por algunos patógenos, como es el caso de la vid infectada por fitoplasmas.

Los tres compuestos evaluados en este estudio presentaron resultados positivos con respecto a la altura de la planta, número de hojas por planta y número de foliolos por planta, pero bajo condiciones diferentes. El ácido dehidroascórbico proporciona mejores resultados cuando se aplica a plantas infectadas, en el ácido ascórbico los mejores resultados se obtuvieron al aplicarlo en plantas no infectadas, mientras que el peróxido de hidrogeno genera una respuesta similar entre plantas no infectadas y plantas infectadas. Lo anterior puede deberse a que las plantas reaccionan al ataque de patógenos con una serie de mecanismos de defensa inducibles e integrados por un sistema complejo de señales, dando lugar a cascadas de fosforilación de proteína y la activación del factor de transcripción (Hayat *et al.*, 2009). También se ha asociado la aplicación exógena del ac. dehidroascórbico a la promoción de la elongación celular y actividad meristematica (Herrera *et al.*, 2013), lo que puede explicar la mayor altura y mayor número de hojas por planta registrada en los tratamientos donde se aplicó este compuesto. El ac. ascórbico, ha sido reportado como responsable en el incremento del número de hojas, de ramas y peso fresco de ramas en berenjena (El-Tohamy *et al.*, 2008); en plantas de papa con o sin PMP se ha demostrado que puede promover el crecimiento vegetal expresado en su desarrollo foliar, lo que permite mayor capacidad fotosintética y puede incrementar la actividad enzimática de la catalasa (Romero y López 2009), sin embargo, en este trabajo fue el compuesto que registró los valores más bajos en la variables agronómicas evaluadas. Se ha establecido que algunos compuestos que actúan como señalizadores como el ác. salicílico son importantes en la inducción de respuestas de resistencia y son reguladores claves en la expresión de genes que promueven la producción de enzimas que protegen a las plantas contra algunos patógenos como virus, hongos y bacterias (Sticher *et al.*, 1997; Dangl y Jones, 2001; Hayat *et al.*, 2009). Estos mecanismos regulados por el ac. salicílico pueden mediar en la respuesta de las plantas al estrés biótico y abiótico, favoreciendo sus mecanismos de defensa ante la presencia de los

dos tipos de estrés, pero no actúan como insecticidas eliminando al patógeno en el caso del estrés biótico.

Para las cuatro variables relacionadas al rendimiento (NTP, DPT, DET y PT), el mejor tratamiento fue el peróxido de hidrógeno aplicado en plantas no infectadas, ya que superó al testigo sano sin aplicación de antioxidante. Estos resultados indican que este señalizador induce cambios morfológicos y fisiológicos en las plantas independientemente de algún estrés biótico o abiótico. Sin embargo, en plantas infectadas con *Ca. L. solanacearum*, los compuestos evaluados también redujeron el daño por la infección de la bacteria y los mejores resultados se obtuvieron cuando se aplicó peróxido de hidrógeno. Estos resultados se asocian a las respuestas de defensa de la planta que incluyen la inducción de fitoalexina, la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), la acumulación de lignina y calosa para resistencia estructural, y la mejora antioxidante para contrarrestar pro-oxidantes producidos durante el ataque (Bolwell, 1999; Baker *et al.*, 2005). En este trabajo, al parecer el peróxido de hidrógeno pudo haber sido el compuesto más eficiente en la regulación o promoción de la respuesta de defensa de la planta, lo cual, se refleja en una menor disminución en la producción del número y peso de tubérculos comparado a los otros tratamientos evaluados en plantas infectadas con la bacteria, pero no se puede decir que su función es eliminar al patógeno. Para reducir al mínimo los efectos perjudiciales de especies reactivas del oxígeno, los organismos aeróbicos involucran antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Las defensas no enzimáticas incluyen compuestos con propiedades antioxidantes intrínsecas tales como el ácido ascórbico, glutatión, y  $\beta$ -caroteno. Las defensas puramente enzimáticas, tales como superóxido dismutasa, catalasas y peroxidasas protegen al eliminar directamente los radicales superóxido y el peróxido de hidrógeno y los convierten a especies menos reactivas (Scandalios, 2005); de esta manera, se elimina el daño que ocasionan estos compuestos en su calidad de radicales libres, pero cumplen su función previa de activar el sistema de defensa de las plantas debido a algún estrés biótico o abiótico. Sánchez *et al.* (2011), reportan que el ácido salicílico asperjado activó la respuesta de defensa de la planta de papa contra el ataque de fitoplasma, lo cual redujo los síntomas de la infección, favoreció la translocación de fotosintatos e incrementó la calidad de los tubérculos, la mayor actividad biológica se observó con la aplicación de bajos niveles de ácido salicílico exógeno (0.001 mM), algo similar pudo haber ocurrido en este estudio en relación al  $H_2O_2$ , ya que si bien es cierto que este compuesto en altas concentraciones es dañino para la planta, su aplicación exógena fue positiva ya que probablemente activo la respuesta de defensa de la planta mediante la inducción de fitoalexina, la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), la acumulación de lignina y calosa para resistencia estructural, y la mejora antioxidante para con-

trarrestar pro-oxidantes producidos durante el ataque (Bolwell, 1999; Baker *et al.*, 2005). El ácido ascórbico controla el crecimiento y está mediada por contenido el contenido del peróxido de hidrógeno (Pedreira *et al.*, 2004). Por lo tanto, el contenido significativamente alto de peróxido de hidrógeno en la etapa temprana de la planta como fue en este estudio debido a la aplicación exógena del antioxidante, pudo haber sido la condición clave para activar el sistema de defensa de la planta y se diera la reducción del daño de la bacteria y el rendimiento bajo estas condiciones tuviera una menor afectación.

Los resultados obtenidos en este trabajo, muestran que los compuestos evaluados deben ser evaluados a nivel de campo y posteriormente puedan incluirse en el manejo integrado del cultivo, ya que el control de la PMP depende de la capacidad oxidativa del tejido vegetal, mismo que se promueve con la aplicación de estos compuestos, los cuales influyen como cofactores de enzimáticos, fotoprotectores e influyen como donador/dador de electrones a nivel de la membrana plasmática o en los cloroplastos, influyendo en el crecimiento y elongación de la pared celular y en la resistencia a diferentes tipos de estrés abióticos tal como lo señalan Smirnoff y Wheeler (2000) y Davey *et al.* (2000).

## Conclusiones

La aplicación de los tres compuestos evaluados (ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico y peróxido de hidrógeno) en plantas de papa sana, favorece el comportamiento de variables morfoagronómicas como la altura de planta, número de hojas por planta y número de foliolos por planta. Pero lo más relevante es que en plantas infectadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*, los compuestos evaluados posiblemente también reducen el daño ocasionado por la bacteria, destacando el peróxido de hidrógeno, ya que presentó los mejores resultados de producción de tubérculos.

## Agradecimientos

A la Fundación Produce Nuevo León, A. C., por el financiamiento brindado para la realización de este trabajo mediante el proyecto con Folio: 19-2008-0308.

## Referencia bibliográficas

Abad, J.A.; Bandlia, M.; French-Monar, R.D.; Liefing, L.W., Clover, G.R.G. 2009. First Report of the Detection of "Candidatus Liberibacter" species in Zebra Chip Disease-Infected Potato Plant in the United States. *Plant Disease*. 93: 108.

Alarcón, R.N.M. 2007. Caracterización de DNA de clones de papa y fitoplasmas asociados en el valle de Toluca, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Chapingo, México. 71p.

Alarcón, R.N.M.; Lozoya, S.H.; Valadez, M.E. 2009. Caracterización de ADN de clones de papa e identificación de fitoplasmas asociados al síndrome de la punta morada. *Agrociencia*. 43: 357-370.

Almeyda-León, I.H.; Sánchez, S.J.A.; Garzón, T.J.A. 2008. Vectores causantes de punta morada de la papa en Coahuila y Nuevo León, México. *Agricultura Técnica en México*. 34: 141-150.

Arellano, G.M.A.; Villavicencio, G.E. E.; García, G.S.J. 2010. Producción de plántulas y semilla prebásica de variedades comerciales de papa libres de enfermedades. Folleto técnico No.42 MX-0-310702-37-03-15-09-41. ISBN: 978-607-425-301-6. Campo experimental Saltillo CIRNE-INIFAP Coahuila, México. 46pp.

Avilés, G.M.C.; Garzón, T.J.A.; Marín, J.A.; Caro, M.P.H. 2003. El psílido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc.): biología, ecología y su control. En memoria del Taller sobre *Paratrioza cockerelli* Sulc. Como plaga y vector de fitoplasmas en hortalizas. Culiacán, Sinaloa, México. 21-35 pp.

Baker, C.J.; Whitaker, B.D.; Roberts, D.P.; Mock, N.M.; Rice, C.P.; Deahl, K.L.; Aver'yanov, A.A. 2005. Induction of redox sensitive extracellular phenolics during plant-pathogen interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 66: 90-98.

Bolwell, G.P. 1999. Role of oxygen species and NO in plant defense responses. *Current Opinion in Plant Biology*. 2: 287-294.

Cadena, H.M.A.; Guzmán, P.R.; Díaz, V.M.; Zavala, Q.T.E.; Almeyda-León, I.H.; López, D.H.A.; Rivera, P.A.; Rubio, C.O. 2003. Distribución, incidencia y severidad del pardeamiento y la brotación anormal en los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Valles altos y sierras de los estados de México, Tlaxcala y el Distrito Federal, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21: 248-258.

Dangl, J.L.; Jones, J.D. 2001. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. *Nature*. 411: 826-833.

Davey, M.; Van Montagu, M.; Inzé, D.; Sanmartín, M.; Kanellis, A.; Smirnoff, N.; Benzie, I.J.J.; Strain, J.J.; Favell, D.; Fletcher, J. 2000. Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agric*. 80: 825-860.

El-Tohamy, W.A.; El-Abagy, H.M.; El-Greadly, N.H.M. 2008. Studies on the effect of putrescine, yeast and vitamin C on growth, yield and physiological responses of eggplant (*Solanum melongena* L.) under sandy soil conditions. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2: 296-300.

Espinoza, N.; Estrada, N.; Tovar, P.; Bryan, J.; Dodds, H.J. 1985. Cultivo de Tejidos, Micropropagación, Conservación y Exportación de Germoplasma de Papa. Dcto. Tecn. Especializada 1. Centro Internacional de la Papa (CIP). 17pp.

Flores, O.A.; Alemán, N.I.A.; Notario, Z.M.I. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. In: Flores, O. A.; Gallegos, M., G. y García, M., O. (eds.). *Memorias de Simposio Punta Morada de la Papa*. 40-63pp.

Flores, O.A.; Flores, J.L.E. 2008. Enfermedades fungosas de la papa. XII Congreso Nacional de Papa. Los Mochis Sinaloa México. 9-25pp

Garzón, T.J.A.; Garzón, C.J.A.; Velarde, F.S.; Marín, J.A.; Cárdenas, V.O.G. 2005. Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al "Permanente del Tomate" por el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc. en México. In: *Memorias del Congreso Nacional de Entomología*. 672-675pp.

Hansen, A.K.; Trumble, J.T.; Stouthamer, R.; Paine, T.D. 2008. A New Huanglongbing Species, *Candidatus Liberibacter psyllaourous*, found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Department of Entomology, University of California, Riverside, California. *Applied. Environmental Microbiology*. 74: 5862-5865.

Hayat, Q.; Hayat, S.; Irfan, M.; Ahmad, A. 2009. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany*. doi:10.1016/j.envexpbot.2009.08.005.

Herrera, M.S.L.; Mora, M.M.E.; García, V.R.; Gomora, R.J.; Rogel, M.G. 2013. Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa de plantas de rosal. *Terra Latinoamericana*. 31 (3): 193-199.

Hooker, W.J. 1981. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 166 pp.

- Hren, M.; Nikolic, P.; Roter, A.; Blejec, A.; Terrier, N.; Ravnikar, M.; Dermastia, M.; Gruden, K. 2009. 'Bois noir' phytoplasma induces significant reprogramming of the leaf transcriptome in the field grown grapevine. *BMC Genomics*. 10: 460.
- INIFAP. 2000. Manual para la producción de papa en las sierras y valles altos del centro de México. Centro de Investigación Nacional del Centro. Programa Nacional de Investigaciones en el cultivo de la papa. Pp.1-81.
- Lee, I.-M.; Gundersen-Rindal, D.E.; Davis, R.E.; Bartoszyk, I.M. 1998. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal Systematic Bacteriology*. 48: 1153-1169.
- Lee, I.-M.; Bottner, K.D.; Munyaneza, J.E.; Secor, G.A.; Gudmestad, N.C. 2004. Clover proliferation group (16SrVI), subgroup a (16SrVI-A) phytoplasma is probable causal agent of potato purple top disease in Washington and Oregon. *Plant Disease*. 88: 429.
- Lee, I.-M.; Bottner, K.D.; Secor, G.A.; Rivera-Varas, V. 2006. "Candidatus phytoplasma americanum", a phytoplasma associated with potato purple top disease complex. *International Journal Systematic Evolution Microbiology*. 56: 1593-1597.
- Leyva-López, N.E.; Ochoa-Sánchez, J.C.; Leal-Klevezas, D.S.; Martínez-Soriano, J.P. 2002. Multiple phytoplasmas associated with potato diseases in Mexico. *Canadian Journal of Microbiology*. 48 (12): 1062-1068.
- Liefting, L.W.; Sutherland, P.W.; Ward, L.I.; Paice, K.L.; Weir, B.S.; Clover, G.R.G. 2009. A new "Candidatus Liberibacter" species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease*. 93: 208-214.
- Liu, D.; Trumble, J.T.; Stouthamer, R. 2006. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. *Entomol. Exp. Appl.* 118: 177-183.
- Martínez, S.J.P.; Leyva, L.N.E.; Aviña, P.K.; Ochoa, S.J.C. 2007. La punta morada de la papa en México. *Claridades Agropecuarias*. Pp. 27-33.
- Pedreira, J.; Sanz, N.; Pena, M.J.; Sánchez, M.; Queijeiro, E.; Revilla, G.; Zorra, I. 2004. Role of apoplastic ascorbate and hydrogen peroxide in the control of cell growth in pine hypocotyls. *Plant & Cell Physiology*. 45: 530-534.
- Poghosyan, A.; Lebsky, V. 2009. Microscopía electrónica de barrido: una herramienta esencial para el diagnóstico de fitoplasmas. Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas. Baja California, México.
- Romero, R.M.T.; López, D.H.A. 2009. Ameliorative effects of hydrogen peroxide, ascorbate and dehydroascorbate in *Solanum tuberosum* infected by phytoplasma. *Am. J. Pot. Res.* 86: 218-226.
- Rubio, C.O.A.; Almeyda-León, I.H.; Ireta, M.J.; Sánchez, S.J.A.; Fernández, S.R.; Borbón, S.J.T.; Díaz, H.C.; Garzón, T.J.A.; Rocha, R.R.; Cadena, H.M.A. 2006. Distribución de la punta morada y *Bactericera cockerelli* Sulc. en las principales zonas productoras de papa en México. *Agricultura Técnica en México*. 32: 201-211.
- Rubio, C.O.A.; Almeyda-León, I.H.; Cadena, H.M.A.; Lobato, S.R. 2011. Relación entre la población de *Bactericera cockerelli* Sulc, los síntomas de la punta morada de la papa y la presencia de *Candidatus Liberibacter psyllaourous* en lotes comerciales de papa en Toluca, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2 (1): 17-28.
- Sánchez, R.S. 2010. Respuesta antioxidante al tratamiento con ácido salicílico en plantas de papa infectadas con fitoplasma. Tesis Maestría en Ciencias. Colegio de postgraduados. Montecillos, Texcoco, Edo. de Mex., México. Pp. 3-48.
- Sánchez, R.S.; López, D.H.A.; Mora, H.M.E.; Almeyda-León, I.H.; Zavaleta, M.H.A.; Espinoza, V.D. 2011. Salicylic Acid Protects Potato Plants from Phytoplasma-associated Stress and Improves Tuber Photosynthate Assimilation. *American Journal of Potato Research*. 88: 175-183.
- Scandalios, J.G. 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 38: 995-1014.
- Smirnoff, N.; Wheeler, G. 2000. Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function in photoprotection. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355: 1455-1464.
- Statistical Analysis System Institute (SAS). 2001. User's Guide Statistic, SAS Institute, Cary, North Carolina. 646 p. (Version 8.1).
- Sticher, L.; Mauch-Mani, B.; Mettraux, J.-P. 1997. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 35: 235-270.
- Secor, G.A.; Lee, I.-M.; Bottner, K.D.; Rivera-Varas, V.; Gudmestad, N.C. 2006. First report of a defect of processing potatoes in Texas and Nebraska associated with a new phytoplasma. *Plant Disease*. 90: 377.
- Seemüller, E.; Marcone, C.; Lauer, U.; Ragozzino, A.; Göschl, M. 1998. Current status of molecular classifications of the phytoplasmas. *Journal Plant Pathology*. 80: 3-26.
- Severin, H.H.P. 1940. Potato naturally infected with California Aster Yellow. *Phytopathology*. 30: 1049-1051.
- Villavicencio, G.E.E.; Arellano, G.M.A.; García, G.S.J. 2010. Producción de material prenuclear In; Producción de plántulas y semilla prebásica de variedades comerciales de papa libres de enfermedades. Folleto técnico No.42 MX-0-310702-37-03-15-09-41. ISBN: 978-607-425-301-6. Campo experimental Saltillo CIRNE-INIFAP Coahuila, México. Pp.10-25.
- Wallis, R.L. 1948. Time of planting potatoes as a factor in prevention of potato psyllid attack. *Journal of Economic Entomology* 41 (1): 4-5.