



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



“Efecto de la radiación UV-B sobre plantas de *Solanum tuberosum* L. (papa) infectadas con *Candidatus Liberibacter*”

Tesis

Que para obtener el título de Licenciado en Biología

Presenta

LUCERO ADRIANA BERNAL ELIZALDE

Directora

Dra. Martha Elena Mora Herrera

Codirector

Dr. Jorge Alberto Lugo de la Fuente

TOLUCA MÉXICO

ABRIL 2016

ÍNDICE	Pág.
RESUMEN	
1 INTRODUCCIÓN	1
2 ANTECEDENTES	3
2.1 Origen e importancia del cultivo de la papa	3
2.2 Problemas del cultivo de la papa	4
2.3 Factores bióticos	5
2.3.1 La Punta Morada de la Papa	5
2.3.2 <i>Candidatus Liberibacter</i>	6
2.4 Factores Abióticos	7
2.4.1 Radiación Ultravioleta	7
2.4.1.1 Efectos de la radiación UV-B en las plantas	8
2.5 Estrés oxidativo	11
2.6 Antioxidantes enzimáticos	12
2.6.1 Catalasas	13
2.6.1.1 Respuesta de la CAT ante la radiación UV-B	14
2.6.2 Peroxidasas	14
2.6.2.1 Respuesta de la POX ante radiación UV-B	15
3 JUSTIFICACIÓN	16
4 OBJETIVOS	17
5 HIPÓTESIS	17
6 MATERIALES Y MÉTODOS	18
6.1 Material biológico	18
6.2 Condiciones de cultivo y medio de cultivo	18
6.3 Siembra de microplantas completas en almácigos	18
6.4 Tratamiento con radiación UV-B	19
6.5 Evaluación del efecto de la radiación UV-B en plantas infectadas con <i>C. Liberibacter</i> .	19
6.6 Modelo biológico del efecto de la radiación UV-B en plantas infectadas con <i>C. Liberibacter</i>	20
6.7 Técnicas empleadas	22
6.7.1 Extracción de proteína	22
6.7.2 Cuantificación de la actividad enzimática de la CAT	22
6.7.3 Cuantificación de la actividad enzimática de la POX	22

6.8 Análisis Estadístico	23
7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
7.1 Efecto de la radiación UV-B en plantas de papa infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i>	24
7.1.1 Efecto de la radiación UV-B en la supervivencia de plantas de papa infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i> .	24
7.2 Efecto de la radiación ultravioleta B en el crecimiento en plantas de papa infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i> .	27
7.2.1 Efecto de la radiación UV-B en la ganancia de peso de plantas infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i>	27
7.2.2 Efecto de la radiación UV-B en la longitud del tallo en plantas infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i> .	30
7.3 Efectos de la radiación ultravioleta B en la morfología de hojas y raíz de plantas de papa infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i> .	34
7.3.1 Efecto de la radiación UV-B en la raíz de plantas infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i> .	34
7.3.2 Efecto de la radiación UV-B en las hojas de plantas de papa infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i>	36
7.4 Efecto de la radiación UV-B en las respuestas oxidativas.	38
7.4.1 Efecto de la radiación UV-B en la actividad enzimática de la CAT en plantas infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i> .	38
7.4.2 Efecto de la radiación UV-B en la actividad enzimática de la POX en plantas infectadas con <i>Candidatus Liberibacter</i> .	40
8 CONCLUSIONES	43
9 RECOMENDACIONES	43
10 LITERATURA CITADA	44
11 ANEXOS	54

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	Pág.
Tabla 1. Tratamientos de radiación UV-B a los que fueron expuestas plantas de papa negativas y positivas a <i>Candidatus Liberibacter</i> .	20
Figura 1. Planta de <i>Solanum tuberosum</i> L (papa).	4
Figura 2. Síntomas de punta morada en plantas de papa. (a) brotación en forma de hilo, (b) brotación normal, (c) pardeamiento en la parte interna del tubérculo y (d) papa sana.	6
Figura 3. Efectos de la radiación UV-B en plantas a nivel molecular, bioquímico y fisiológico (tomado y modificado de Frohnmeyer y Staiger, 2003).	9
Figura 4 Diagrama de flujo de las evaluaciones de supervivencia de microplantas de papa a radiación UV-B.	21
Figura 5. Supervivencia de plantas de <i>S. tuberosum</i> negativas y positivas a <i>Candidatus Liberibacter</i> , después de ser expuestas a diferentes tratamientos de radiación UV-B. A. 4 horas por 8 días, B 4 horas por 15 días, C 6 horas por 8 días, D 6 horas por 15 días, E 7 horas por 8 días y F 5 horas por 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).	25
Figura 6. Efecto de la radiación UV-B sobre la humedad del suelo (A) suelo con plantas sometidas a radiación y (B) suelo con plantas testigo.	26
Figura 7. Ganancia de peso fresco de plantas de <i>S. tuberosum</i> negativas y positivas a <i>Candidatus Liberibacter</i> , después de ser expuestas a diferentes tratamientos de radiación UV-B. A. 4horas por 8 días, B 4 horas por 15 días, C 6 horas por 8 días, D 6 horas por 15 días, E 7 horas	29

por 8 días y **F** 5 horas por 15 días .Los resultados son el promedio de 36 plantas (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

Figura 8. Longitud de tallo de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) de 28 días (a) positivas y (b) negativas a *Candidatus* Liberibacter. 30

Figura 9. Longitud del tallo en plantas de *S. tuberosum* negativas y positivas a *Candidatus* Liberibacter, después de ser expuestas a diferentes tratamientos de radiación UV-B. **A** 4horas por 8 días, **B** 4 horas por 15 días, **C** 6 horas por 8 días, **D** 6 horas por 15 días, **E** 7 horas por 8 días y **F** 5 horas por 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas por tratamiento (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

Figura 10. Raíz de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) de 28 días, **a**) negativas y **b**) positivas con *Candidatus* Liberibacter. 34

Figura 11. Raíz de plantas después de tratamiento con radiación UV-B. Plantas positivas a *C. Liberibacter* expuestas a UV-B (**a**) y su control (**b**), plantas negativas expuestas a UV-B (**c**) y su control (**d**). 35

Figura 12. Tamaño de hoja de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) negativas (**a**) y positivas a *C. Liberibacter* (**b**) de 28 días. 36

Figura 13. Actividad enzimática de la CAT en plantas de papa *Solanum tuberosum* negativas y positivas a la bacteria *Candidatus* Liberibacter. Etapa **A**, plantas de 28 días. Etapa **B**, plantas después de ser sometidas a radiación UV-B por 4 horas durante 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas. (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

Figura 14. Actividad enzimática de la POX en plantas de papa *Solanum tuberosum* negativas y positivas a *Candidatus* Liberibacter. Etapa **A**, plantas de 28 días. Etapa **B**, plantas después de ser sometidas a 41

radiación UV-B por 4 horas durante 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas. (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

RESUMEN

La capa estratosférica de ozono protege la vida en el planeta al absorber la luz ultravioleta B (UV-B). A partir del descubrimiento del hoyo en la capa de ozono, los niveles de radiación UV-B que llegan a la superficie del planeta se han incrementado; por lo que el interés de conocer sus efectos en los seres vivos y sobre todo en los cultivos de interés económico ha aumentado, ya que se ha documentado que puede reducir el crecimiento y la actividad fotosintética, además daña el ADN e incrementa el estrés oxidativo. No obstante, la respuesta de las plantas a este tipo de radiación puede variar entre y dentro de las especies.

El cultivo de la papa ocupa el sexto lugar en importancia alimenticia en nuestro país. Sin embargo, su productividad se ha visto gravemente afectada en los últimos años por el síndrome de la punta morada de la papa (PMP), el cual es producido entre otros factores por la bacteria *Candidatus Liberibacter*, ocasionando grandes pérdidas para los productores de hasta un 95%. Por lo que el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la radiación UV-B sobre plantas de *Solanum tuberosum* L. (papa) infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

Se utilizaron plantas de papa cultivadas *in vitro* negativas y positivas a la bacteria *Candidatus Liberibacter*. Primero se estableció un modelo biológico para determinar el efecto de la luz ultravioleta B en diferentes horas y días de exposición sobre las plantas. Se evaluó la supervivencia y el crecimiento (ganancia de peso y longitud). El tratamiento 4 horas y 15 días de exposición a UV-B mostró efectos sobre el crecimiento de las plantas positivas a *C. Liberibacter*, por lo que fue seleccionado como modelo biológico para evaluar la actividad enzimática de las enzimas catalasa (CAT) y peroxidasas (POX).

De manera general la radiación UV-B disminuyó la supervivencia en las plantas positivas con respecto a las negativas. En cuanto a la ganancia de peso y longitud de tallo, esta disminuyó tanto en plantas negativas como positivas a *C. Liberibacter*. Así mismo la actividad enzimática de la POX incremento significativamente en plantas positivas con respecto a las plantas negativas y a las plantas positivas sin radiación. En relación a la actividad enzimática de la CAT, esta

incrementó significativamente en las plantas positivas con respecto a las no radiadas.

1 INTRODUCCIÓN

La radiación solar es uno de los principales factores ambientales que afectan la vida en nuestro planeta; controla el funcionamiento de los ecosistemas terrestres y acuáticos mediante la regulación de procesos fotobiológicos así como por medio de su acción sobre otros factores ambientales como la temperatura o humedad y ciclos naturales que finalmente inciden en la distribución y desarrollo de los organismos (Carrasco-Ríos, 2009).

La radiación ultravioleta (UV) representa apenas un 8-9 % del total de la energía solar (Frohnmeier y Staiger, 2003), esta se divide en tres tipos: radiación UV-A (320-400nm), UV-B (280-320nm) y UV-C (200-280 nm) (Prado *et al.*, 2012). La capa estratosférica de ozono protege la vida en la Tierra al absorber la luz ultravioleta, la cual puede dañar el ADN de plantas y animales incluyendo a los seres humanos (Reboredo y Lidon, 2012). Sin embargo, el agotamiento continuo de la capa de ozono debido, entre otros factores, a compuestos como los clorofluorocarbonos (CFC), metano y óxido nítrico, ha conducido a un incremento de la radiación UV-B que alcanza la superficie del planeta (Carrasco-Ríos, 2009; Singh *et al.*, 2011).

Altas intensidades de radiación y cambios en la composición espectral pueden afectar importantes procesos en los organismos, en particular en los vegetales. El exceso de radiación ultravioleta B actúa como un factor de estrés en las plantas, alterando sus funciones fisiológicas, reduciendo la altura, el área foliar o incrementando su grosor (Carrasco-Ríos, 2009). Diferentes estudios muestran que el aumento de radiación UV-B promueve la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), generando la activación de mecanismos de defensa en las plantas similares a los desarrollados ante el ataque de patógenos (Hidema y Kumagai, 2006; Vyšniauskienė y Rančelienė, 2014).

Los niveles actuales de radiación UV-B que alcanzan la superficie del planeta en regiones cercanas al Ecuador durante la temporada de cultivo oscilan entre 2 y 12 kJm^{-2} (Rybus-Zajac y Kubiś, 2010). Estos cambios pueden tener serias

consecuencias en la productividad y calidad de los principales cultivos a nivel local y global.

La papa se cultiva en casi todo el mundo, en México ocupa el sexto lugar en importancia alimenticia. Actualmente su producción se encuentra seriamente afectada por el síndrome de la punta morada de la papa (PMP), el cual es producido entre otros factores por la bacteria *Candidatus Liberibacter* (SAGARPA INIFAP, 1997). El propósito de esta investigación fue conocer el efecto de la radiación UV-B en plantas de papa infectadas con *C. Liberibacter* para establecer un modelo biológico y estudiar las respuestas de la actividad de enzimas antioxidantes.

2 ANTECEDENTES

2.1 Origen e importancia del cultivo de la papa.

La papa (*Solanum tuberosum* L.) pertenece a la familia Solanaceae, su centro de origen está ubicado en Sudamérica a 4000 metros de altitud. Tiene una amplia distribución, crece desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Chile (Espinoza, 1998). Es una planta herbácea dicotiledónea. El tallo es grueso, fuerte y anguloso, al principio es erguido y con el tiempo se extiende hacia el suelo. Puede alcanzar una altura entre 0.5 y 1 m, esto depende de la variedad. Presenta un color verde pardo debido a los pigmentos antocianínicos asociados a la clorofila (Alonso, 2002). La raíz es fibrosa, no existe una raíz principal, posee muchas raíces adventicias ramificadas, finas y largas. Su mayor crecimiento lo desarrolla en los primeros 0.20 m de profundidad, extendiéndose lateralmente de 0.30 hasta 0.60 m. Las raíces laterales fibrosas pueden llegar hasta 1.20m de profundidad (Fig. 1). Los tubérculos comienzan a formarse a partir de los estolones, que son tallos laterales que crecen dentro del suelo y son emitidos por los tallos principales, cuando la planta comienza la floración (en variedades que florecen); generalmente esto ocurre de 35 a 45 días después de la siembra (Roman y Hurtado, 2002).

La producción de papa es una actividad económica muy importante a nivel mundial. Es el cuarto cultivo básico, después del maíz, trigo y arroz y produce mayor cantidad de materia seca y proteínas por hectárea que los cultivos de cereales principales (Ferne y Willmitzer, 2001). La papa contiene proteína de alta calidad además de que cuenta con todos los aminoácidos esenciales y vitamina C. A nivel industrial es utilizada en la producción de vodka, whisky, almidón y otras industrias la emplean como comidas rápidas (papas a la francesa) y chips (hojuelas) (Roman y Hurtado, 2002).

En México el cultivo de la papa ocupa el sexto lugar en importancia alimenticia. Por su gran plasticidad, resistencia, alta productividad y características agronómicas se cultiva extensivamente en 19 estados del país desde Baja California hasta Chiapas (SAGARPA INIFAP, 1997).

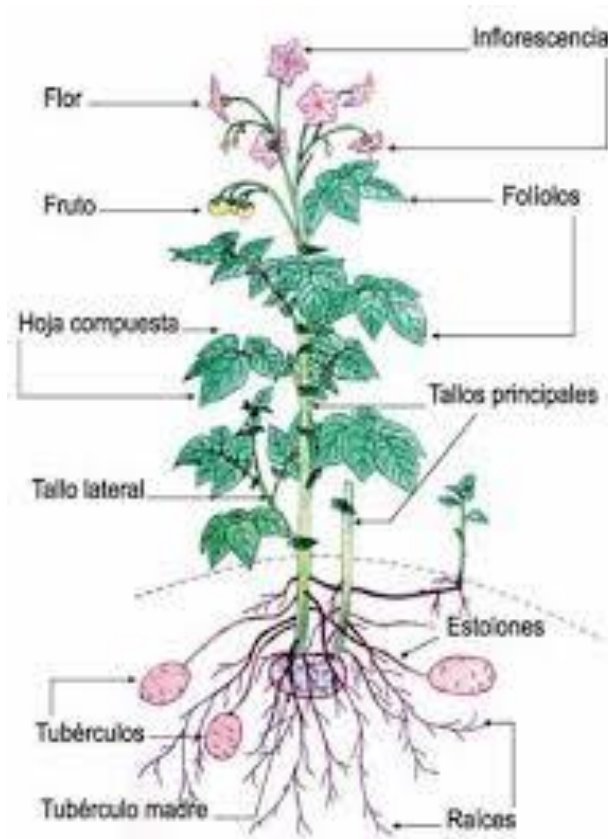


Figura 1. Planta de *Solanum tuberosum* L (papa).

2.2 Problemas del cultivo de la papa.

Muchos cultivos de importancia económica y alimenticia, son atacados por enfermedades y condiciones ambientales adversas (Scott *et al.*, 1999). El cultivo de papa no es la excepción, ya que puede ser afectado por factores bióticos como plagas, enfermedades o malezas que reducen la vitalidad y capacidad de producción de las plantas, o por factores abióticos como la disponibilidad de agua, nutrientes, heladas, radiación, entre otros. Esto genera grandes pérdidas económicas para los productores, el desabasto del producto en el mercado, aunado a un incremento del valor del mismo y un efecto negativo en la economía de la población (FAO, 2008).

2.3 Factores Bióticos

El cultivo intensivo de la papa tiende a incrementar la presión de plagas y enfermedades (FAO, 2008). Una de las grandes limitaciones en su producción son los problemas fitosanitarios o enfermedades, que afectan plantas y tubérculos, generando pérdidas en los rendimientos y en la calidad del producto final. Las enfermedades más importantes del cultivo de la papa son: Roña polvorienta (*Spongospora subterranea*), Mancha foliar (*Cercospora* spp.), Pierna negra (*Erwinia* spp.), Marchitez bacteriana (*Pseudomonas solanacearum*), Tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont De Bary), Tizón temprano (*Alternaria solani* Ellis y Martin), Síndrome de la Punta Morada de la papa, provocado por fitoplasma y/o psílidos (*Paratrioza cockerelli*), Costra negra (*Rhizoctonia solani* K); y por virus como el del enrollamiento de la hoja (virus PLRV), virus S de la papa (PVS), mosaico rugoso (virus PVY), y Mosaico latente X (PVX) (Hooker, 1980).

2.3.1 La Punta Morada de la Papa

De las enfermedades mencionadas anteriormente, el síndrome de la punta morada de la papa (PMP) es uno de los principales problemas que en la actualidad afectan el cultivo de este tubérculo en México (Rubio-Covarrubias *et al.*, 2006). Se reportó por primera vez para nuestro país en 1947, pero sus efectos más graves se observaron a partir de la década de los noventa. Las regiones más afectadas son el Centro (Estado de México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Veracruz), el Noreste (Coahuila y Nuevo León) y el Bajío (Guanajuato y Michoacán). El problema se ha incrementado en los últimos años; de acuerdo con Rubio-Covarrubias *et al.* (2011a), en el Estado de México todos los municipios en donde se siembra papa están afectados por PMP, sobre todo los lugares por debajo de 3200 msnm. Esto representa una seria amenaza a la producción nacional de este cultivo, afectándose el rendimiento de un 30 a 95% y la calidad comercial de la semilla-tubérculo (Cadena-Hinojosa *et al.*, 2003). Los principales síntomas son: enrollamiento apical, entrenudos cortos, coloración purpúrea en los folíolos, clorosis, proliferación de brotes axilares engrosados en la base, formación de tubérculos aéreos,

pardeamiento del tubérculo y brotación nula o en forma de hilo (Fig.2) (Cadena-Hinojosa, 1993; Lee *et al.*, 2004).

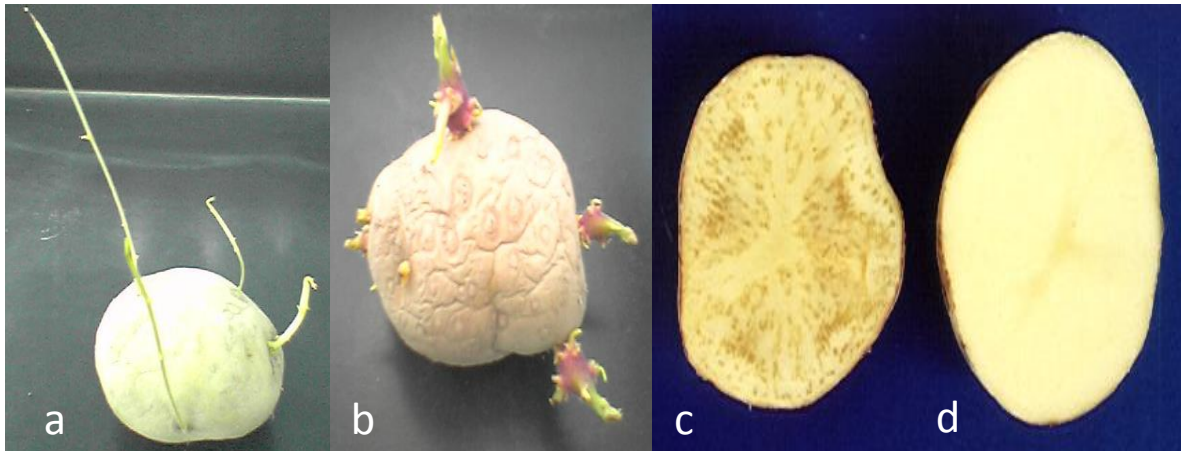


Figura 2. Síntomas de punta morada en plantas de papa. (a) brotación en forma de hilo, (b) brotación normal, (c) pardeamiento en la parte interna del tubérculo y (d) papa sana.

Con base en los reportes de la literatura, inicialmente se creyó que el agente causal de la enfermedad era un fitoplasma transmitido por insectos del orden Homóptera (chicharritas). Sin embargo, estudios recientes realizados en los Estados Unidos (Hansen *et al.*, 2008), en Australia (Liefting *et al.*, 2008) y en México (Rubio-Covarrubias *et al.*, 2011a) demostraron que el manchado interno de los tubérculos se observa solo cuando la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (sinónimo de *psyllauros*) está presente y que ésta bacteria es transmitida por el psilido de la papa *Bactericera cockerelli* Sulc, también conocida como *Paratrioza cockerelli* Sulc.

2.3.2 *Candidatus Liberibacter*

El género *Candidatus Liberibacter* comprende α -proteobacterias Gram negativas exclusivas del floema que no se han logrado cultivar *in vitro*. Se reportó su presencia por primera vez en Nueva Zelanda en 2008 en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y Chile (*Capsicum annum*) y se le denominó *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Liefting *et al.*, 2009), siendo esta también, la probable

causante de la enfermedad de la papa conocida como zebra chip y que ocasiona grandes pérdidas en las cosechas. Esta enfermedad fue reportada por primera vez en México en 1994 y posteriormente en USA en el 2000 (Secor y Rivera-Varas, 2004).

Estudios sugieren que el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc es el vector que transmite la enfermedad zebra chip. Los síntomas foliares son similares a lo que normalmente se asocia con fitoplasmas e incluyen: marchitez, amarillamiento, enrollamiento de la hoja, quemazón de las hojas, nudos hinchados, proliferación de brotes axilares, y tubérculos aéreos. Los tubérculos cortados exhiben una decoloración en los radios medulares donde todo el ancho y largo tienen rayas dispersas. Al freír o cocinar, las rayas son más visibles (Alvarado *et al.*, 2012).

Además de los efectos dañinos de las enfermedades sobre las plantas, estas también están expuestas a factores abióticos que las hacen susceptibles y ponen en riesgo su desarrollo. En los últimos años las variaciones del clima por efecto del cambio climático han tenido efectos directos e indirectos en los cultivos. Las sequías, nevadas, granizo, aumento de temperatura, mayor velocidad del viento, o una alta radiación solar, tienen efectos generalmente adversos para el cultivo de la papa (Gandarillas y Orduño, 2009).

2.4 Factores Abióticos

Existen factores ambientales adversos que afectan el rendimiento en los cultivos tales como: temperaturas extremas (Mora-Herrera *et al.*, 2005), disponibilidad de agua y nutrientes, intensidad de luz, contaminación, pH, velocidad del viento, erosión, incremento del CO₂ atmosférico, metales pesados, salinidad, pesticidas y radiación ultravioleta (Scandalios, 2005; Caldwell *et al.*, 1998). Estos factores afectan casi todas las funciones de las plantas (Hernández *et al.*, 2001).

2.4.1 Radiación Ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) es una forma de energía electromagnética que proviene de la luz del sol. (Raja *et al.*, 2010). Se divide en tres tipos de bandas con base en la longitud de onda, la cual se mide en nanómetros (nm); estas son

radiación UV-A, UV-B y UV-C. Cada una cuenta con diferentes propiedades de penetración y daño potencial, sus efectos biológicos dependen de su longitud de onda (Caldwell *et al.*, 2003), entre más corta sea esta, mayor es la energía de la radiación.

La radiación UV-A (320-400 nm) es poco absorbida por el ozono (O₃), por lo que llega en mayor cantidad a la superficie de la Tierra, constituye una importante señal fotomorfogénica en las plantas y es la menos dañina para los organismos vivos. La UV-C (200-280 nm) es la más energética y dañina para el ADN. Sin embargo, por ser la más absorbida por el oxígeno (O₂) y el O₃ de la estratosfera prácticamente no llega a la superficie terrestre (Carrasco-Ríos, 2009). La radiación UV-B (280-320 nm) también es perjudicial, la porción de esta que alcanza la superficie del planeta varía ya que depende de diferentes factores tales como el ángulo del sol, la cobertura de las nubes, aerosoles o el ozono estratosférico (Webb, 1997).

La capa de ozono es el principal agente que absorbe la radiación UV-B de la atmósfera terrestre. El adelgazamiento de esta capa debido, entre otros factores, a contaminantes atmosféricos como los clorofluorocarbonos (CFC), metano y óxido nítrico, ha conducido a un incremento en la radiación UV-B que toca la superficie terrestre (Santos *et al.*, 2004). La destrucción ha sido más intensa en las latitudes altas, en particular en la Antártica, donde las concentraciones de ozono han disminuido entre un 40-50%, respecto a los valores obtenidos en 1980, si se compara con la zona del Ecuador 3-6%, en donde la radiación UV es más intensa por naturaleza (UNEP, 2002). Desde 1980 el flujo de radiación UV-B ha aumentado en la tropósfera en un promedio de 6-14% (Caldwell *et al.*, 1983). Se ha estimado que por cada 1% de disminución de la capa de ozono, se incrementa un 2% la radiación UV-B (Scotto *et al.*, 1988).

2.4.1.1 Efectos de la radiación UV-B en las plantas.

Si bien la radiación UV-B comprende una pequeña región del espectro electromagnético (0.05%), su acción sobre las plantas y animales es considerable, debido a que importantes biomoléculas como proteínas y ácidos nucleicos la

absorben intensamente (Fig.3). Numerosos son los efectos atribuibles a esta radiación, la cual siempre ha estado presente en el ambiente, por lo que las plantas han tenido que adaptarse a su presencia y desarrollar mecanismos capaces de disminuir sus efectos adversos (Carrasco-Ríos, 2009). Este tipo de radiación además es una señal ambiental clave que inicia diversas respuestas en las plantas que afectan el metabolismo, el desarrollo y la viabilidad. Muchos de sus efectos implican la regulación diferencial de genes de expresión y biosíntesis de flavonoides y otros compuestos fenólicos que absorben UV-B. La respuesta de las plantas, depende de la naturaleza de la radiación, el tipo de tratamiento, la aclimatación a los mismos así como la interacción con otros factores ambientales (Jenkins, 2009).

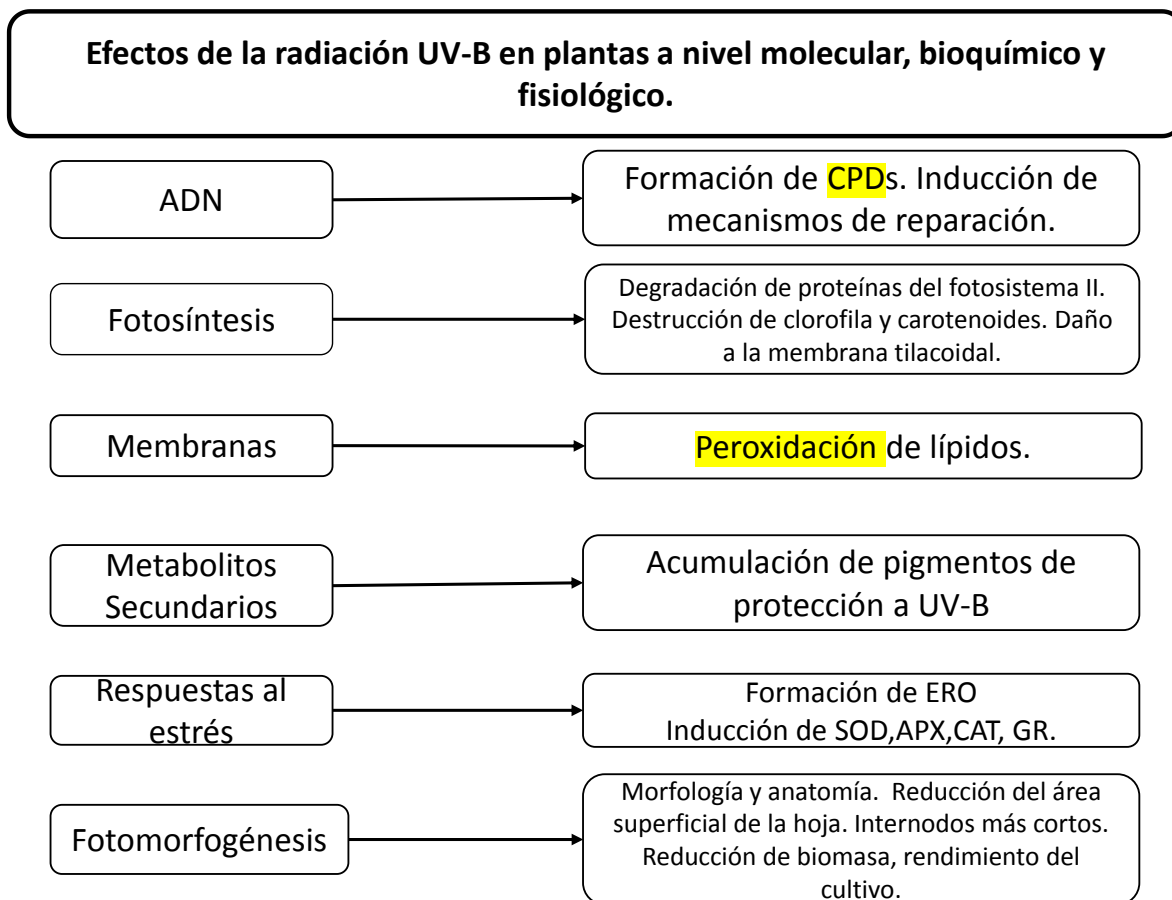


Figura 3. Efectos de la radiación UV-B en plantas a nivel molecular, bioquímico y fisiológico (tomado con modificaciones de Frohnmeyer y Staiger, 2003).

Desde el descubrimiento del denominado agujero de ozono en la Antártida, el interés por estudiar los principales efectos de la radiación UV-B sobre los vegetales ha aumentado considerablemente. Estos efectos se pueden clasificar en morfológicos, metabólicos y moleculares (Fig.3) (Carrasco-Ríos, 2009).

Su impacto en el crecimiento, desarrollo, acumulación de biomasa, rendimiento y metabolismo de las plantas ha sido estudiado en los últimos años. La medición de algunos parámetros fisiológicos como el nivel de compuestos que absorben UV-B y el contenido de clorofila, han demostrado ser indicadores útiles de la sensibilidad y tolerancia a esta radiación. Los estudios han revelado una considerable variación en la sensibilidad a esta radiación dentro y entre las especies (Santos *et al.*, 2004). Se ha encontrado que la penetración de esta radiación es mayor en las plantas dicotiledóneas herbáceas. La penetración también cambia con la edad de la hoja; las hojas jóvenes son más sensibles a radiación que las maduras (Caldwell *et al.*, 1998).

Debido a que la cantidad de radiación ultravioleta que alcanza la superficie de la tierra varía ampliamente alrededor del planeta y a través del tiempo, los ecosistemas acuáticos y terrestres podrían verse potencialmente afectados por el incremento en la radiación UV-B con consecuencias que van desde la disminución en la producción de biomasa, cambios morfológicos y metabólicos, daños genéticos, hasta el cambio en la composición y diversidad de las especies (Fig. 3), aunque debemos reconocer que algunas especies son más vulnerables que otras (Reboredo y Lidon, 2012).

De los efectos de la radiación UV-B en las plantas (Fig.3), probablemente el más importante es el relacionado con los daños genéticos que se presentan en moléculas como el ADN, ARN y proteínas que la absorben a los 280-315 nm. Sin embargo, en la naturaleza, las plantas y otros organismos rara vez se ven afectados por un solo factor de estrés; por el contrario, normalmente se enfrentan a la interacción de múltiples factores como estrés hídrico, incremento de CO₂, enfermedades, disponibilidad de nutrientes, temperatura entre otros (Caldwell *et al.*, 1998). Esto indica que la efectividad de la radiación UV-B puede verse incrementada o disminuida por la interacción de dichos factores (Reboredo y Lidon, 2012). Más

aún, la interacción de factores ambientales bióticos y abióticos con la radiación UV-B, puede producir tolerancia cruzada (tolerancia a un factor de estrés inducido por otro factor), así como la resistencia a otro u otros factores de estrés subsecuentes debido al establecimiento de un nivel de protección (Kalbin *et al.*, 2001). De ahí que esclarecer los mecanismos que regulan las respuestas de las plantas a la radiación UV-B es muy importante para comprender sus efectos a nivel de organismo y comunidad, así como en las interacciones ecológicas que puedan ocurrir, como por ejemplo entre planta y hospedero. De acuerdo con Paul (2000), la incidencia de enfermedades en plantas puede incrementarse o reducirse por la radiación UV.

La sobreexposición a la radiación UV-B podría reducir la productividad y calidad de las principales especies de cultivos para los humanos con serias consecuencias económicas y demográficas. Diferentes especies y sus variedades han sido estudiadas para valorar los efectos de la UV-B, como por ejemplo maíz (de Brito *et al.*, 2011), centeno (Mazza *et al.*, 1999), avena (Agrawal y Rathore, 2007) y soya (Chimphango *et al.*, 2007). En el caso de su efecto en organismos individuales, hay varias vías potenciales de acción en los procesos de daño y regulación que afectan el desarrollo del organismo, como en el caso del crecimiento y reproducción (Caldwell *et al.*, 1998).

Todos estos factores bióticos y abióticos a los que están expuestas las plantas originan estrés oxidativo a través de la producción y acumulación de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Scandalios, 2005).

2.5 Estrés Oxidativo.

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de ERO y la capacidad de un sistema biológico de decodificar los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Las principales ERO que se producen son: oxígeno en estado singulete (O_2), superóxido (O_2^-), radicales hidroxilo (OH) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Scandalios, 2005). Las ERO como el radical superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH) son producidos durante procesos celulares aeróbicos normales de la célula, como en la cadena de transporte electrónico en cloroplasto y mitocondria (Arora *et al.*, 2002).

Las ERO inhiben la función enzimática, dañan proteínas, ácidos nucleicos y lípidos de la célula. Cuando las plantas están expuestas a condiciones ambientales adversas, el daño oxidativo ocurre porque el balance entre la producción de ERO y su desintoxicación por el sistema antioxidante es alterado (Foyer y Noctor, 2005; Scandalios, 2005).

Varios estudios han mostrado que la radiación UV-B, causa un incremento celular en el nivel de las especies reactivas de oxígeno (ERO), generando estrés y daño oxidativo (Santos *et al.*, 2004; Carrasco-Ríos, 2009; Rybus-Zajac y Kubiś, 2010).

La sensibilidad de las plantas a la radiación varía entre las especies y es influenciada por factores ambientales como régimen de agua, radiación fotosintéticamente activa (PAR) y nutrientes (Murali y Teramura, 1986; Balakumar *et al.*, 1993; Singh *et al.*, 2011).

Se han investigado las diferencias en la sensibilidad a la radiación UV-B en cultivos de arroz (*Oryza sativa* L.) (Kumagai *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2011), trigo (*Triticum aestivum* L.) (Pinto *et al.*, 2000), papa (*Solanum tuberosum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) (Vyšniauskienė y Rančelienė, 2014). Sin embargo, no existe mucha información sobre la sensibilidad del cultivo de papa a la radiación UV-B y menos cuando está en asociación con algún patógeno.

El estrés que induce oxidación en la célula, genera además, un incremento en la síntesis de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para contrarrestar los efectos de dicha oxidación. Los antioxidantes no enzimáticos más importantes son: ácido ascórbico (AA, vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), glutatión y β -carotenos y fenoles. Los principales antioxidantes enzimáticos son: peroxidasas (POX), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión S-transferasa (Scandalios, 2005).

2.6 Antioxidantes enzimáticos

Las enzimas antioxidantes constituyen un grupo de enzimas anti estrés que intervienen en la eliminación de las ERO (Asada, 1992). La CAT, POX y SOD se han evaluado de manera recurrente, en estudios realizados para conocer el efecto

de la luz UV-B en la actividad enzimática de las plantas (Santos *et al.*, 2004; Xu *et al.*, 2008; Rybus-Zajac y Kubis, 2010; Vyšniauskienė y Rančelienė, 2014).

2.6.1 Catalasas

Las catalasas (CAT) se localizan principalmente, aunque no exclusivamente, en peroxisomas, donde hay alta producción de H_2O_2 , es una de las enzimas catalíticas más activas de la naturaleza ya que descompone el H_2O_2 a una tasa muy rápida. Es una enzima tetramérica con un grupo hemo común en todos los organismos aeróbicos; contiene hierro en su estructura y cataliza la dismutación del H_2O_2 en agua y oxígeno molecular. Por su amplia distribución, conservación en la evolución de los organismos y su rápida capacidad para degradar al H_2O_2 , se cree que la CAT desempeña una función importante de regulación entre los organismos y su ambiente (Scandalios, 2005; Willekens *et al.*, 1995).

La CAT es la única enzima que degrada al H_2O_2 sin reducir a ningún otro compuesto, por lo que provee a la célula de un eficiente mecanismo para remover al H_2O_2 cuando este es producido en altas concentraciones (Foyer y Noctor, 2005; Scandalios, 2005). Dependiendo de la concentración de H_2O_2 , la CAT puede tener una función dual. A concentraciones bajas ($< 1\mu M$) de H_2O_2 , la CAT actúa peroxidativamente. A altas concentraciones de sustrato, la CAT descompone al H_2O_2 rápidamente por medio de una reacción catalítica en la cual el H_2O_2 actúa como aceptor y donador de moléculas de hidrógeno. De este manera la CAT no es fácilmente saturable con el sustrato, por ello la actividad enzimática se incrementa linealmente sobre un amplio rango de concentración de H_2O_2 , así mantiene controlada la concentración de H_2O_2 intracelular (Scandalios, 2005).

La CAT es regulada de acuerdo al ciclo circadiano, el cual tiene correlación con la fotorrespiración, lo que hace aún más importante a esta enzima en el control del estrés oxidativo ocasionado por el exceso de energía (McClung, 1997). La participación de la CAT en la fotorrespiración sugiere que la actividad de esta enzima es un factor determinante para la protección de las células fotosintéticas en contra del estrés oxidativo (Willekens *et al.*, 1995).

2.6.1.1 Respuesta de la CAT ante la radiación UV-B

Diferentes estudios han demostrado que la producción de ERO se incrementa en las plantas al ser expuestas a una elevada radiación UV-B, activándose el sistema de defensa antioxidativo para contrarrestar el daño fisiológico. Debido a su gran capacidad para degradar al H_2O_2 , la CAT es una enzima cuya actividad se ha evaluado en estudios sobre radiación, encontrándose que la radiación UV-B genera un incremento en su actividad como por ejemplo en el cultivo de *Solanum tuberosum* L. (papa) (Santos *et al.*, 2004; Vyšniauskienė y Rančelienė, 2014), *Glycine max* L. (soya) (Xu Ch *et al.*, 2008), (*Lycopersicon esculentum*) (Balakumar *et al.*, 1997), así como en los cotiledones de *Cucumis sativus* L. (pepino) (Rybus-Zajac y Kubiś, 2010). No obstante, también se ha visto que su actividad disminuye ante este estrés como en el caso de semillas de *Indigofera tinctoria* L., en donde aumentó la actividad de las POX, SOD, pero no de la CAT (Ravindran *et al.*, 2010). De acuerdo con Sharma *et al.* (2012), los diferentes factores de estrés ambiental, pueden causar el aumento o la disminución de la actividad de la CAT, dependiendo de la intensidad, duración y tipo de estrés.

2.6.2 Peroxidasas

En las plantas, las peroxidasas se encuentran principalmente en: citoplasma, pared celular, retículo endoplásmico, aparato de Golgi, cloroplastos y vacuolas. Su distribución está asociada a diferentes funciones fisiológicas (Sgherri *et al.*, 2001) tales como: abscisión de flor y hojas, senescencia, dominancia apical, dormancia, desarrollo de frutos, germinación y desarrollo, respuestas de resistencia a patógenos y tolerancia al frío (Mehlhorn *et al.*, 1996).

Las peroxidasas convierten el H_2O_2 en H_2O con ayuda de un sustrato específico el cual se utiliza para clasificarlas. Las principales peroxidasas dependiendo del sustrato que utilizan como donador de electrones son: la glutatión peroxidasa (GPX), ascorbato peroxidasa (APX) y la guaiacol peroxidasa (POX) (Mehlhorn *et al.*, 1996).

La guaiacol peroxidasa (POX) forma una gran familia de peroxidases que tienen poca especificidad de sustrato; son conocidas por funcionar en diferentes reacciones peroxidativas en la célula, remueven al H₂O₂ y se encuentran en vacuolas, apoplasto, citosol y pared celular (Asada, 1992; Shigeoka *et al.*, 2002).

2.6.2.1 Respuesta de la POX ante radiación UV-B.

En algunos estudios realizados sobre el efecto de la radiación UV-B en diferentes plantas se ha reportado el incremento de la actividad de las peroxidases en cebada (Mazza *et al.*, 1999), cotiledones de girasol (Yanarelli *et al.*, 2006), cultivo de pepino (Kataria *et al.*, 2007), cotiledones de pepino (Rybus-Zajac y Kubiś, 2010), trigo y frijol (Agrawal y Ratore, 2007), espinaca (Lei *et al.*, 2008), papa (Santos *et al.*, 2004) y cacahuete (Tang *et al.*, 2010). No obstante, en ocasiones se ha encontrado que la actividad de esta enzima disminuye cuando la dosis de radiación UV-B es muy alta, como por ejemplo en *Arabidopsis thaliana* (Rao *et al.*, 1996).

3 JUSTIFICACIÓN

La capa de ozono estratosférica, es el principal agente que absorbe la radiación ultravioleta en la atmósfera terrestre, el adelgazamiento de esta capa ha conducido a un incremento de la radiación solar ultravioleta-B (UV-B) que alcanza la superficie del planeta. El impacto del incremento de esta radiación en el crecimiento, desarrollo, acumulación de biomasa, rendimiento y metabolismo de las plantas ha sido estudiado por varios grupos de investigadores (Tevini, 1999). Los estudios han revelado una considerable variación en la sensibilidad de las plantas a la UV-B entre las diferentes especies analizadas (Santos *et al.*, 2004), mostrando que algunas especies son tolerantes y otras sensibles a esta radiación. Varios de estos estudios han demostrado que la UV-B genera estrés oxidativo por lo que se incrementan los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Mazza *et al.*, 1999).

A pesar de que la radiación UV-B desempeña un papel importante en las plantas por regular la activación de ciertos genes, el incremento de esta radiación puede llegar a afectar a las plantas y en este caso a los cultivos. Sin embargo, en la naturaleza las plantas rara vez se ven afectados por un solo factor de estrés; por el contrario, normalmente se enfrentan a la interacción de múltiples factores (Caldwell *et al.*, 1998). Esto indica que la efectividad de la radiación UV-B puede verse incrementada o disminuida por la interacción de dichos factores (Reboredo y Lidon, 2012). De ahí que esclarecer los mecanismos que regulan las respuestas de las plantas a la radiación UV-B es muy importante para comprender sus efectos a nivel de organismo y comunidad, así como en las interacciones ecológicas que puedan ocurrir. El cultivo de papa tiene en México una gran importancia alimenticia y económica, (SAGARPA INIFAP, 1997). La producción puede verse reducida cuando el cultivo es afectado por plagas, enfermedades o condiciones naturales adversas como sequía, disponibilidad de nutrientes, radiación entre otras. Actualmente en México, la papa es afectada por el síndrome de la punta morada PMP, sus efectos son muy severos y este estudio pretende evaluar el efecto de la UV-B, en plantas con *C. Liberibacter* que se ha reportado genera síntomas de punta morada (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2012).

4 OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto de la radiación UV-B sobre plantas de *Solanum tuberosum* L. (papa) infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

Objetivos particulares.

1. Establecer el modelo biológico de tolerancia a radiación UV-B de microplantas de papa *Solanum tuberosum* L infectadas con *Candidatus Liberibacter*.
2. Estudiar la actividad enzimática de CAT y POX en respuesta a estrés ocasionado por radiación UV-B en microplantas de *Solanum tuberosum* L. infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

5 HIPÓTESIS

La radiación ultravioleta (UV-B) incrementa el daño oxidativo en plantas de papa infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Material biológico

Se utilizaron plantas desarrolladas *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. del clon avanzado número 981819 libres de virus, positivas (enfermas) y negativas (sanas) por PCR a *Candidatus* Liberibacter (*Candidatus* Liberibacter solanacearum), obtenidas del Banco de Germoplasma *in vitro* del Laboratorio de Fisiología y Biotecnología del Programa Nacional de Papa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Metepec, Estado de México.

6.2 Condiciones de cultivo y medio de cultivo.

Las plantas se propagaron *in vitro* a partir de esquejes con una yema axilar. Se colocaron 6 esquejes por frasco. Estos esquejes fueron sub-cultivados cada 28 días en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) como describe Espinoza *et al.* (1986), con lo cual se mantuvo una fuente permanente de material biológico. El medio de cultivo y materiales de siembra (cajas petri, pinzas y bisturí) se esterilizaron en un autoclave a 15 libras cm^{-2} de presión y 120°C durante 20 minutos.

Los cultivos *in vitro* se mantuvieron en un cuarto de incubación con un fotoperiodo de 16 horas a temperatura de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y una radiación de ca $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{seg}^{-1}$, 400-700 nm (Anexo 1).

6.3 Siembra de microplantas completas en almácigos.

Después de 28 días, las plantas provenientes de condiciones *in vitro* se enjuagaron perfectamente con agua corriente, y se colocaron sobre papel absorbente para extraer la humedad. Se pesaron, se contabilizó el número de hojas y se midió la longitud del tallo y raíz (Anexo 4). Posteriormente se sembraron en almácigos (30 mm de ancho y 50 mm de profundidad) usando como sustrato "peat moss" (mezcla Sunshine Canadá) y agrolita en una proporción 2:1. Se colocaron 12 plantas por charola, con 3 repeticiones por tratamiento (Anexo 2). Las plantas permanecieron en los almácigos en condiciones de laboratorio por 4 días para

aclimatarse (Mora-Herrera *et al.*, 2005; Mora-Herrera y López-Delgado, 2006; Mora-Herrera, 2007), antes de someterlas a los tratamientos con radiación UV-B.

6.4 Tratamiento con radiación UV-B

Después de cuatro días de aclimatación, las microplantas de papa positivas y negativas a *Candidatus Liberibacter*, fueron introducidas a las cámaras de crecimiento (85 cm de largo, 30 cm de ancho y 39.5 cm de alto) (Anexo 3) que fueron cubiertas con papel aluminio. Se utilizaron dos cámaras, bajo un ciclo de 16/8 horas luz-oscuridad. Para la iluminación se utilizaron lámparas FL20AQ de 20 W de luz fotosintéticamente activa (LFA). La primera cámara solamente tenía una lámpara de luz normal, aquí se introdujeron las plantas control (Vyšniauskienė y Rančelienė, 2014). La segunda cámara tenía dos lámparas de luz, una de luz normal (LFA) y la otra de luz ultravioleta B, para lo cual se utilizó una lámpara fluorescente de radiación UV-B FL20BL de 20 W (Lumiaction) 1.2 kJ/ m. Las lámparas se colocaron a 12.5 cm colgando desde la parte superior aproximadamente a 15 cm sobre las plantas. En cada cámara se introdujeron dos charolas con 12 plantas cada una; una con las plantas negativas y otra con las plantas positivas a *Candidatus Liberibacter*. Se hicieron tres repeticiones por tratamiento (Tabla 1), con un total de 36 plantas.

6.5 Evaluación del efecto de la radiación UV-B en plantas infectadas con *C. Liberibacter*.

En este trabajo se probaron diferentes tratamientos (Tabla 1) para evaluar el efecto del tiempo de radiación ultravioleta B (UV-B) en plantas de *Solanum tuberosum* L. sanas e infectadas con la bacteria *Candidatus Liberibacter* y poder encontrar un modelo biológico en microplantas de papa.

Tabla 1. Tratamientos de radiación UV-B a los que fueron expuestas plantas de papa negativas y positivas a *Candidatus Liberibacter*.

Tratamiento	horas de exposición	días de exposición
A	4	8
B	4	15
C	6	8
D	6	15
E	7	8
F	5	15

Posterior a cada tratamiento, las plantas permanecieron 8 días en el cuarto de incubación. Transcurrido ese tiempo se pesaron, se midió la longitud del tallo y raíz y se contabilizó el número de hojas total (frescas y secas) (Anexo 4). Con los datos obtenidos, se determinó la supervivencia (número de plantas vivas después de cada tratamiento), y crecimiento (ganancia de peso y longitud de tallo) así como los efectos en raíz y hoja en los diferentes tratamientos probados. A partir de los resultados obtenidos se eligió el tratamiento B (4 horas UV-B /15 días) para reproducirlo y evaluar la actividad enzimática (Fig. 4).

6.6 Modelo biológico del efecto de la radiación UV-B en plantas infectadas con *C. Liberibacter*.

Una vez que se obtuvo el modelo biológico (4 horas UV-B /15 días) a reproducir, se tomaron muestras de hojas frescas al azar de plantas de 28 días negativas y positivas a *C. Liberibacter*, antes de ser irradiadas y después de salir de tratamiento para cuantificar la actividad enzimática de la catalasa (CAT) y peroxidasa (POX) (Fig. 4).

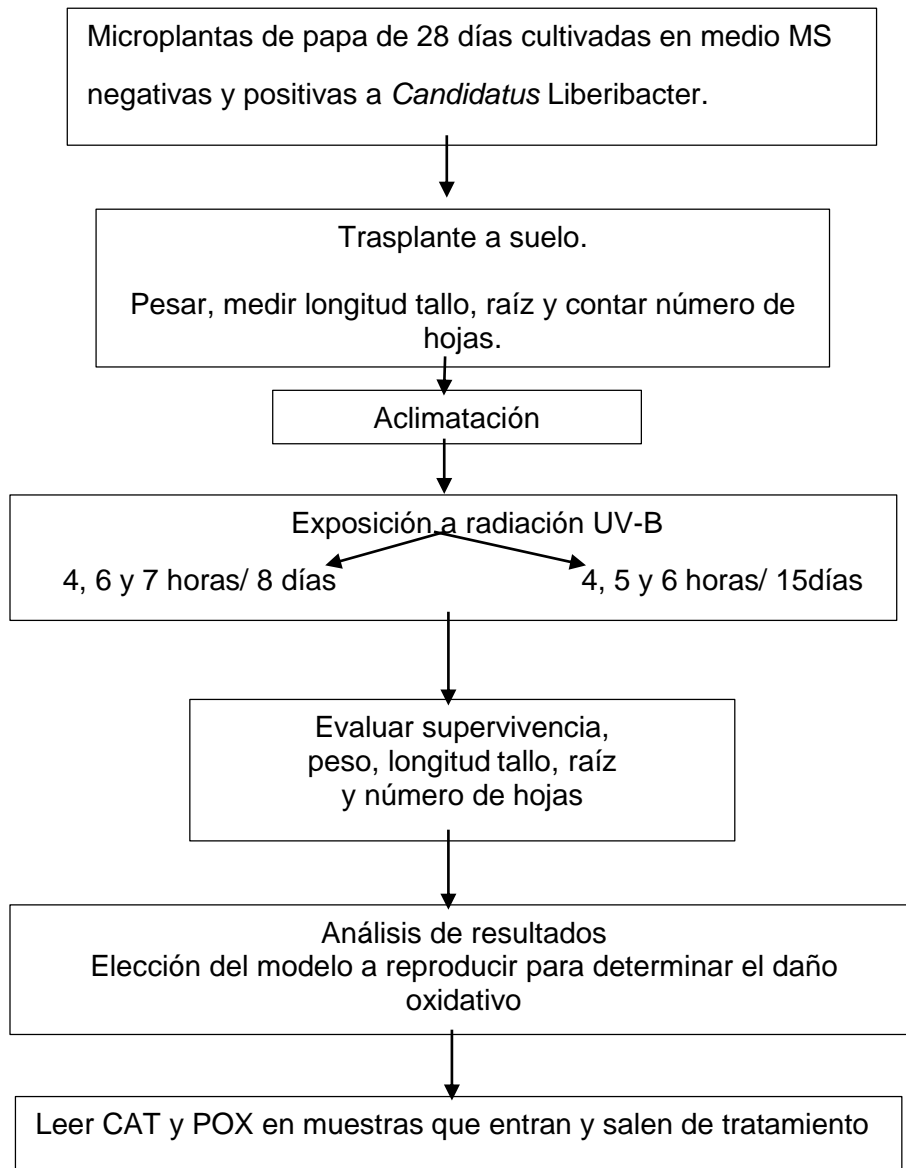


Figura 4 Diagrama de flujo de las evaluaciones de supervivencia de microplantas de papa a radiación UV-B

6.7 Técnicas empleadas.

6.7.1 Extracción de proteína

El tejido de las hojas (0.050 g) se maceró para extraer la proteína total, se extrajo en una proporción de 1 g: 4 mL con el amortiguador de fosfato de potasio (50 mM pH 7.2) conteniendo 5 mM de dithiothreitol (DTT), 1 mM de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y 2% de polyvinyl pirrolidona (PVP) (Anderson *et al.*, 1995). El homogenado se centrifugó a 10 000 x g durante 15 minutos a 4°C. La fracción sobrenadante se usó para medir la actividad enzimática de la CAT y POX en espectrofotómetro.

6.7.2 Cuantificación de la actividad enzimática de la CAT.

La cuantificación de la actividad enzimática de la catalasa (EC 1.11.1.6) por espectrofotometría se realizó de acuerdo al método descrito por Aebi (1984).

Mezcla de reacción. La actividad enzimática de la catalasa se midió en la mezcla de reacción con amortiguador de fosfato de potasio y sodio 50 mM pH 7.0, 10 μ L del extracto de proteína (aproximadamente 100 μ g de proteína) y 30 mM de H₂O₂ en un volumen final de 3 mL. El blanco contenía amortiguador de fosfato de potasio y sodio 50 mM pH 7.0, 20 μ L del extracto de la muestra en un volumen final de 3 mL. La reacción se inició con la adición de H₂O₂ 30 mM (solución preparada en amortiguador de reacción) a 25-28°C. Se midió el consumo de H₂O₂ como el decremento de la absorbancia a 240 nm en intervalos de 30 segundos durante 3 minutos, para obtener la actividad de la catalasa se usó el coeficiente de extinción para el H₂O₂ $\epsilon = 0.0394 \text{ mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$. Cada muestra se leyó por triplicado.

6.7.3 Cuantificación de la actividad enzimática de la POX.

La cuantificación de POX se realizó de acuerdo con Anderson *et al.* (1995). Mezcla de reacción. La actividad enzimática de la peroxidasa se midió en la mezcla de reacción con amortiguador de fosfato de sodio 50 mM pH 7.0, 3.33 mM de guaiacol, 4 mM de H₂O₂ y 20 μ L de la muestra en un volumen final de 3 mL. La

reacción se inició con la adición de la muestra a 25-28 °C. El blanco consistió en el amortiguador de reacción sin extracto de proteína. La oxidación del sustrato (guaiacol) se midió por el incremento en la absorbancia a 470 nm durante 3 minutos en intervalos de 30 segundos. Para determinar la actividad de la peroxidasa se usó el coeficiente de extinción del guaiacol $\epsilon = 2.6 \text{ mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$. Todas las cuantificaciones enzimáticas se midieron en tres muestras de cada tratamiento y por triplicado cada una en cada repetición experimental.

Las actividades enzimáticas de la CAT y POX se calcularon con la ecuación: $\text{nmol/min/mg de proteína} = \text{Coeficiente de extinción} \times (\text{vol del ensayo} / \text{vol de la muestra en mL}) \times \text{mg de proteína}$.

6.8 Análisis Estadístico

Cada tratamiento se realizó por triplicado. Las diferencias significativas entre el control y las plantas expuestas a UV-B fueron analizadas usando la prueba t Student para la comparación de medias con un nivel de significancia $P \leq 0.05$.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Efecto de la radiación UV-B en plantas de papa infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

7.1.1 Efecto de la radiación UV-B en la supervivencia de plantas de papa infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

La supervivencia se evaluó en de cada uno de los tratamientos de radiación UV-B (Tabla 1). Los resultados muestran que en las plantas negativas no hubo diferencia significativa entre las expuestas a radiación y su control, sin embargo se observa una tendencia a disminuir en las plantas irradiadas de los tratamientos A, C y D (Fig. 5). En las plantas positivas la supervivencia disminuyó de manera significativa en los tratamientos C (25%), E (16%) y F (16%) con respecto a su control (Fig. 5). En el tratamiento B aumentó 17% y a pesar de que en el A y D no hay una diferencia significativa, se observa una tendencia a la disminución.

La supervivencia en los tratamientos B, D y F de 15 días fue claramente menor (60-70%) que la de los tratamientos A, C y E de 8 días (80-90%). Si se compara la supervivencia de positivas y negativas bajo UV-B, se observa que solamente en los tratamientos C y E hay una diferencia significativa, con una menor supervivencia para las positivas (Fig.5), y por el contrario en el D es mayor; mientras que en los otros tratamientos no hay diferencia.

A pesar de que en la literatura no se reporta el porcentaje de supervivencia en las plantas sometidas a radiación UV-B, si se menciona de que en ocasiones cuando una planta es sometida a más de un estrés, uno de los factores de estrés puede llegar a enmascarar el efecto del otro (Sullivan y Temura, 1990; Kalbin *et al.*, 2001), por lo que es posible que en los tratamientos en donde no hay diferencia significativa entre la supervivencia de positivas y negativas sometidas a UV-B fue probablemente, porque el sistema de defensa de la planta ya estaba activo por la infección de la bacteria, lo cual contribuyó a que la radiación UV-B no afectara la supervivencia de las positivas con relación a las negativas.

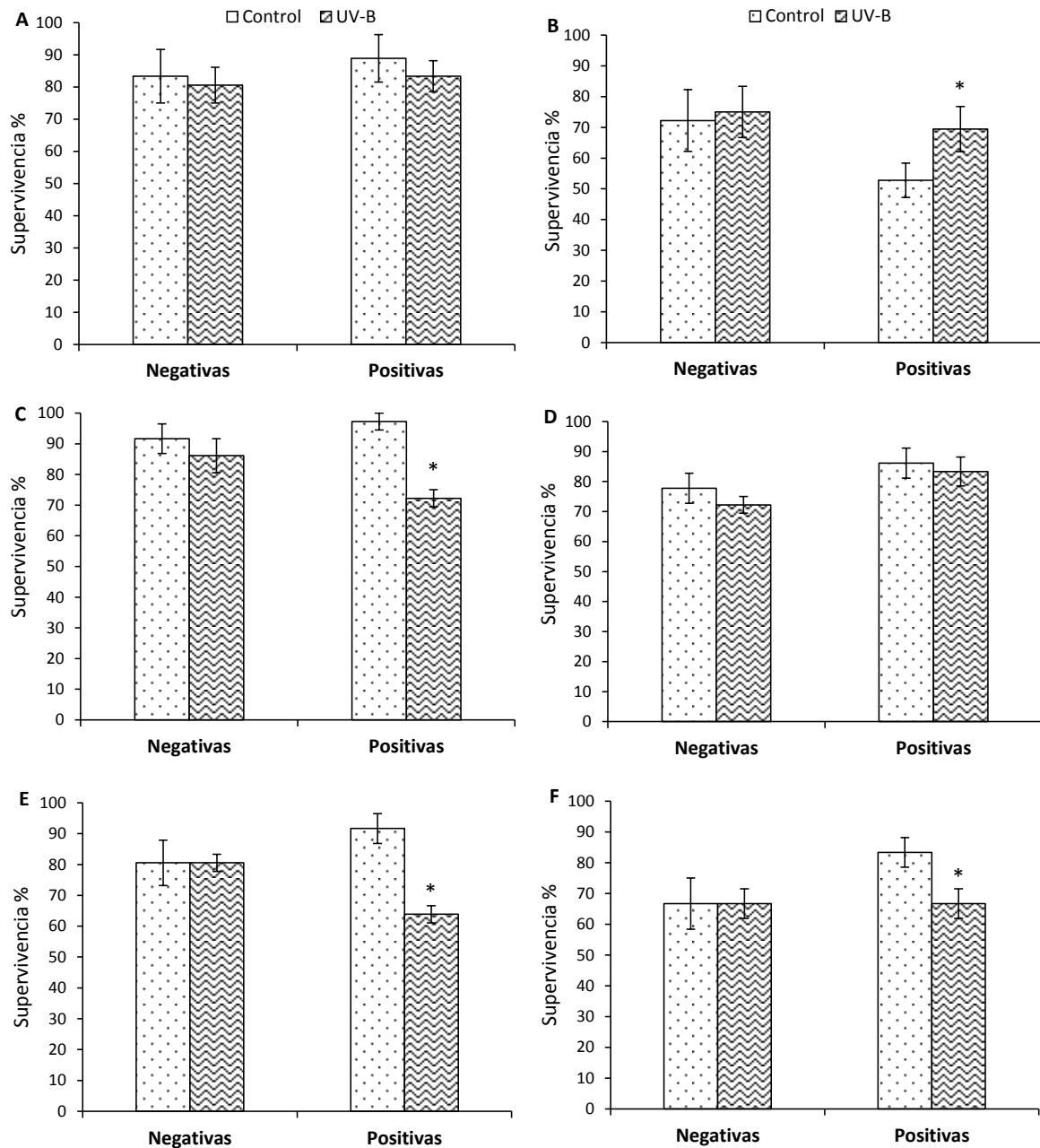


Figura 5. Supervivencia de plantas de *S. tuberosum* negativas y positivas a *Candidatus* Liberibacter, después de ser expuestas a diferentes tratamientos de radiación UV-B. **A.** 4 horas por 8 días, **B** 4 horas por 15 días, **C** 6 horas por 8 días, **D** 6 horas por 15 días, **E** 7 horas por 8 días y **F** 5 horas por 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

Martínez-Gutiérrez *et al.* (2012), evaluaron el efecto del H₂O₂ en plantas de papa infectadas con fitoplasma y bajo condiciones de sequía, encontrando que las plantas infectadas y asperjadas con H₂O₂, mostraron una mayor resistencia a la sequía que las plantas sanas; lo que sugiere la presencia de una tolerancia cruzada entre la respuesta de la planta a un patógeno y a un estrés abiótico (AbuQamar *et al.*, 2009). Por otra parte, es posible que las plantas de papa que estuvieron bajo el efecto de la radiación UV-B también hallan estado sometidas a cierto nivel de estrés hídrico, ya que a pesar de que las plantas fueron regadas cada tercer día, el suelo de las plantas sometidas a radiación se observó más seco que el de las control, debido a que estuvieron bajo la luz de dos lámparas, la de luz normal y la de radiación UV-B (Fig. 6) ya que como lo menciona Sullivan y Temura (1990), los efectos de la radiación UV-B pueden enmascarse cuando la planta está sometida a un estrés hídrico.



Figura 6. Efecto de la radiación UV-B sobre la humedad del suelo (A) suelo con plantas sometidas a radiación y (B) suelo con plantas testigo

7.2 Efecto de la radiación ultravioleta B en el crecimiento en plantas de papa infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

7.2.1 Efecto de la radiación UV-B en la ganancia de peso fresco de plantas infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

Las plantas negativas expuestas a radiación UV-B tuvieron una ganancia de peso fresco significativamente menor en los tratamientos A (27%), C (21%), D (38%) y E (25%) con respecto a su control (Fig. 7). Por otra parte, en las plantas positivas la ganancia disminuyó de manera significativa en los tratamientos A (10%), B (11%), E (36%) y F (41%), en el C se incrementó 12% y en el D fue igual. Si se comparan los resultados de las plantas negativas y positivas sometidas a radiación UV-B, se aprecia que las plantas positivas tuvieron una ganancia de peso menor en los tratamientos B (11%), C (71%), E (52%) y F (51%) (Fig. 7).

Al duplicar el tiempo de exposición de 8 a 15 días en el tratamiento B de 4 horas, la ganancia de peso de las plantas expuestas a luz UV-B disminuyó un 71% en negativas y 55% en positivas; mientras que en el tratamiento D de 6 horas, disminuyó 56% en negativas, pero se incrementó 56% en las positivas. Por lo que se puede concluir que al incrementar el tiempo de la exposición a UV-B las plantas positivas crean cierta tolerancia que las hace más resistentes al factor de estrés. Por otra parte, **en los tratamientos A y E, tanto las plantas negativas como positivas bajo radiación tuvieron una disminución en la ganancia de peso;** sin embargo, las positivas presentaron una pérdida menor (23%) que las negativas (26%) (Fig. 7). Al igual que en la supervivencia, esto podría atribuirse a que un estrés biótico puede influenciar la respuesta de un estrés abiótico (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2012; AbuQuamar *et al.*, 2009) y por lo tanto enmascarar el efecto del mismo; en este caso la infección por parte de la bacteria *Candidatus Liberibacter* enmascaró el efecto de la radiación UV-B.

En un estudio en campo, Sullivan y Temura (1990), demostraron que la reducción en el crecimiento y fotosíntesis en soya por efecto de UV-B, se presentó solo en las plantas que estaban bien hidratadas, ya que **cuando las plantas estuvieron bajo un estrés hídrico, no hubo un efecto significativo de la radiación UV-**

B con respecto a la actividad fotosintética ni en el crecimiento de las plantas. Los autores concluyeron que el estrés hídrico enmascaró el efecto de la radiación UV-B, porque cuando las plantas están sometidas a estrés hídrico, tienen una mayor concentración de flavonoides que brindan una mayor protección a la planta a radiación UV-B. Sin embargo, en especies de musgo, la radiación UV-B inhibió el crecimiento cuando se encontraba bajo estrés hídrico y lo estimuló cuando estaba bien hidratado (Gehrke, 1998), por lo que las respuestas en las plantas frente a dos tipos de estrés puede variar.

Estudios previos realizados tanto en papa (*Solanum tuberosum*), como en algodón (*Gossypium hirsutum* L.), pimiento (*Capsicum longum* A.DC.), o *Acorus calamus* L. han mostrado que una de las consecuencias de la exposición a diferentes dosis de radiación UV-B es la supresión del crecimiento y la reducción en la producción en la biomasa causadas por el estrés oxidativo, lo cual es atribuido a la disminución de la actividad fotosintética y es considerado típico en la mayoría de las variedades cultivadas (Santos *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2011; Vyšniauskienė y Rančelienė, 2014) por lo que en este estudio la disminución en la ganancia de peso en las plantas negativas y positivas a *Candidatus Liberibacter* y sometidas a radiación UV-B, pudo darse como una respuesta por parte de la planta ante el estrés oxidativo ocasionado por este factor abiótico.

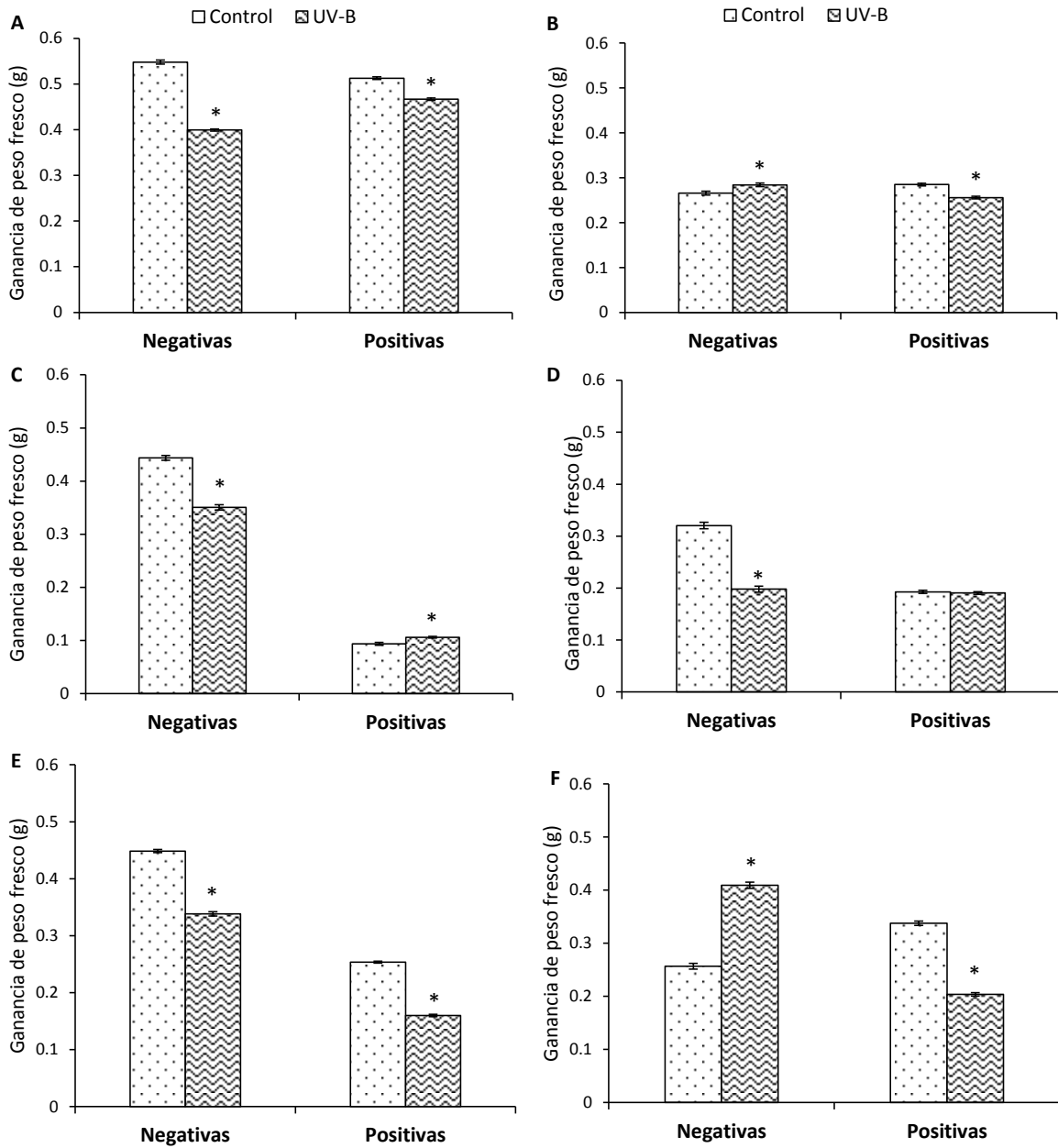


Figura 7. Ganancia de peso fresco de plantas de *S. tuberosum* negativas y positivas a *Candidatus Liberibacter*, después de ser expuestas a diferentes tratamientos de radiación UV-B. **A.** 4horas por 8 días, **B** 4 horas por 15 días, **C** 6 horas por 8 días, **D** 6 horas por 15 días, **E** 7 horas por 8 días y **F** 5 horas por 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

7.2.2 Efecto de la radiación UV-B en la longitud del tallo en plantas infectadas con *Candidatus Liberibacter*

La longitud inicial del tallo de plantas negativas a los 28 días fue en promedio de 4.8 cm, significativamente mayor que las positivas (3.3 cm) con *C. Liberibacter*. De igual forma el grosor del tallo es visualmente ligeramente mayor en plantas negativas que en positivas (Fig.8).

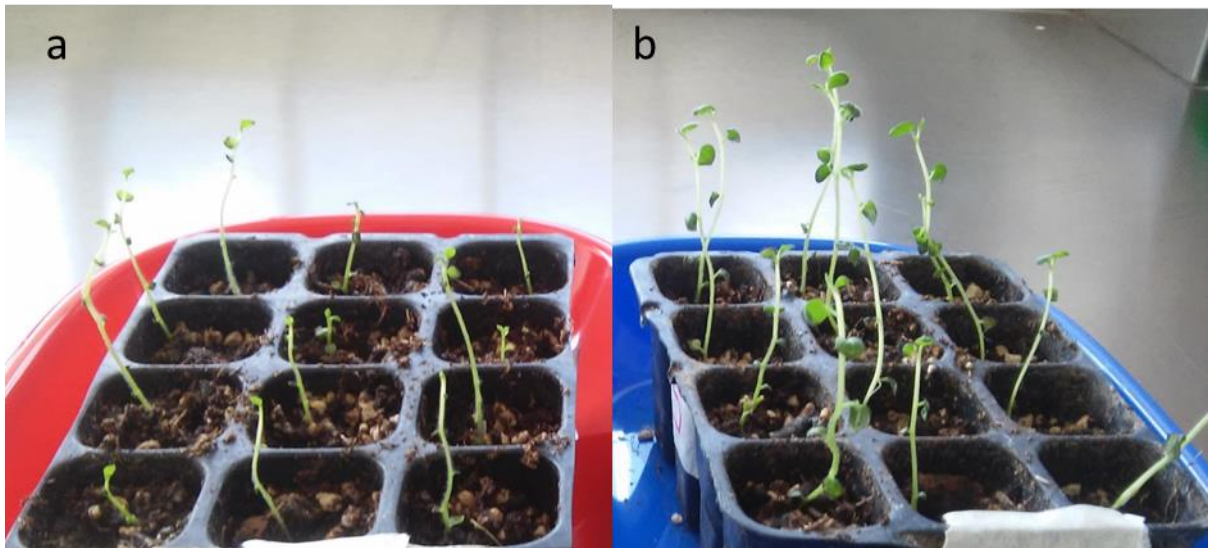


Figura 8. Longitud de tallo de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) de 28 días (a) positivas y (b) negativas a *Candidatus Liberibacter*.

La longitud del tallo de plantas negativas expuestas a radiación UV-B disminuyó en los tratamientos A (16%), B (19%), D (18%), y F (12%); en los tratamientos C y E aumentó. En las plantas positivas se registró una disminución en los tratamientos A (14%), D (15%) y F (22%); en el C la longitud fue igual y en el B y E se observa una leve tendencia a disminuir (Fig. 5). De igual forma la longitud de las plantas positivas fue menor con respecto a todos los tratamientos de las plantas negativas, destacando los tratamientos C y E en donde la diferencia fue de 56 y 45% respectivamente (Fig. 9).

En muchas especies de plantas se ha reportado una reducción en el crecimiento del tallo en estudios realizados tanto en cámaras de crecimiento,

invernadero así como en campo, cuando las plantas son expuestas a algún nivel de radiación ultravioleta B, (Caldwell *et al.*, 1998).

Vyšniauskienė y Rančelienė (2014), obtuvieron una reducción del crecimiento en plantas de papa al ser expuestas a una dosis de $6 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ durante 8 días; de acuerdo con los autores esto, está directamente relacionado con el sistema fotosintético de la planta, lo que conlleva a una disminución de la productividad y rendimiento del cultivo. Santos *et al.* (2004), obtuvieron resultados similares en papa al exponer las plantas a una dosis de $7.83 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ durante 4 y 8 días. Encontraron que la altura de la planta disminuyó, así como el área de las hojas aunque hubo un aumento en su grosor. Por lo que es evidente que la radiación UV-B si tiene un efecto en el crecimiento de plantas de papa a pesar de utilizar diferentes dosis de radiación.

Singh *et al.* (2011), reportaron una disminución en el crecimiento de plantas de papa sometidas a UV-B con diferentes niveles de NPK. Lo que demuestra el daño o sinergia del efecto de la radiación UV-B en las plantas de papa cuando hay dos tipos de estrés diferentes. Tal y como ocurrió en este estudio en donde las plantas se vieron afectadas no solo por la radiación UV-B, sino también por *C. Liberibacter* y estrés hídrico.

Estudios realizados en otras especies de plantas también han arrojado resultados similares. Zhao *et al.* (2003), encontraron que la longitud del tallo se redujo significativamente en plantas de algodón (*Gossypium hirsutum* L) al evaluar los efectos de una dosis de UV-B $15.1 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ junto con una elevada concentración de CO_2 ; no obstante al probar con una dosis menor de radiación $7.7 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ el crecimiento de la planta no se vio afectado, sin embargo, si se vio afectado el peso seco del fruto. Los autores atribuyen la disminución de la altura de la planta a la producción de internodos más cortos en lugar de un menor número de internodos. Lo cierto es que el daño del efecto de la radiación UV-B depende de diferentes factores como la especie, la etapa fenológica de la planta, la intensidad y el tiempo de radiación, tal y como se encontró en la planta medicinal *Acorus Calamus* L. en donde se evaluaron dos dosis de radiación UV-B (1.8 y $3.6 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) observándose una disminución de la altura con ambas dosis (Kumari *et al.*, 2009).

Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con la literatura en el hecho de que la radiación UV-B influye en la altura de las plantas disminuyéndola; no obstante lo anterior, en el caso de las plantas positivas a *Candidatus Liberibacter* el efecto sobre la longitud del tallo, en relación con su control, es menor que en las plantas negativas, esto es posible debido a que el sistema antioxidante de la planta ya se encontraba activo ante el estrés provocado por la enfermedad, por lo que al momento de enfrentarse a otro estrés, los efectos fueron menores en comparación con las plantas negativas. Es posible pensar que las plantas positivas adquirieron algún tipo de aclimatación, que les permitió ser más tolerantes a los efectos de la UV-B.

Se ha evaluado el efecto de la radiación UV-B en plantas con algún tipo de enfermedad fúngica o viral en condiciones de laboratorio o invernadero, obteniéndose casos en los que la severidad de la enfermedad disminuye, aumenta o no se tiene efecto (Caldwell *et al.*, 1998); esto también varía de acuerdo con el tipo de hospedero. En esta investigación, el efecto de la radiación UV-B en plantas infectadas con la bacteria *Candidatus Liberibacter*, no fue tan severo, si se compara con los resultados obtenidos en las plantas control. Al igual que se encontró en plantas de tomate tratadas con radiación UV-C y tabaco con radiación UV-B, en donde la radiación ultravioleta activó la síntesis de proteínas relacionadas con la respuesta ante patógenos, incrementando la resistencia a los mismos, por lo que el efecto de los mismos fue menor (Fujibe *et al.*, 2000; Charles *et al.*, 2009).

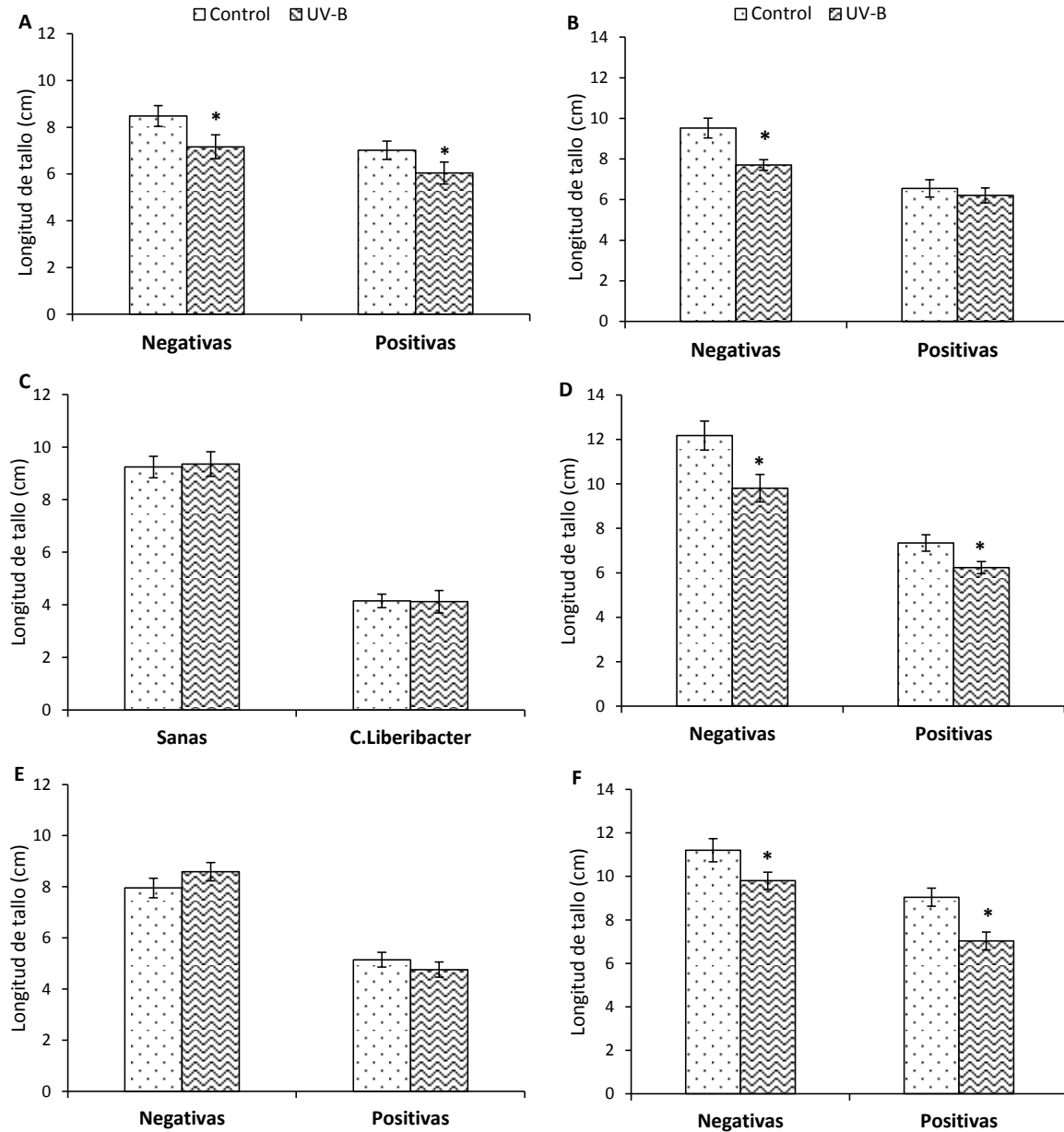


Figura 9. Longitud del tallo en plantas de *S. tuberosum* negativas y positivas a *Candidatus Liberibacter*, después de ser expuestas a diferentes tratamientos de radiación UV-B. **A** 4 horas por 8 días, **B** 4 horas por 15 días, **C** 6 horas por 8 días, **D** 6 horas por 15 días, **E** 7 horas por 8 días y **F** 5 horas por 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas por tratamiento (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

7.3 Efectos de la radiación ultravioleta B en la morfología de hojas y raíz de plantas de papa infectadas con *Candidatus* Liberibacter.

7.3.1 Efecto de la radiación UV-B en la raíz de plantas infectadas con *Candidatus* Liberibacter.

La longitud inicial de la raíz de plantas negativas a los 28 días fue en promedio de 10 cm, significativamente mayor que la de las plantas positivas con *C. Liberibacter* que fue de 6 cm, 40% menor que el control (Fig. 10). Por otra parte, además de tener una longitud mayor, las raíces de las plantas negativas son más abundantes y ramificadas, a diferencia de las raíces de las plantas positivas en donde además de ser cortas tienen muy pocas ramificaciones o solo una raíz principal (Fig. 10).

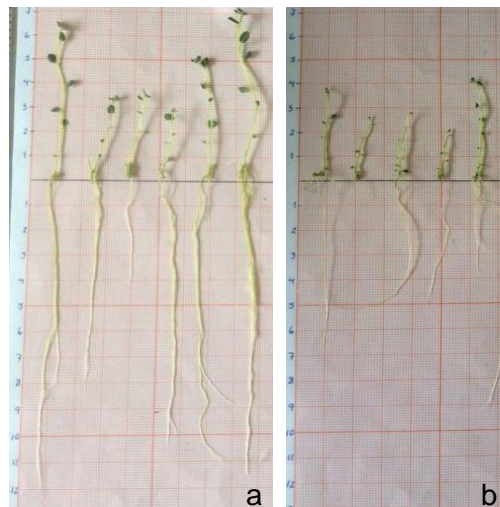


Figura 10. Raíz de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) de 28 días, **a)** negativas y **b)** positivas con *Candidatus* Liberibacter.

Al medir la longitud de la raíz después de los tratamientos con UV-B se observó que de manera general fueron más quebradizas por lo que no fue posible medirlas y obtener resultados confiables (Anexo 5). Pocas fueron las plantas en las que se pudo sacar la raíz completa y en las que se registró un incremento de la longitud. Lo que si se registró u observó es que la raíz de las plantas positivas se

mantuvo pequeña, muy delgada y quebradiza, incluso algunas muestras llegaron a perder toda su raíz al momento de sacarlas de los almácigos. En las plantas negativas la raíz fue de mayor longitud, con raíces ramificadas delgadas, pero también quebradizas (Fig.11). No se pudo observar una diferencia significativa entre la raíz de las plantas expuestas a UV-B y su control, ni en negativas ni en positivas. Es posible que si se hubiesen dejado crecer por un tiempo más prolongado se hubiera podido observar si hay un efecto de la radiación UV-B sobre la raíz.

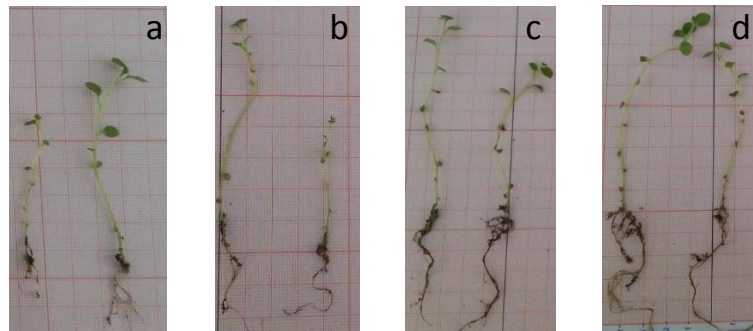


Figura 11. Raíz de plantas después de tratamiento con radiación UV-B. Plantas positivas a *C. Liberibacter* expuestas a UV-B (**a**) y su control (**b**), plantas negativas expuestas a UV-B (**c**) y su control (**d**).

No existen muchos estudios sobre el efecto de la radiación ultravioleta en la raíz de las plantas. Singh *et al.* (2011), evaluaron el efecto de radiación UV-B, sobre el crecimiento, productividad y calidad del tubérculo de *Solanum tuberosum*, utilizando diferentes niveles de NPK, reportando una reducción en la longitud de la raíz solamente en plantas cultivadas con la dosis de NPK recomendada y una dosis 1.5 veces mayor a lo recomendado. La longitud de la raíz aumentó cuando las plantas estuvieron sometidas a una deficiencia de fósforo; este es un mecanismo que puede utilizar la planta para contrarrestar la deficiencia de nutrientes o en caso de competencia de nutrientes con otras raíces. En un estudio previo Singh *et al.* (2009) también encontraron una reducción en la longitud de la raíz en plantas de *Amaranthus* bajo radiación UV-B y 1.5 veces la dosis recomendada de NPK.

Por su parte, Zuk-Golaszewska *et al.* (2003), observaron una disminución en la altura, biomasa en fresco de hojas, brotes y raíz así como en el área de la hoja

de *Avena fatua* y *Setaria viridis*. En centeno se observó una disminución del rendimiento de la materia seca y el contenido de agua en hojas y raíz en plantas bajo estrés hídrico, y bajo radiación UV-B más estrés hídrico, sin embargo esos resultados no se observaron en plantas expuestas solo a radiación UV-B (Banduska *et al.*, 2012). Lo cual indica que otros factores pueden ser más perjudiciales que la radiación UV-B sola.

7.3.2 Efecto de la radiación UV-B en las hojas de plantas de papa infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

Las plantas negativas de 28 días presentan hojas ligeramente más grandes y anchas así como un mayor número de hojas por planta (8-10) con relación a las plantas positivas a *Candidatus Liberibacter*, en donde las hojas son pequeñas y alrededor de 6-7 hojas por planta (Fig.12).



Figura 12. Tamaño de hoja de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) negativas (a) y positivas a *C. Liberibacter* (b) de 28 días.

El número de hojas fue contabilizado después de cada tratamiento. No se observó una tendencia o diferencia significativa entre plantas negativas y positivas respecto a su control, por lo cual no se incluyeron esos resultados (Anexo 6). Por el tamaño tan pequeño de las hojas, sobre todo de las plantas positivas, no se midió el área foliar, solo se realizaron observaciones externas, resaltando el que al término del tratamiento las hojas de las plantas negativas presentaban cierto enroscamiento y una forma alargada, por el contrario las hojas de las plantas positivas eran redondas, posiblemente porque las plantas eran más cortas en cuanto a longitud.

En varios de los estudios realizados sobre los efectos de la radiación UV-B en plantas, se ha encontrado que una respuesta frecuente en las hojas, es la disminución del área foliar así como el aumento en el grosor de las mismas. En este estudio no se midieron estos parámetros, no obstante se observó que el tamaño de las hojas de las plantas positivas a *C. Liberibacter* fue menor que el de las plantas negativas (Fig 12).

Singh *et al.* (2011), contabilizaron un incremento en el número de hojas de plantas de papa sometidas a radiación UV-B solamente en el tratamiento en donde fueron cultivadas con una dosis de NPK 1.5 mayor a la recomendada, atribuyendo esto a un mayor número de ramificaciones así como una mayor disponibilidad de nitrógeno, por lo que la planta puede producir hojas nuevas que reemplazan a las hojas dañadas por UV-B. No obstante, hubo una tendencia a un número de hojas menor con la dosis recomendada de NPK así como con diferentes proporciones de nutrientes. En nuestro caso el número de hojas de las plantas sanas de 28 días fue mayor que el de las plantas enfermas, lo cual se atribuye posiblemente, a una mayor longitud y por lo tanto un mayor número de internodos en comparación con las plantas enfermas. Después de cada tratamiento la diferencia en el número de hojas se mantuvo y no se observaron efectos de la radiación UV-B en este parámetro.

Zuk-Golaszewska *et al.* (2003), evaluaron cambios en la hoja y morfología inducidos por diferentes dosis de UV-B en *Avena fatua* y *Setaria viridis*. En este estudio se contabilizó el número de hojas, reportándose una tendencia en la reducción del número de hojas en ambas especies para dos dosis de UV-B (8 y 12 kJ/m²/d).

La radiación UV-B no solo afecta el área y grosor de la hoja, también se ha reportado que puede alterar el número de flores, así como el tiempo de floración, en ciertas especies como frijol *Phaseolus vulgaris* L.(Saile-Mark y Tevini, 1997), *Brassica rapa* (Klaper *et al.*,1996) y plantas monocotiledones y dicotiledóneas de ambientes áridos (Musil, 1995). En el caso del cultivo de papa sería muy importante evaluar el efecto del incremento de la radiación UV-B en el desarrollo del tubérculo.

7.4 Efecto de la radiación UV-B en las respuestas oxidativas.

Se cuantificó la actividad enzimática de las enzimas catalasa (CAT) y peroxidasa (POX). Las lecturas se hicieron en plantas de 28 días de incubación *in vitro* y posteriormente después de la exposición de las plantas a radiación UV-B por 4 horas durante 15 días. Este fue el único tratamiento en el que se cuantificó la actividad enzimática, mismo que fue elegido a partir de los resultados obtenidos de todos los tratamientos que se probaron durante la elaboración del modelo biológico, ya que fue en este en el que se observó un mayor daño en las plantas en cuanto a crecimiento.

7.4.1 Efecto de la radiación UV-B en la actividad enzimática de la CAT en plantas infectadas con *Candidatus Liberibacter*.

En plantas de 28 días de incubación la actividad enzimática de la CAT en plantas infectadas con *C. Liberibacter* es 44% menor con respecto al control (Fig. 13 Etapa A). La actividad enzimática de la CAT en plantas positivas expuestas a radiación, aumentó de manera significativa un 23% con relación al control (Fig. 13 Etapa B). En plantas negativas, la actividad de la CAT también registró un aumento con respecto al control pero este no fue significativo.

En la literatura se ha reportado un aumento en la actividad de CAT en diferentes plantas sometidas a radiación UV-B como por ejemplo en cotiledones de pepino (Rybus-Zajac y Kubiś, 2010), plantas de tomate (Balakumar *et al.*, 1997), y soya (Xu *et al.*, 2008).

Vysniauskiena *et al.* (2014), evaluaron el efecto de la UV-B en 5 variedades de papa reportando un incremento significativo en la actividad enzimática de la CAT solamente en dos de las cinco variedades. Los resultados fueron atribuidos a los diferentes genotipos de las variedades utilizadas.

Santos *et al.* (2004), determinaron los cambios bioquímicos y ultra-estructurales en hojas de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) bajo radiación UV-B y encontró un aumento de la actividad de la CAT y POX. El aumento en la actividad de estas enzimas antioxidantes indica que las plantas de papa responden

a la radiación UV-B a través de la activación del sistema de defensa antioxidante, requerido para controlar los niveles de oxidantes. Una respuesta similar se obtuvo en este trabajo, pero solamente el incremento de la actividad enzimática se observó en las plantas positivas, y no así en las negativas.

Sin embargo, en *Arabidopsis thaliana* se presentó un incremento de SOD y POX, pero no para CAT (Rao *et al.*, 1996). En girasol aumentó la actividad de la CAT, pero no hubo cambio en APX (Costa *et al.*, 2002), en sorgo la CAT disminuyó pero la POX aumentó (Ambasht y Agrawal, 1998). Esto demuestra que la respuesta de las enzimas ante un mismo factor de estrés, como lo es la radiación UV-B, va a depender de la especie y las condiciones particulares en las que las plantas se desarrollan.

El sistema de enzimas antioxidantes participa en los mecanismos de defensa en contra del daño oxidativo, por lo que el incremento de la actividad de la CAT se da como una respuesta ante el estrés causado por la exposición a radiación UV-B. En este estudio encontramos que la actividad enzimática de la CAT se incrementó un 23% más en las plantas infectadas, posiblemente porque estas plantas se encuentran sometidas a un mayor nivel de estrés biótico, causado por la bacteria *Candidatus Liberibacter* y abiótico, por el aumento de la radiación UV-B así como por un cierto nivel de sequía. No obstante, el efecto en la actividad de la CAT en plantas sanas sometidas a radiación UV-B no fue estadísticamente diferente, aunque se observa una tendencia a aumentar.

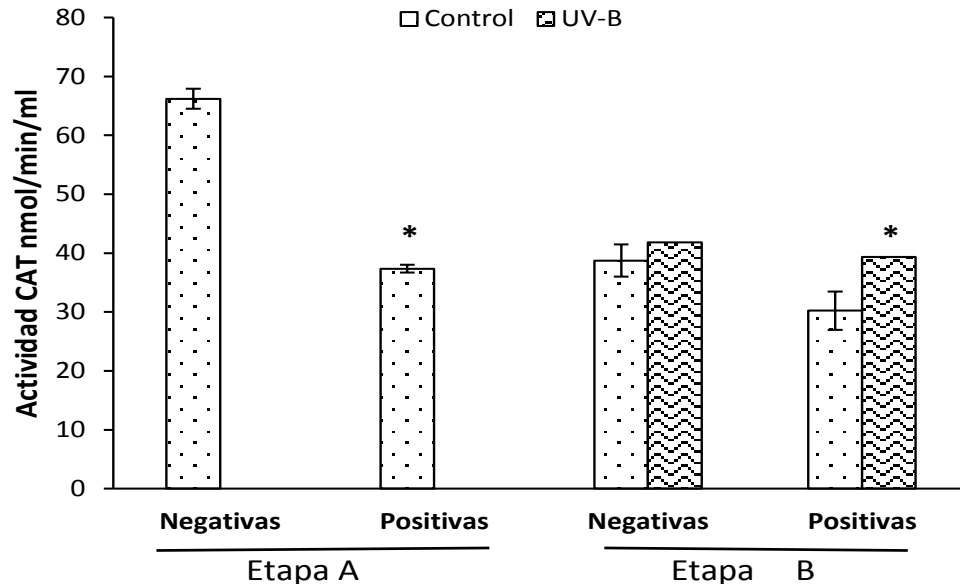


Figura 13. Actividad enzimática de la CAT en plantas de papa *Solanum tuberosum* negativas y positivas a la bacteria *Candidatus Liberibacter*. Etapa **A**, plantas de 28 días. Etapa **B**, plantas después de ser sometidas a radiación UV-B por 4 horas durante 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas. (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

7.4.2 Efecto de la radiación UV-B en la actividad enzimática de la POX.

La actividad enzimática de la POX en plantas positivas a *Candidatus Liberibacter* de 28 días de incubación fue 49% mayor con respecto al control (Fig. 14 Etapa A).

Después de que las plantas fueron expuestas a radiación por 4 horas durante 15 días, la actividad de la POX fue significativamente mayor 47% en las plantas positivas expuestas a radiación con respecto a su control y 69% con respecto a las plantas negativas expuestas a radiación (Fig. 14).

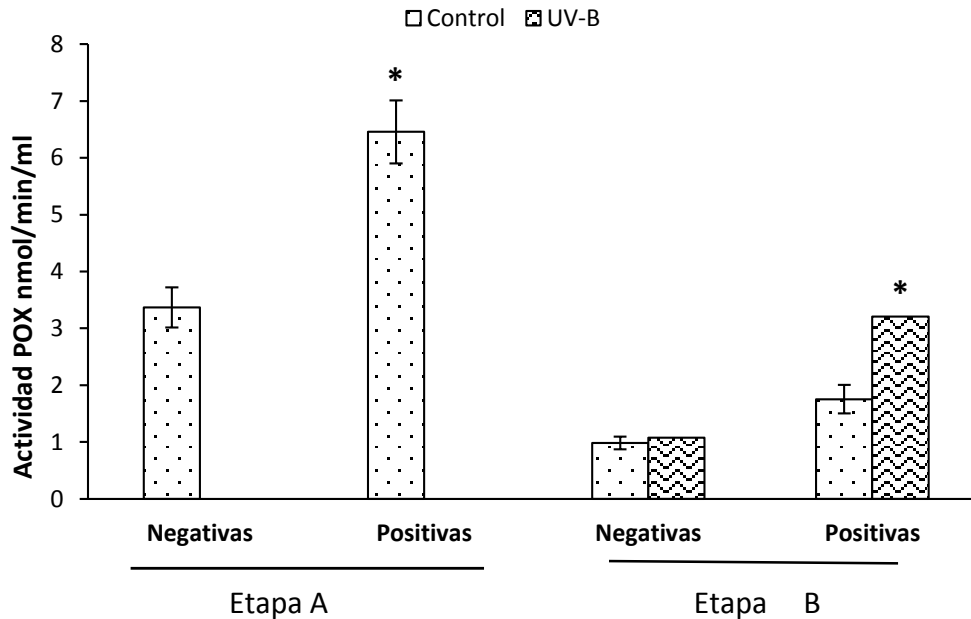


Figura 14. Actividad enzimática de la POX en plantas de papa *Solanum tuberosum* negativas y positivas a *Candidatus Liberibacter*. Etapa A, plantas de 28 días. Etapa B, plantas después de ser sometidas a radiación UV-B por 4 horas durante 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas. (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

El incremento en la actividad de la POX por la influencia de radiación UV-B ha sido reportada en diferentes cultivos, como por ejemplo en cebada (Mazza *et al.*, 1999), remolacha del azúcar (Panagopoulos *et al.*, 1990), avena y frijol (Agrawal y Ratore, 2007), espinaca (Lei *et al.*, 2008), cacahuate (Tang *et al.*, 2010) y pepino (Kataria *et al.*, 2007; Rybus-Zajac y Kubiś, 2010). Con lo que se demuestra que la POX es una enzima cuya actividad se incrementa ante la radiación UV-B no solamente en plantas de papa, sino en otros cultivos de importancia económica.

Xu *et al.* (2008), evaluaron la actividad de POX en diferentes variedades de soya, misma que no se vio afectada por la UV-B ya que no se encontró diferencia entre las dos variedades evaluadas. En *Arabidopsis thaliana*, Rao *et al.* (1996) encontraron que la actividad de esta enzima disminuyó al ser expuesta a una dosis de radiación UV-B muy alta. Por lo que es claro que la respuesta de esta enzima a

la radiación varía de una especie a otra y puede estar determinada por diferentes factores.

Rybus-Zajac y Kubiś (2010), evaluaron el efecto de la radiación UV-B en la actividad enzimática de cotiledones de pepino, encontrando que la radiación UV-B incrementó la actividad antioxidante en la región de la pared celular, elevándose los niveles de peroxidasas. De acuerdo con los autores, esto conduce a un aumento de la rigidez de la pared celular, brindando a la planta una mayor tolerancia a la sequía, la radiación UV-B y el co-estrés (García *et al.*, 2000; Kubis y Rybus-Zajac, 2008). Es muy probable que este proceso haya ocurrido en las plantas de papa infectadas con *C. Liberibacter*, en donde la actividad enzimática de la POX en las plantas expuestas a UV-B se incrementó de manera considerable, mismas que no mostraron un efecto severo por parte de la radiación en cuanto a supervivencia, ganancia de peso o longitud de tallo con respecto a su control, a pesar de estar sometidas a diferentes factores de estrés como lo fue la infección de *C. Liberibacter*, la radiación UV-B y la sequía. Demostrándose también como en ocasiones un factor de estrés puede enmascarar el efecto de otro, lo que se conoce como tolerancia cruzada.

En cuanto a papa se refiere, Santos *et al.* (2004), evaluaron el efecto de la radiación UV-B en plantas de *Solanum tuberosum*, reportando un aumento de la actividad de POX. El aumento de estas enzimas le ayuda a la planta a controlar los niveles de radicales de oxígeno y mantener la integridad de las membranas celulares. En esta investigación encontramos que la actividad de la POX se incrementó de manera significativa (43%) solamente en plantas infectadas con respecto a su testigo ya que en las plantas sanas no hubo diferencia significativa.

8 CONCLUSIONES

- La radiación ultravioleta B, afectó la ganancia de peso y longitud de tallo tanto en plantas negativas como positivas a *Candidatus Liberibacter*.
- La radiación UV-B afectó la supervivencia de plantas positivas a *C. Liberibacter*.
- La actividad enzimática de la CAT y POX incrementó significativamente en plantas positivas a *C. Liberibacter* expuestas a radiación.

9 RECOMENDACIONES

- Se recomienda desarrollar este estudio por un periodo más prolongado y bajo condiciones de invernadero o campo para poder analizar el efecto, si es que lo hay, de la radiación UV-B en la raíz y tubérculo de papa.
- Medir los niveles de H_2O_2 , actividad fotosintética así como niveles de flavonoides.
- Para poder determinar el efecto de la radiación UV-B en las hojas se tendrían que hacer estudios a nivel ultra-estructural que nos permitan conocer, medir y observar los cambios que se producen en el tejido foliar a nivel anatómico o fisiológico.
- Trabajar con un mayor número de plantas por tratamiento para contar con muestra suficiente al momento de evaluar la actividad enzimática.

10 LITERATURA CITADA

- AbuQamar S, Luo H, Laluk K, Mickelbart MV and Mengiste T. 2009. Crosstalk between biotic and abiotic stress responses in tomato is mediated by the *AIM1* transcription factor. *Plant Journal* 58:347-360.
- Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*. 105:121-126
- Agrawal SB and Rathore D. 2007. Changes in oxidative stress defense system in wheat (*Triticum aestivum* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) cultivars grown with and without mineral nutrients and irradiated by supplemental ultraviolet-B. *Environ. Exp.Bot.* 59:21-23.
- Alvarado VY, Odokonyero D, Duncan O, Mirkov TE and Scholthof HB. 2012. Molecular and Physiological Properties Associated with Zebra Complex Disease in Potatoes and Its Relation with *Candidatus Liberibacter* Contents in Psyllid Vectors. *PLoS ONE*. 7(5).
- Alonso FA. 2002. El cultivo de la patata. 2ª. Ed. Mundi-Prensa. México 496 p.
- Ambasht NK and Agrawal M. 1998. Physiological and biochemical responses of *Sorghum vulgare* plants to supplemental ultraviolet-B radiation. *Can. J. Bot.* 76:1290-1294.
- Anderson MD, Prasad TK and Stewart CR. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology*. 109:1247-1257.
- Arora A, Sairam RK and Srisvastava GC. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Review article. *Current Science*. 82:1227-1238.
- Asada K. 1992. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*. 85:235-241.
- Balakumar T, Hani BVV and Paliwal K. 1993. On the interaction of UV-B radiation (280–315 nm) with water stress in crop plants. *Physiologia Plantarum*. 87: 217–222.
- Balakumar T, Gayathri B, and Anbudurai PR. 1997. Oxidative stress injury in tomato plants induced by supplemental UV-B radiation. *Biologia Plantarum* 39:215-221.

- Banduska H, Pietrowska-Borek M and Cieslak M. 2012. Response of barley seedlings to water deficit and enhanced UV-B irradiation acting alone and in combination. *Acta Physiol. Plant* 34:161-171.
- Cadena-Hinojosa MA, Guzmán-Plazola R, Díaz-Valasis M, Zavala-Quintana TE, Magaña TOS, Almeyda-León IH, López-Delgado H, Rivera-Peña A, Rubio-Cobarrubias 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(3): 248-259.
- Cadena-Hinojosa MA. 1993. La Punta Morada de la Papa en México: Incidencia y búsqueda de resistencia. *Agrociencia* 4:247-256.
- Caldwell MM, Robberecht R and Flint SD. 1983. Internal filters: Prospects for UV-acclimation in higher plants. *Physiol Plant* 58 (3): 445-450
- Caldwell MM, Bjorn LO, Bornman JF, Flint SD, Kulandaivela G, Teramura AH and Tevini M. 1998. Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. *J. Photochem. Photobiol.B: Biol.* 46:40-52.
- Caldwell MM, Ballaré CL, Bornman JF, Flint SD, Bjrn LO, Teramura AH, Kulandaivelu G, Tevini M. 2003. Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation and interactions with other climatic change factors. This article is published as part of the United Nations Environmental Programme: Environmental effects of ozone depletion and its interactions. *Photochemical and Photobiological Sciences*. 2(1): 29-38. doi:10.1039/b211159b
- Carrasco-Ríos L. 2009. Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. *IDESIA (Arica)*.27(3): 59-76.
- Charles MT, Tano K, Asselin A, and Arul J. 2009. Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinérea* in tomato fruit. V. Constitutive defence enzymes and inducible pathogenesis-related proteins. *Postharvest Biology and Technology*. 51(3):414-424.
- Chimphango SBM, Brown CF, Musil CF and Dakora FD. 2007. Effects of UV-B radiation on seed yield of Glycine max and an assessment of F1 generation progeny for carryover effects. *Physiol.Plant*. 131:378-386.

- Costa H, Gallego SM and Tomaro ML. 2002. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Sci.* 162: 939-945.
- de Brito J, Jeevitha M and Raj TLS. 2011. Alterations of protein and DNA profiles *Zea mays* L. under UV-B radiation. *J. Stress Physiol. Biochem.* 7:232-240.
- Espinoza NO, Estrada R, Silva-Rodríguez D, Tovar P, Lizarraga R and Dodds JH. 1986. The potato: a model crop plant for tissue culture. *Outlook on Agriculture.* 15:21-26.
- Espinoza NO. 1998. Los múltiples viajes y migraciones de la papa latinoamericana. *Revista Latinoamericana de papa.* 1:7-8.
- FAO. 2008. Año internacional de la papa.
- Fernie AR and Willmitzer L. 2001. Molecular and Biochemical Triggers of Potato Tuber Development. *Plant Physiology.* 127:1459-1465.
- Foyer CH and Noctor G. 2005. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment.* 28:1056-1071.
- Frohnmeier H and Staiger D. 2003. Update on Ultraviolet-B Light Responses Ultraviolet-B Radiation-Mediated Responses in Plants. *Balancing Damage and Protection.* 133:1420-1428. doi:10.1104/pp.103.030049.deeper
- Fujibe T, Watanabe K, Nakajima N, Ohashi Y, Mitsuhashi I, Yamamoto KT and Takeuchi Y. 2000. Accumulation of pathogenesis-related proteins in tobacco leaves irradiated with UV-B. *Journal of Plant Research.* 113(4): 387-394.
- Gandarillas A y Orduño N. 2009. Compendio de enfermedades, insectos, nematodos y factores abióticos que afectan el cultivo de papa en Bolivia. Fundación PROINPA. Cochabamba-Bolivia.
- García AL, Fuentes V and Nicolas N. 2000. Interactive effect of nitrogen and long-term moderate water stress on water relations in tomatoe (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants. *Journal of Plant Physiology.* 156:563-566.
- Gehrke C. 1998. Impacts of enhanced ultraviolet-B radiation on mosses with contrasting morphology and growth patterns in a subarctic heath ecosystems. *Ecology.*

- Hansen AK, Trumble JT, Stouthmer R y Paine TD. 2008. New Huanglongbing (HLB) Candidatus species, “*C. Liberibacter psyllaurosus*”, found to infect tomato and potato is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and environmental microbiology* 74(18) 5862-5865.
- Hidema J and Kumagai T. 2006. Sensitivity of rice to ultraviolet-B radiation. *Annals of botany*. 97(6): 933–42. doi:10.1093/aob/mcl044
- Hernández AJ, Ferrer AM, Jimenez A, Barcel RA y Francisca S. 2001. Antioxidant system and O₂ /H₂O₂. Production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiol.*, 127: 817-831.
- Hooker WJ. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa. Versión española de Teresa Ames de Icochea. CIP, Lima. 166 p.
- Jenkins GI. 2009. Signal Transduction in Responses to UV-B Radiation. *Annual Review of Plant Biology*. 60:407-431.
- Kalbin G, Hidema J, Brosché M, Kumagai T, Bornman JF and Strid A. 2001. UV-B induced DNA damage and expression of defence genes under UV-B stress: tissue-specific molecular marker analysis in leaves. *Plant Cell Environ*. 24:983-990.
- Kataria S, Jain K and Guruprasad KN. 2007. UV-B induced changes in antioxidant enzymes and their isoforms in cucumber (*Cucumis sativus* L.) cotyledons. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 44:31-37.
- Klaper R, Frankel S and Berenbaum MR. 1996. Anthocyanin content and UVB sensitivity in *Brassica rapa*. *Photochem. Photobiol*. 63: 811-813.
- Kubis J and Rybus-Zajac M. 2008. Drought and excess UV-B irradiation differentially alter the antioxidant system in cucumber leaves. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 50: 35–41
- Kumagai T, Hidema J, Kang I and Sato T. 2001. Effects of supplemental UV-B radiation on the growth and yield of two cultivars of Japanese lowland rice (*Oryza sativa* L.) under the field in a cool rice-growing region of Japan. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 83 (1-2):201-208.
- Kumari R, Singh S and Arawal SB. 2009 Effects of supplemental ultraviolet-B radiation on growth and physiology of *Acorus calamus* L. (sweet flag).

- Lee IM, Bottner, KD, Munyaneza JE, Secor GA y Gudmestad NC. 2004. Clover proliferation group (16SrVI) subgroup A (16SrVI-A) phytoplasma is a probable causal agent of potato purple top disease in Washington and Oregon. *Plant Disease* 88:429.
- Lei Z, Mingyu S, Xiao W, Chao L, Chunxiang Q, Liang C, Hao H, Xiaoqing L and Fashui H. 2008. Antioxidant is stress promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-B radiation. *Biological Trace Element Research*. 121-69-79.
- Liefting LW, Pérez-Egusquiza ZC and Clover GR. 2008. A New 'Candidatus Liberibacter' Species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease* 92(10):1474.
- Liefting LW, Weir BS, Pennycook SR. 2009. 'Candidatus Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 59, 2274-2276.
- Martínez-Gutiérrez R, Mora-Herrera ME and López-Delgado HA. 2012. Exogenous H₂O₂ in Phytoplasma-Infected Potato Plants Promotes Antioxidant Activity and Tuber Production Under Drought Conditions. *Am. J. Pot Res*. 89:53-62.
- Mazza CA, Battista D, Zima AM, Szwarcberg-Bracchitta M, Giordano CV, Acevedo A Scopel AL and Ballaré CL. 1999. The effects of solar ultraviolet-B radiation on the growth and yield of barley are accompanied by increased DNA damage and antioxidant responses. *Plant Cell Environ*. 22:61-70.
- McClung CR. 1997. Regulation of catalases in *Arabidopsis*. *Free Radical Biology and Medicine*. 23(3):489-496.
- Mehlhorn H, Lelandais M, Korth HG and Foyer CH. 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. *FEBS Letters*. 378:203-206.
- Mora-Herrera ME, López-Delgado H, Castillo-Morales A and Foyer CH. 2005. Salicylic acid and H₂O₂ function by independent pathways in the induction of freezing tolerance in potato. *Physiologia Plantarum*. 125:430-440.
- Mora-Herrera ME y López-Delgado H, 2006. Tolerancia a baja temperatura inducida por ácido salicílico y peróxido de hidrógeno en microplantas de papa. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 29(2):81-85.

- Mora-Herrera ME. 2007. Estrés oxidativo, respuesta antioxidante y tolerancia a baja temperatura en microplantas de *Solanum tuberosum* L. Tesis Doctorado en Ciencias. Posgrado en Ciencias Biológicas. UNAM. pp. 142.
- Murali NS and Teramura A.H. 1986. Effectiveness of UV-B radiation on the growth and physiology of field- grown soybean modified by water stress. *Photochem Photobiol.* 44 (2): 215-219.
- Murashige T and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco cultures. *Physiolgia Plantarum.* 15:473- 497
- Musil CF.1995. Differential effects of elevated ultraviolet-B radiation on the photochemical and reproductive performances of dicotyledonous and monocotyledonous arid-environment ephemerals. *Plant, Cell Environment.* 18: 844-854.
- Paul N. 2000. Stratospheric ozone depletion, UV-B radiation and crops disease. *Environ. Pollut.* 108:343-355.
- Panagopoulos I, Bornman F and Björn LO. 1990. Effect of ultraviolet radiation and visible light on growth, fluorescence induction, ultra weak luminescence and peroxidase activity in sugar beat plants. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology* 8: 73-87.
- Pinto M, Lizana C, Pastenes C, Riquelme A and Berti M. 2000. Effect of the ultraviolet-B radiation on growth and photosynthesis of seven varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Revista Chilena Historia Natural.* 73 (1): 55-66.
- Prado FE, Rosa M, Prado C, Podazza G, Interdonato R, González JA and Hilal M. 2012. UV-B Radiattion, Its Effects and Defense Mechanisms in Terrestrial Plants. P. Ahmad and M.N.V. Prasad (eds.), Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change.
- Raja RK, Vara PPV and Singh SK. 2010. UV Radiation in Global Climate Change. 14 Effects of Ultraviolet-B Radiation and Its Interactions with Climate Change Factors on Agricultural Crop Growth and Yield. Springer. 396-436.
- Ravindran KC, Indrajith A, Pratheesh PV, Sanjiviraja K and Balakrishnan. 2010. Effect of ultraviolet-B radiation and biochemical and antioxidant defence

- system in *Indigofera tinctoria* L. seedlings. *Intern. J. Eng. Sci. Technol.* 2:226-232.
- Rao MV, Poliyath G, and Ormrod D. 1996. Ultraviolet and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 110:125-136.
- Reboredo F and Lidon FJC. 2012. UV-B radiation effects on terrestrial plants-A perspective. *Emir. J. Food Agriculture* 24(6):502-509.
- Roman CM y Hurtado G. 2002. Guía Técnica Cultivo de la Papa. CENTA. San Salvador. El Salvador. 36 pp.
- Rubio-Covarrubias OA, Almeyda-Leon IH, Ireta MJ, Sánchez SJA, Fernández SR, Borbón SJT, Díaz HC, Garzón TJA, Rocha RR y Cadena-Hinojosa MA. 2006. Distribución de la punta morada y *Bactericera cockerelli* Sulc. en las principales zonas productoras de papa en México. *Agricultura Técnica en México* 32(2):161-171.
- Rubio-Covarrubias OA, Almeyda-León IH, Cadena-Hinojosa MA y Lobato-Sánchez R. 2011a .Relación entre *Bactericera cockerelli* y la presencia de *Candidatus Liberibacter psyllae* en lotes comerciales de papa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 2(1):17-28.
- Rybus-Zajac M and Kubiś J. 2010. Effect of UV-B Radiation on Antioxidative Enzyme Activity in Cucumber Cotyledons. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica.* 52(2): 97-102. doi:10.2478/v10182-010-0030-8
- Saile-Mark M and Tevini M. 1997. Effects of solar UV-B radiation on growth, flowering and yield of central and southern European Bush vean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Ecology.* 128: 114-125.
- SAGARPA INIFAP. 1997. Programa Nacional de Investigaciones en el cultivo de la papa.
- Santos I, Fidalgo F, Almeida JM, and Salema R. 2004. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science.* 167(4):925-935.

- Scandalios JG. 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 38:995-1014.
- Scotto J, Cotton G, Urbach F, Berger D and Fears T. 1988. Biological effective ultraviolet radiation: surface measurements in the United States, 1974 to 1985. *Science*. 239 (4841): 762–764.
- Scott IM, Dat JF, López-Delgado H and Foyer CH. 1999. Salicylic acid and hydrogen peroxide in abiotic stress signaling in plants. *Plant Physiology*. 39:13-17.
- Secor GA and Rivera-Varas. 2004. Emerging diseases of cultivated potato and their impact on Latin America. *Rev. Latinoam Papa 1 (Suppl.)*, 1-8.
- Sgherri C, Milone MT, Clijsters H and Navari-Izzo F. 2001. Antioxidative enzymes in two wheat cultivars, differently sensitive to drought and subjected to subsymptomatic copper doses. *Journal of Plant Physiology*. 158:1439-1447.
- Sharma P, Ambuj BJh, Rama ShD, and Mohammad P. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions, *Journal of Botany*. Article ID 217037, 26 pages, 2012. doi:10.1155/2012/217037.
- Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y and Yoshimura K. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*. 53(372):1305-1319.
- Singh S, Kumari R, Agrawal M, and Agrawal SB. 2009. Modification of growth and yield responses of *Amaranthus tricolor* L. to s UV-B under varying mineral nutrient supply. *Scientia Horticulturae*. 120:173-180.
- Singh S, Kumari R, Agrawal M, and Agrawal SB. 2011. Growth, yield and tuber quality of *Solanum tuberosum* L. under supplemental ultraviolet-B radiation at different NPK levels. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*. 13(3): 508–16. doi:10.1111/j.1438-8677.2010.00395.
- Sullivan JH and Temura AH. 1990. Field study of the interaction between solar ultraviolet-B radiation and drought on photosynthesis and growth soybean. *Plant Physiol*. 92:141-146.

- Tang K, Zhan JC, Yang HR and Huang WD. 2010. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings. *Journal of Plant Physiology*. 167:95-102.
- Tevini M. UV-effects on plants, in: Singhal GS, Renger G, Sopory KS, Irrgang KD Govindjee (Eds.), *Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis*, Kluwer Academic Publishers, 1999, pp. 588–613.
- UNEP. 2002. Executive Summary. Final of UNEP/WMO Scientific Assessment of Ozone Depletion: Prepared by the Scientific Assessment Panel of the Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer. UNEP, Nairobi.
- Vyšniauskienė R, and Rančelienė V. 2014. Effect of UV-B radiation on growth and antioxidative enzymes activity in Lithuanian potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *Zemdirbyste-Agriculture*. 101(1): 51–56.
- Webb AR .1997. Monitoring changes in UV-B radiation. In: Limsden PJ, ed. *Plants and UV-B: Responses to Environmental Change*. Cambridge University Press. pp. 13–30
- Willekens H, Inze D, Van Montagu M and Van Camp W. 1995. Catalases in plants. *Molecular Breeding* 1: 207-228.
- Wu XC, Fang CX, Chen JY, Wang QS, Chen T and Lin WX. 2011. A proteomic analysis of leaf responses to enhanced ultraviolet-B radiation in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in UV sensitivity. *Journal of Plant Biology*. 54 (4): 251–261
- Xu Ch, Natarajan S and Sullivan JH. 2008. Impact of solar ultraviolet-B radiation on the antioxidant defense system in soybean lines differing in flavonoid contents. *Environmental and Experimental Botany* 63:39-48.
- Yannarelli GG, Noriega GO, Batlle A. and Tomaro ML. 2006. Heme oxygenase up-regulation in ultraviolet-B irradiated soybean plants involves reactive oxygen species. *Planta*, 224 (5): 1154–1162
- Zhao D, Reddy KR, Kakani VG, Read JJ and Sullivan JH. 2003. Growth and physiological responses of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) to elevated

carbon dioxide and ultraviolet-B radiation under controlled environmental conditions. *Plant, Cell and Environment*. 26:771-782.

Zuk-Golaszewska K, Upadhyaya MK and Golaszewski J. 2003. The effect of UV-B radiation on plant growth and development. *Plant, Soil and Environment*. 49(3):135-140.

11 ANEXOS

ANEXO 1.



a) Plantas de *Solanum tuberosum* L. (papa) cultivadas *in vitro*.



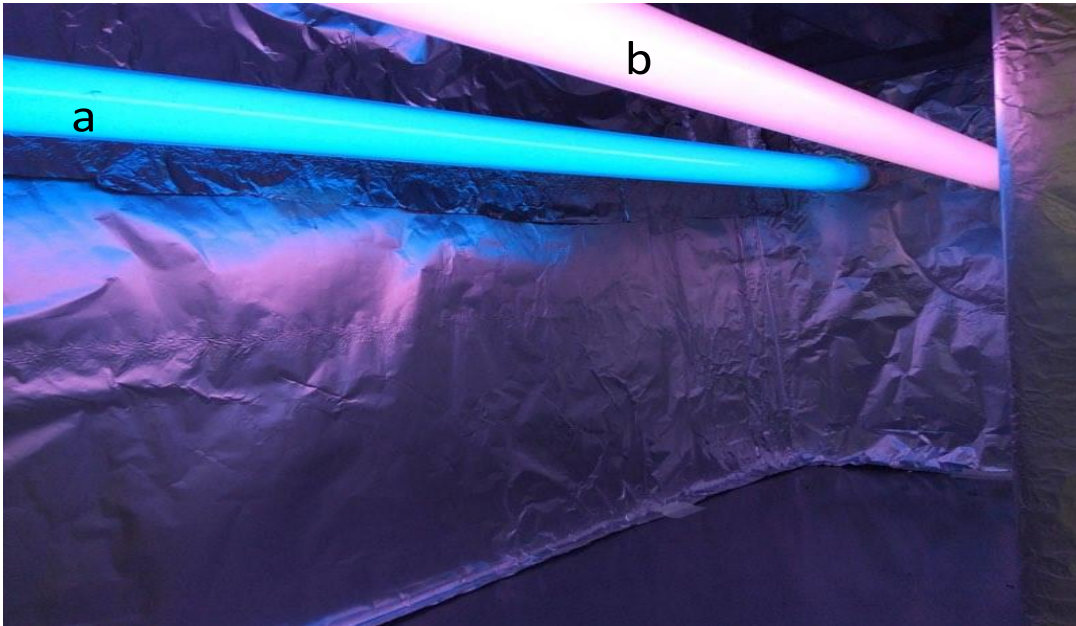
b) Plantas de papa listas para propagarse *in vitro*.

ANEXO 2.

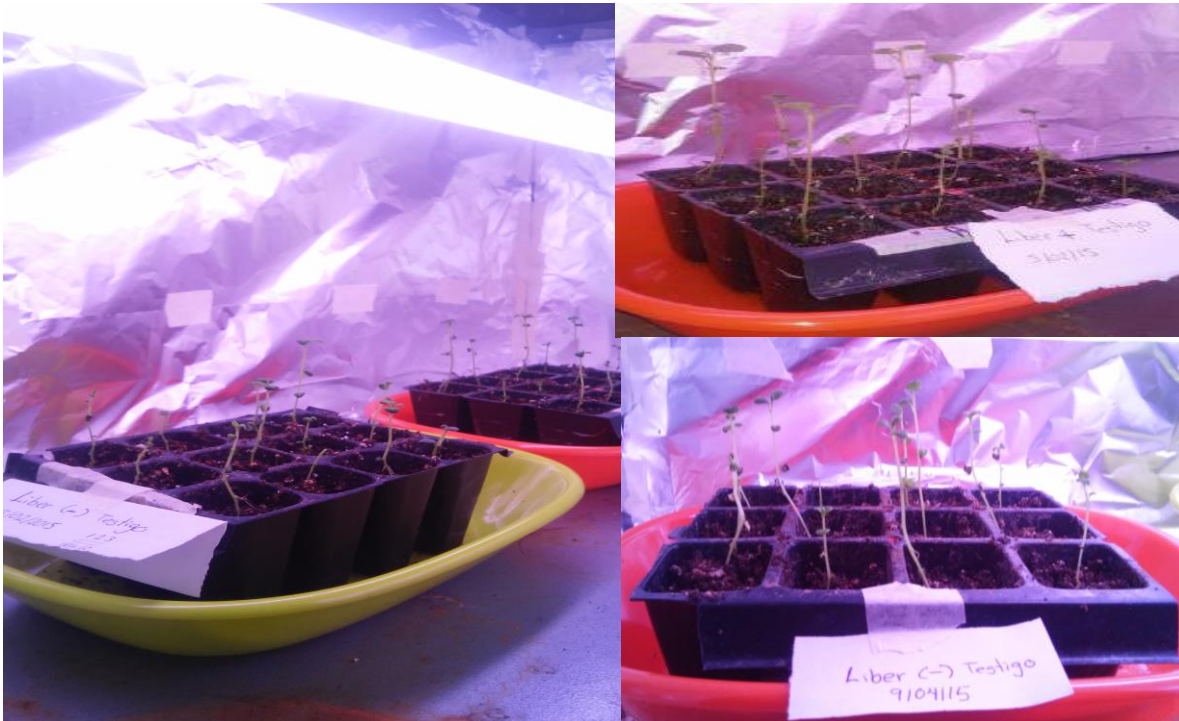


a) Plantas de papa positivas (infectadas) y negativas (sanas) a *Candidatus* Liberibacter, sembradas en almácigos.

ANEXO 3.



a) Cámara de crecimiento y radiación. Lámpara de luz UV-B (a) y lámpara de luz fotosintéticamente activa (b).



b) Plantas dentro de cámara de crecimiento-control, provista solamente con una lámpara de luz fotosintéticamente activa.

ANEXO 4

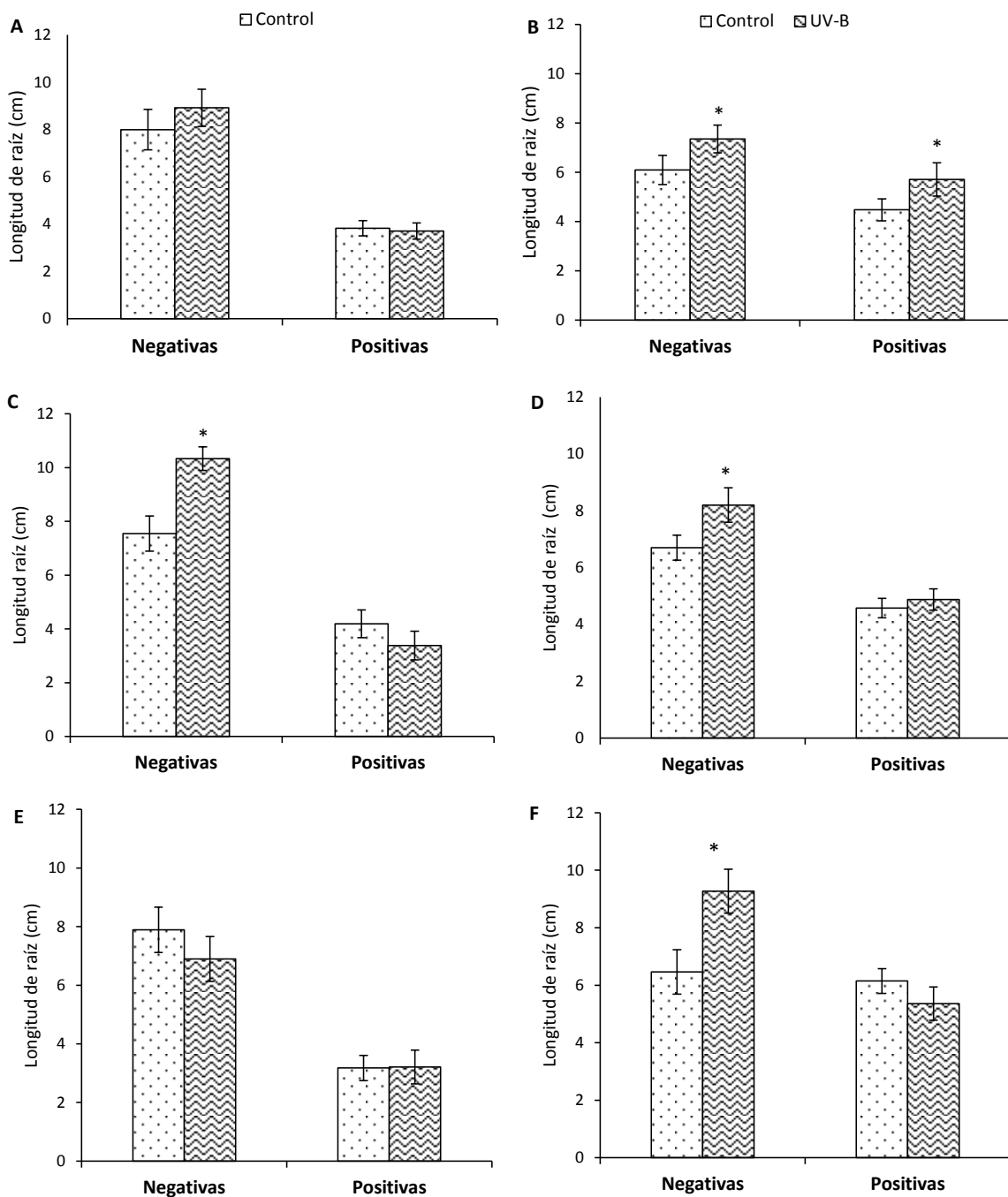


a) Características morfológicas de plantas de papa antes de ser expuestas a radiación UV-B



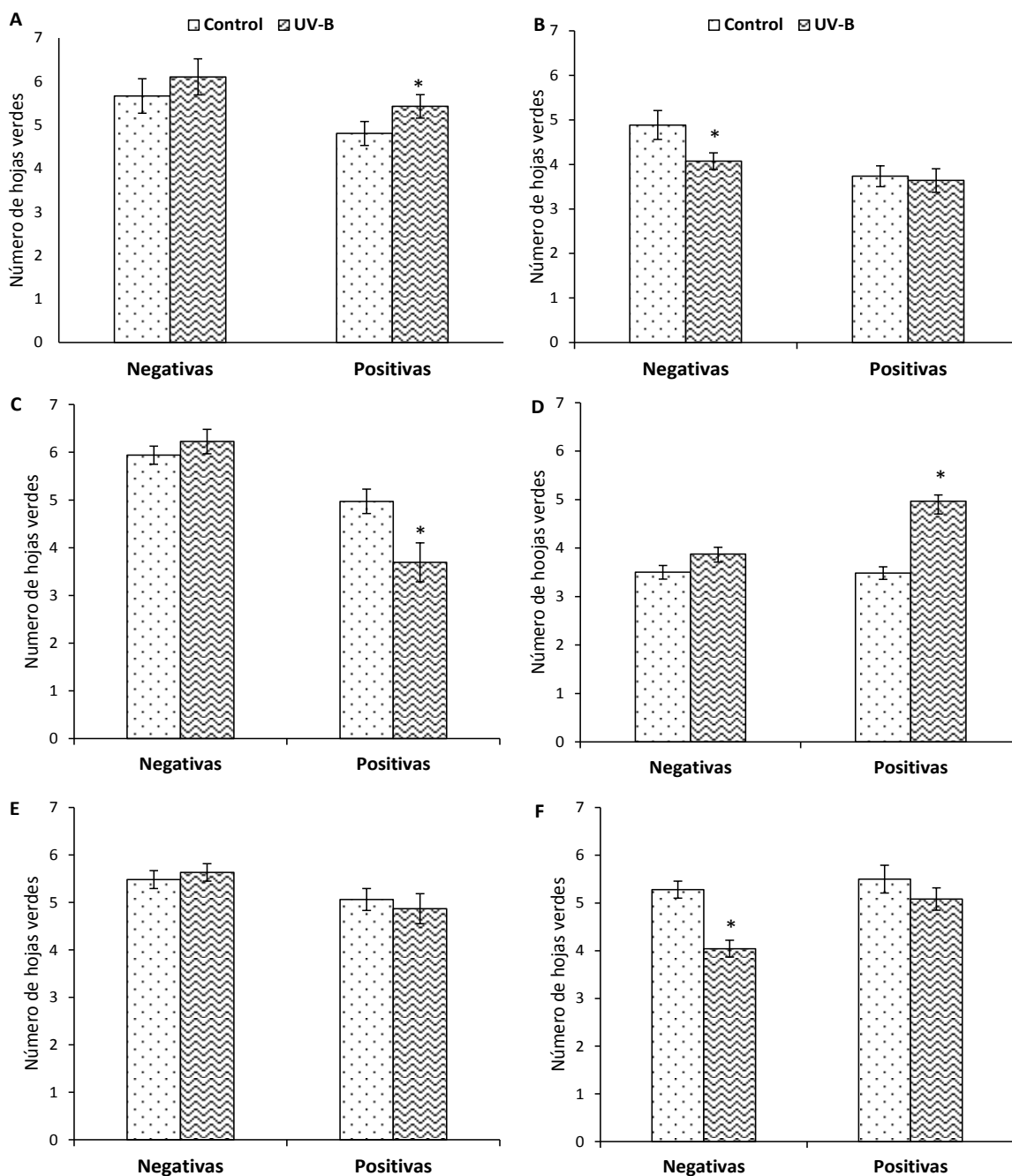
b) Características morfológicas de plantas de papa después de ser expuestas a radiación UV-B Después de tratamiento.

ANEXO 5.



Longitud de la raíz de plantas de papa negativas y positivas a *Candidatus Liberibacter*, después de cada tratamiento. **A**. 4 horas por 8 días, **B** 4 horas 15 días, **C** 6 horas 8 días, **D** 6 horas 15 días, **E** 7 horas 8 días y **F** 5 horas 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas. (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).

ANEXO 6.



Número de hojas verdes de plantas de papa negativas y positivas a *Candidatus Liberibacter*, después de ser expuestas a diferentes tratamientos de radiación UV-B. **A.** 4 horas por 8 días, **B** 4 horas 15 días, **C** 6 horas 8 días, **D** 6 horas 15 días, **E** 7 horas 8 días y **F** 5 horas 15 días. Los resultados son el promedio de 36 plantas. (*) diferencia estadística (t Student, $P < 0.05$).