

La interacción entre *Candidatus Phytoplasma trifolii* y *Liberibacter* modifica la concentración de ácidos grasos en extractos de plantas de Chile

Herrera M.D.^{a*}, García-Araujo E.A.^a, Salas-Muñoz S., Velásquez-Valle R.^a, Reveles-Torres L.R.^a, Mauricio-Castillo J.A.^c

a INIFAP Campo Experimental Zacatecas. Carretera Zacatecas-Fresnillo Km 24.5, Calera de Víctor Rosales, Zacatecas. C.P. 98500.

b CONACYT-INIFAP. Carretera Zacatecas-Fresnillo Km 24.5, Calera de Víctor Rosales, Zacatecas. C.P. 98500.

c Unidad Académica de Agronomía – Universidad Autónoma de Zacatecas. Km 15.5 carretera Zacatecas-Guadalajara, 98170, Cieneguillas, Zacatecas, México.

*herrera.mayra@inifap.gob.mx

RESUMEN:

La presencia de *Candidatus Phytoplasma trifolii* y *Candidatus Liberibacter* en el cultivo de Chile para secado se ha reportado como una seria amenaza en el estado de Zacatecas. Por lo anterior, plantas de Chile tipo Ancho asintomáticas y con presencia de síntomas de la infección por ambos patógenos fueron recolectadas en una parcela comercial en el municipio de Calera, Zacatecas. El DNA total se extrajo utilizando el método de CTAB y se analizó para detectar la presencia de *C. P. trifolii* y *C. Liberibacter* por medio de un ensayo de PCR anidado. Los resultados indicaron la presencia de ambas enfermedades en la mayoría de las plantas analizadas, adicionalmente, las plantas asintomáticas resultaron libres de la infección mixta. Además, se cuantificó la concentración de ácidos grasos a partir de extractos de las hojas y tallos; los resultados mostraron que existe una modificación en la síntesis de estos fitoquímicos. Interesantemente, también se observó diferencias entre el tipo de tejido. El tejido foliar tuvo mayor concentración de ácidos grasos, mientras que en tallos se identificó menor cantidad. En conclusión, la infección mixta entre *C. P. trifolii* y *C. Liberibacter* induce cambios en la concentración de ácidos grasos en plantas de Chile tipo Ancho..

Palabras clave:

Chile, extractos, ácidos grasos, fitopatógenos

ABSTRACT:

The presence of *Candidatus Phytoplasma trifolii* and *Candidatus Liberibacter* has been reported as a serious threat to the pepper crop in Zacatecas. Therefore, asymptomatic and symptomatic pepper plants Ancho type were collected from a commercial field in the municipality of Calera, Zacatecas. Total DNA was extracted using the CTAB-based method and tested for *C. P. trifolii* and *C. Liberibacter* using a nested PCR assay. Results indicated the presence of both diseases in the majority of the analyzed plants, additionally, asymptomatic plants were free of the mixed infection. Additionally, the concentration of fatty acids was quantified from extracts of the leaves and stems; the results showed that there is a modification in the synthesis of these phytochemicals. Interestingly, differences were also observed between the type of tissue. The leaf tissue had a higher concentration of fatty acids, while in stems a smaller amount was identified. In conclusion, the mixed infection between *C. P. trifolii* and *C. Liberibacter* induces changes in the concentration of fatty acids in Ancho type Chile plants..

Key words:

Pepper, extracts, fatty acids, phytopathogens

Área: Frutas y hortalizas

INTRODUCCIÓN

A nivel nacional, el estado de Zacatecas es el líder en producción de Chile para secado con cerca de 38,000 hectáreas trasplantadas cada año, siendo una hortaliza de importancia económica y relevante para el estado. Bajo el contexto anterior, resulta importante mencionar que, a lo largo del proceso de producción, el cultivo se ve afectado por diversos microorganismos que provocan enfermedades y consecuentemente reducen la población de plantas, abaten su potencial productivo y afectan negativamente la calidad y cantidad de Chile para secado. En el norte centro de

México se han reportado en forma fragmentada la presencia de una serie de enfermedades causadas por patógenos fúngicos, bacterianos, nematológicos, virales y recientemente por fitoplasmas (Velásquez-Valle & Amador-Ramírez, 2007); además, las infecciones mixtas de chile con dos o más patógenos son comunes, y frecuentemente las estimaciones de las pérdidas provocadas por enfermedades se reportan involucrando a más de un patógeno (Reveles-Torres et al., 2012); por lo tanto, es probable que nuevas investigaciones revelen la presencia de múltiples agentes patológicos en plantas de chile cultivadas en la región norte centro de México.

Se ha demostrado que la infección por patógenos puede modificar los niveles de algunos compuestos en diferentes tejidos de la planta, ya que exhiben una amplia variedad de síntomas en respuesta al ataque del patógeno, las cuales se manifiestan por modificaciones en la pared celular y la acumulación local de metabolitos (Himeno *et al.*, 2014). Es decir, cuando un factor externo modifica negativamente a un organismo, en este caso microorganismos u otros agentes fitopatógenos como los virus y bacterias, se provocan cambios bioquímicos en la planta, provocando también alteraciones morfológicas, fisiológicas y metabólicas. Herrera *et al.*, (2016) mencionan que la diferenciación bioquímica que existe entre una planta infectada y una sana, ocurre en diferentes niveles de los procesos metabólicos en diferentes tejidos de la planta, tanto a nivel primario y secundario, las cuales se ven modificadas por la incidencia del estrés biótico.

Lo anterior es importante ya que, desde el punto de vista nutracéutico, los extractos de plantas aportan amplios beneficios a la dieta humana. Adicionalmente, se ha encontrado que la incidencia de patógenos modifica el perfil de metabolitos en diferentes tejidos de la planta infectada. Tal es el caso del tejido foliar, radicular, de tallo e inclusive la malformación característica de la infección por fitoplasma (yema grande). En este sentido, Reveles-Torres *et al* (2018) reportaron un incremento en la concentración de fitoquímicos con potencial nutracéutico derivados de la vía de los fenilpropanoides como los fenoles totales, flavonoides, taninos condensados y antocianinas en diferentes tejidos vegetales de plantas de chile tipo Mirasol por efecto de la presencia de fitoplasmas. Los autores mencionaron que *Candidatus* Phytoplasma trifolii induce cambios a nivel metabólico, activando la vía de síntesis de estos compuestos en mayor escala. Este reporte marca un importante sentido en la investigación, ya que generalmente, el producto vegetal que llega al consumidor pudiera o no haber padecido una infección durante su desarrollo en el campo.

En el caso particular de los ácidos grasos, se ha mencionado que estos son productos del metabolismo que juegan un papel importante en el mecanismo de defensa de las plantas (Lim *et al.*, 2017), sin embargo, pocos estudios revelen el efecto de la interacción de dos patógenos sobre su concentración en tejidos vegetales de planta infectadas.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar los cambios en la concentración de ácidos grasos en extractos de plantas de chile tipo Ancho por efecto de la interacción de los patógenos más comunes en la región chilera de Zacatecas, *Candidatus* Phytoplasma trifolii y *Candidatus* Liberibacter.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y preparación de las muestras. En campo se llevó a cabo una detección fenológica de plantas de chile Ancho infectadas por *Candidatus* Phytoplasma trifolii y *Candidatus* Liberibacter, adicionalmente se tomó muestras de plantas asintomáticas y constituyeron el control sano. En el laboratorio se tomó una porción del tejido foliar a partir de las plantas frescas para la evaluación de la presencia de estos patógenos por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) las cuales se almacenaron a -20 °C, mientras que parte del tejido foliar y del tallo se conservaron en nitrógeno líquido, posteriormente se almacenaron a -70 °C. Estos últimos se liofilizaron, molieron y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

Extracción de ADN genómico CTAB 3%. Se trituraron 0.5 gramos de hojas frescas en nitrógeno líquido, y se adicionaron 1000 µl de solución de bromuro de cetil-trimetil-amonio (CTAB). Después de una incubación de 55 °C por 30 min se dejó en hielo durante cinco minutos. Se recuperó la fase acuosa y se transfirió a un tubo limpio donde se le agregó un volumen equivalente de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1 v/v). En seguida se centrifugó la muestra a 13,400 rpm por 10 min. Al sobrenadante se le agregó un volumen equivalente de isopropanol frío, se mezcló por inmersión y se dejó treinta minutos a -20°C. A continuación, se centrifugó a 13,400 rpm durante diez

minutos. Posteriormente se eliminó el sobrenadante y la pastilla se lavó una vez con etanol al 70%. Se dejaron secando las pastillas y finalmente se suspendió con 50 µl de solución TE (Tampón Tris-EDTA).

Detección de *Candidatus Phytoplasma trifolii*. La detección de fitoplasmas se realizó amplificando el gen 16S rRNA. Los oligonucleótidos utilizados para PCR directo fueron P1 5'- AAGAGTTTGGATCCTGGCTCAGGATT - 3' y Tint 5'- TCAGGCGTGTGCTCTAACCAGC -3' (Smart et al., 1996), y para el PCR anidado fueron R16F2n 5'- GAAACGACTGCTAAGACTGG -3' y R16R2 5'- TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG -3' (Gundersen & Lee, 1996). El experimento de PCR directo se realizó en tubos eppendorf con un volumen final de 25 µl, conteniendo para cada reacción: 2.5 µl de buffer 10X, 1.5 µl de MgCl₂ 50 Mm, 2.5 µl de dNTP's 2 Mm, 0.5 µl de cada oligonucleótido, 0.25 µl de Taq polimerasa, 14.25 µl de agua y 2.5 µl de ADN. Para PCR anidado se utilizaron las mismas cantidades que en PCR directo, con excepción de dos componentes que se agregaron a diferente proporción: 16.25 µl de agua y 1 µl del ADN producto del PCR directo. Las PCR se realizaron en un termociclador (Applied Biosystems), bajo las siguientes condiciones: 95 °C por 5 min, 35 ciclos a 94 °C por 1 min, 56 °C por 2 min y 72 °C por 2 min, y ciclo final a 72 °C por 5 min para PR directo. Los productos de la PCR se analizaron por electroforesis en geles de agarosa 1% y teñidos con bromuro de etidio para visualización en iluminación UV. Posteriormente, el análisis del gen rRNA se realizó en secuencias de aislados de fitoplasmas por medio de RFLP simulado con el uso del programa iPhyClassifier website (<https://plantpathology.ba.ars.usda.gov/cgi-bin/resource/iphyclassifier.cgi>).

Detección de *Candidatus Liberibacter*. Para la detección de Liberibacter se utilizó el juego de oligonucleótidos F'OA2 y R'Oic. El ensayo de PCR se realizó conteniendo 1 µl de ADN, 1 µl de buffer 10X, 0.4 de MgCl₂ 50mM, 0.2 µl de nucleótidos trifosfatados (dNTP's), 0.2 µl de Taq DNA polimerasa, 0.2 µl de cada oligonucleótido y 6.8 de agua. Las reacciones de amplificación se realizaron en un Termociclador, donde las condiciones consistieron en una desnaturalización inicial a 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos con temperatura de desnaturalización de 94°C/min, temperatura de hibridación de 60°C/min y temperatura de elongación de 72°C/1.30 minutos. Posteriormente se efectuó un calentamiento de 72°C/min para después mantenerse a temperatura de 15°C. Para la electroforesis se preparó gel de agarosa al 1.2% y se cargaron 7 µl del producto de PCR junto con 2 µl de buffer de carga LB 1X, de marcador se utilizaron 6 µl de 1Kb. El proceso de corrida fue a 80 voltios durante 40 minutos, en una cámara de electroforesis con buffer TAE 1X. Seguido a ello se dejó en bromuro de etidio por cinco minutos. Finalmente, el ADN se visualizó en un transiluminador de luz ultravioleta y se colocó en un fotodocumentador de imágenes para registrar resultados.

Extracción de ácidos grasos a partir de las muestras liofilizadas. La determinación y cuantificación de ácidos grasos de los diferentes tejidos de plantas de Chile Ancho, se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Folch et al., (1957). Primeramente se pesaron 100 mg de muestra liofilizada en un tubo eppendorf y se adicionó 2 mL de solución cloroformo:metanol (2:1 v/v). Después se mezcló por tres minutos. Se centrifugó por 10 minutos a 13,000 rpm y el filtrado fue nombrado extracto crudo, el cual se lavó con 0.2 su volumen de cloruro de potasio al 0.88 % en metanol. Seguido a ello se observó una separación de fases, se retiró y desechó la máxima cantidad posible de la fase superior y posteriormente la fase inferior se lavó con 0.15 volúmenes de solución de solventes puros de fase superior (SPFS), la cual se adicionó dejando caer lentamente por las paredes del tubo y mezclando por inversión lenta; se retiró la fase superior y se repitió el lavado con SPFS dos veces más. Después se aforó al volumen inicial del extracto crudo con solución de cloroformo-metanol (2:1 v/v). Finalmente se dejó la muestra en baño María a 80 C° hasta la completa evaporación del cloroformo.

Metilación de ácidos grasos. La metilación se realizó conforme a lo propuesto por el método 969.33 de la AOAC (2000). Por cada gramo de grasa se adicionaron 3 ml de NaOH con metanol. Se agitó en vortex por un minuto. En seguida se colocó en baño María durante una hora a 80 C°. Concluido ese tiempo, se le agregaron 2 ml de trifluoruro de boro por cada gramo de muestra, se agitó nuevamente en vortex durante un minuto y se colocó en baño María por quince minutos a 80 C°. A continuación, se le añadieron 300 µl de hexano y se agitó por un minuto. El siguiente paso fue centrifugar la muestra a 13,400 rpm durante diez minutos, donde se recuperó el sobrenadante y se repitió dos veces más el proceso a partir de la incubación; los sobrenadantes colectados fueron transferidos a otro tubo y se aforaron a un volumen de 1 ml con hexano. A esta porción se consideró la fracción de los ácidos grasos metil-esterados, la cual se almacenó en congelación a -20 °C para su posterior análisis.

Identificación y cuantificación de ácidos grasos por medio de la cromatografía de gases. La evaluación del perfil de ácidos grasos se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases de la marca Perkin Elmer modelo Clarus 500 con columna capilar Supelcowax™10 (Supelco) de 30 metros de longitud por 0.20 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor y se utilizó helio como gas de acarreo. La identificación de ácidos grasos se realizó en base a las curvas de calibración y el tiempo de retención de estándares individuales de ácidos grasos (Sigma-Aldrich, St Louis, USA) (Tabla 1). La separación de los ácidos grasos de las muestras, así como la detección de los estándares comerciales se realizó mediante la programación de una serie de rampas de temperatura (Pinelli *et al.*, 2012). La temperatura inicial fue de 50 °C y se mantuvo constante durante un minuto, después se incrementó a razón de 10 °C por min hasta llegar a 166 °C. Posteriormente se llevó a cabo un nuevo incremento con una rampa de 1 °C por min hasta alcanzar 174 °C. La siguiente rampa de temperatura fue de 2 °C por min hasta los 194 °C. La última rampa fue con incrementos de 3.5 °C por min hasta llegar a los 215 °C, una vez alcanzada está temperatura se mantuvo constante durante 6 min. El tiempo total de la corrida fue de 30 minutos aproximadamente. Antes de inyectar las muestras, estas se filtraron para tener mayor pureza, se lavó la jeringa de inyección con metanol y/o acetona y se tomó la muestra lavando la jeringa con la misma de dos a tres veces; para correr las muestras, se tomó 5 µl de ácidos grasos metilados y se inyectaron en la columna del cromatógrafo de gases.

Tabla 1. Librería de ácidos grasos

| Nomenclatura IUPAC | Ácido graso | |
|------------------------|--------------------|-----------------------|
| | Número de Carbonos | Nombre común |
| Hexanoico | C6:0 | Ácido Caproico |
| Octanoico | C8:0 | Ácido Caprílico |
| Decanoico | C10:0 | Ácido Cáprico |
| Dodecanoico | C12:0 | Ácido Laurico |
| Tetradecanoico | C14:0 | Ácido Mirístico |
| 9-cis-tetradecanoico | C14:1 | Ácido Miristoleico |
| Hexadecanoico | C16:0 | Ácido Palmítico |
| 9-cis-hexadecenoico | C16:1 | Ácido Palmitoleico |
| Heptadecanoico | C17:0 | Ácido Margárico |
| Octadecanoico | C18:0 | Ácido Estearico |
| 9-cis-octadecenoico | C18:1 | Ácido Oleico |
| Octadecadienoico | C18:2 | Ácido Linoleico |
| Octadecatrienoico | C18:3 | Ácido Linolénico |
| Nonadecanoico | C19:0 | Ácido Nonadecílico |
| 11-trans-octadecenoico | | Ácido trans-vaccenico |
| Isómeros de CLA | | |
| 9,11 octadecadienoico | | CLA cis-9, trans 11 |
| 10,12 octadecadienoico | | CLA trans10, cis 12 |

CLA, ácido linoleico conjugado

Análisis estadístico. Los resultados obtenidos fueron expresados como la media \pm el error estándar (EE). La evaluación estadística de los datos se determinó mediante el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95%. Se realizó la comparación de medias aplicando la prueba de t de Student. Los análisis se realizaron en el paquete estadístico JMP 5.0.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para realizar la técnica molecular de PCR, se utilizaron los oligonucleótidos universales R16R2/R16F2n, los cuales amplifican un fragmento de 1,250 pares de bases correspondientes al gen 16s ADNr. El análisis se hizo con tejido foliar pertenecientes a plantas de Chile Ancho, representando cada carril el estudio de una planta distinta. En la Figura 1 se observan los geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio, en los que se observa la amplificación de la banda del tamaño esperado (1250 pb). Por otro lado, no se observó productos de PCR en las muestras de las plantas asintomáticas. El análisis RFLP simulado por computadora de la secuencia de fitoplasma del clon representativo se obtuvo por medio de la base de datos iPhyClassifier y se confirmó una amplia similitud con los miembros del grupo 16SrVI, con un coeficiente del 0.97.

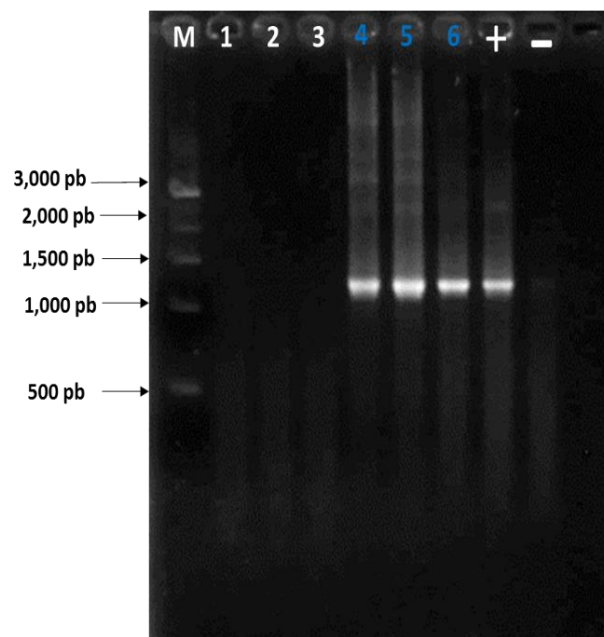


Figura 1. PCR anidada para la detección de fitoplasma en Chile Ancho. Carril M: Marcador de peso molecular 1 kb. Carril 1-3: Negativas a fitoplasmosis. Carril 4-6: Positivas a la enfermedad. Carril (+): Control positivo. Carril (-): Control negativo.

En cuanto a la detección de *Candidatus Liberibacter*, al realizar la técnica molecular de PCR se utilizaron los oligonucleótidos OA2'for y Oic'rev que amplifican un fragmento de 1168 pares de bases 16s rDNA. La Figura 2 muestra la evidencia de que dos plantas fenológicamente consideradas como asintomáticas, estuvieron en realidad libres de la infección del patógeno, mientras que una de las plantas tomadas para conformar el control sano, resultó positiva en el análisis (carril 4), lo pudiera indicar que, en una etapa temprana de la enfermedad, las plantas no manifiestan la sintomatología característica por la infección.

Los esfuerzos que actualmente se realizan para controlar la diseminación de ambos patógenos entre cultivos de interés agrícola se ha limitado a la identificación de su presencia por medio de metodologías moleculares, sin embargo, es necesario ampliar la investigación e incluir el estudio de los cambios bioquímicos, y más aún, investigar el efecto de dichos agentes patológicos sobre la calidad de los alimentos, y entender las rutas metabólicas que se pudieran ver afectadas con la presencia de alguna infección.

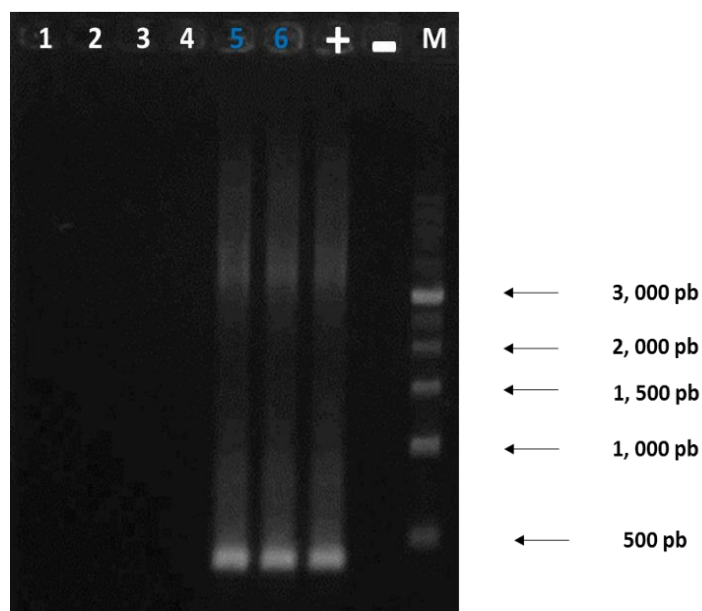


Figura 2. PCR para la detección *Liberibacter* en plantas de Chile Ancho. Carril 1-4: Sin presencia de la enfermedad. Carril 5 y 6: Positivas a *C. liberibacter*. Carril (+): Control positivo. Carril (-): Control negativo. Carril M: Marcador de peso molecular 1 kb.

La concentración de ácidos grasos fue analizada en las plantas que presentaron una infección mixta, por lo que las plantas que resultaron enfermas por fitoplasma y no por *liberibacter*, y viceversa, no se consideraron en este estudio.

En la Tabla 2 se observan los resultados del análisis de ácidos grasos en tejido foliar de Chile Ancho, haciendo una comparación entre el tejido sano con la enfermedad mixta de Fitoplasma/*Liberibacter*. Los resultados indican que se detectaron cuatro ácidos saturados (caproico, cáprico, laurico y mirístico), dos monoinsaturados (miristoleico y palmitoleico) y dos poliinsaturados (linoleico y linolénico). En el caso del ácido cáprico (C10:0) se observó un importante incremento (171%) en las plantas infectadas en comparación con el control sano, seguido del ácido linoleico, con un incremento del 41%. Resulta interesante señalar que el ácido miristoleico, a pesar de que no se cuantificó en las plantas sanas, se encontró en las plantas que mostraron la infección mixta.

En el estudio de la concentración de ácidos grasos en el tallo de las plantas de Chile sanas e infectadas, se observó mayor cantidad de ácidos grasos en las plantas sanas en comparación con las plantas enfermas, sin embargo, en la mayoría de los ácidos grasos encontrados en los extractos de tallo de las plantas enfermas se obtuvo un incremento, siendo únicamente significativo ($P < 0.005$) el incremento encontrado para el ácido mirístico (357%) y palmitoleico (30%) (Tabla 3).

Inesperadamente, no se encontró el ácido oleico en ninguno de los extractos de los dos tejidos, se ha reportado que el ácido oleico está involucrado en la defensa de la planta en plantas como *Arabidopsis*, incrementando la resistencia a bacterias (Lim *et al.*, 2016), sin embargo, en este estudio no se observó dicho efecto.

Tabla 2. Concentración de ácidos grasos (mg/100 g) en extractos de hojas de plantas de Chile.

| Compuesto | TR | Tejido sano | Infección mixta |
|------------------|------|--------------|-----------------|
| Ac. Caproico | 2.76 | | |
| Ac. Cáprico | 3.65 | 18.1 ± 2.6 b | 49.2 ± 3.2 a |
| Ac. Laurico | 3.66 | 1.8 ± 1.8 b | 10.6 ± 0.3 a |
| Ac. Mirístico | 6.32 | 2.9 ± 0.7 a | 1.4 ± 0.2 a |
| Ac. Miristoleico | 6.50 | ND | 49.9 ± 5.9 a |
| Ac. Palmítico | 8.38 | 5.8 ± 0.1 a | 5.8 ± 0.0 a |

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

| | | | |
|------------------|-------|--------------|--------------|
| Ac. Palmitoleico | 9.85 | 13.7 ± 1.2 a | 12.6 ± 1.1 a |
| Ac. Estearico | 10.30 | 14.8 ± 0.2 a | 15.7 ± 0.1 a |
| Ac. Oleico | 13.89 | ND | ND |
| Ac. Linoleico | 15.66 | 23.2 ± 2.9 a | 32.6 ± 3.5 a |
| Ac. Linolénico | 17.36 | 4.7 ± 0.3 a | 2.8 ± 0.1 b |
| CLA- cis 9 | 16.50 | 3.6 ± 0.2 a | 3.1 ± 0.4 a |

Los datos se muestran como la media ± la desviación estándar. Letras diferentes entre renglones indican diferencia significativa ($p < 0.005$) con la prueba de t de Student. TR, tiempo de retención.

Tabla 3. Concentración de ácidos grasos (mg/100 g) en extractos de tallos de plantas de Chile.

| Compuesto | TR | Tejido sano | Infección mixta |
|------------------|-------|--------------|-----------------|
| Ac. Caproico | 2.76 | | |
| Ac. Cáprico | 3.65 | 1.5 ± 0.1 a | 3.6 ± 1.6 a |
| Ac. Laurico | 3.66 | 1.3 ± 0.8 a | 0.3 ± 0.1 a |
| Ac. Mirístico | 6.32 | 1.9 ± 0.1 b | 8.7 ± 0.2 a |
| Ac. Miristoleico | 6.50 | 0.3 ± 0.4 | ND |
| Ac. Palmítico | 8.38 | ND | ND |
| Ac. Palmitoleico | 9.85 | 11.5 ± 0.5 b | 15.0 ± 0.1 a |
| Ac. Estearico | 10.30 | 14.6 ± 0.3 | ND |
| Ac. Oleico | 13.89 | 1.1 ± 0.0 | ND |
| Ac. Linoleico | 15.66 | ND | ND |
| Ac. Linolénico | 17.36 | ND | ND |
| CLA- cis 9 | 16.50 | 2.4 ± 0.3 | ND |

Los datos se muestran como la media ± la desviación estándar. Letras diferentes entre renglones indican diferencia significativa ($p < 0.005$) con la prueba de t de Student. TR, tiempo de retención.

Se ha mencionado que algunos ácidos grasos pueden afectar la acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROs), las cuales son importantes reguladores de una resistencia sistemática adquirida. Estudios *in vitro* han demostrado que los ácidos grasos estimulan a la NADPH oxidasa, que genera superóxido y subsecuentemente se convierte en EROs, lo que sugiere que los ácidos grasos modulan la producción de EROs y por lo tanto, la respuesta de defensa de las plantas (Yaeno *et al.*, 2004).

CONCLUSIÓN

La infección por patógenos afecta la síntesis de ácidos grasos en los tejidos vegetales de las plantas de Chile, lo que está relacionado con su mecanismo de defensa. Es importante notar que la concentración de estos productos es diferente según el tejido analizado, por lo tanto, la calidad de los extractos de plantas de Chile será diferente dependiendo de la condición de la planta (si es una planta asintomática, o infectada) y del tejido de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists (2000). Official methods of analysis. Washington, DC.: AOAC.
- Folch, J., Lees, M. & Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226,497-509.
- Gundersen, D. & Lee, I.-M. (1996). Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia mediterranea*, 35,144-151.

- Herrera, M.D., Velásquez-Valle, R. & Reveles-Torres, L.R. (2016). Cambios en el metabolismo de los fenilpropanoides en plantas de chile tipo Mirasol infectadas por fitoplasma. Folleto Técnico Núm 79. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 33 páginas.
- Himeno, M., Kitazawa, Y., Yoshida, T., Maejima, K., Yamaji, Y., Oshima, K. & Namba, S. 2014. Purple top symptoms are associated with reduction of leaf cell death in phytoplasma-infected plants. *Scientific Reports*. 4: 1-7.
- Lim, G-H, Singhal, R., Kachroo, A & Kachroo, P. (2017). Fatty acid-and lipid-mediated signaling in plant defense. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 505-536.
- Pinelli-Saavedra, A., Martínez-Borraz, A., Moya-Camarena, S.Y., González-Ríos, H. & Hernández, J. (2012). Fatty acid profile and conjugated linoleic acid content of milk from confined Holstein cows during the summer and winter season, En *Milk Production: an up-to-date overview of animal nutrition, management and health*, Editado por N. Chaiyabutr. Londres: INTECH, pp. 103-120.
- Reveles-Torres, LR., Velásquez-Valle, R., Salas-Muños, S., Mauricio-Castillo, JA., Esqueda-Dávila, KCJ. & Herrera MD. (2018). *Candidatus* Phytoplasma trifolii (16SrVI) infection modifies the polyphenols concentration in pepper (*Capsicum annuum*) plant tissues. *Journal of Phytopathology*. In Press.
- Reveles Torres, L. R., Velásquez Valle, R., Mauricio Castillo, J. A., & Salas Muñoz, S. (2012). Detección de infecciones mixtas causadas por begomovirus y curtovirus en plantas de chile para secado en San Luis Potosí, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 30(2), 155-160.
- Velásquez-Valle, R., & Amador-Ramírez, M. D. (2007). Análisis sobre la investigación fitopatológica de chile seco (*Capsicum annuum* L.), realizada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias en los estados de Aguascalientes y Zacatecas, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 25, 80-84.
- Yaeno T, Matsuda O & Iba K. (2004). Role of chloroplast trienoic fatty acids in plant disease defense responses. *The Plant Journal*, 40,931–41.