Estrés oxidativo y contenido de lípidos en frutos de aguacate en respuesta a herida e infección por *Colletotrichum gloeosporioides*

Araceli Arreola Cortés, Elda Castro Mercado, Homero Reyes de la Cruz, Elda María Beltrán Peña, Ernesto García Pineda✉

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edif. B1, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, CP 58040, México

Resumen

En este trabajo se llevó a cabo el análisis de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y del contenido de ácidos grasos en el mesocarpio del fruto de aguacate en respuesta a dos tipo de estrés: herida e infección por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. Se observó una acumulación de anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 30 min después en ambos tratamientos. La enzima superóxido dismutasa (SOD) incrementó su actividad desde los 7 min y alcanzó su máximo a los 30 min después de la herida. Con el análisis isoenzimático se pudieron distinguir 4 isoenzimas para SOD y de acuerdo a su caracterización con inhibidores específicos, tres correspondieron a SOD de CuZn y una a SOD de Mn. También se observó una acumulación de $O_2^{\bullet-}$ y de H_2O_2 en respuesta a la infección por el patógeno. No se observaron cambios en el patrón de isoenzimas para SOD durante la infección. El perfil de ácidos grasos se modificó notablemente en respuesta a ambos tipos de estrés, observándose una disminución en la concentración de la mayoría de los ácidos grasos analizados.

Palabras clave: *aguacate, superóxido dismutasa, herida, patógeno, Colletotrichum gloeosporioides.*

Abstract

In this work, the production of reactive oxygen species (ROS) and their fatty acid content were analyzed in the avocado mesocarp in response to two different stresses: wounding or infection by the avocado fruit pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. Superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2) production were observed 30 min after both treatments. The superoxide dismutase (SOD) enzyme increased its activity at 7 min and reached its maximum 30 min after wounding treatment. Four isoenzymes were distinguished for SOD and by using specific inhibitors for their characterization, three of them corresponded to CuZn SOD and one to MN SOD. Also, $O_2^{\bullet-}$ and H_2O_2 accumulation was observed in response to pathogen infection. No changes were observed in the SOD isoenzyme pattern during infection. The fatty acid profile was modified notably in response to both kinds of stress; we observed a decrease in concentration of most fatty acids analyzed.

Keywords: *avocado, superoxide dismutase, wound, pathogen, Colletotrichum gloeosporioides.*

Introducción

El fruto de aguacate es de gran importancia económica y nutricional, el aceite obtenido del fruto se utiliza en la fabricación de productos cosméticos para el pelo y para mejorar la elasticidad de la piel. Su alto valor nutritivo es importante en la dieta por su alto contenido en ácidos grasos insaturados tales como los ácidos oleico, linoleico y linolénico y baja concentración de ácidos grasos saturados, en comparación con otros aceites vegetales (Landhal *et al.,* 2009). Los frutos se cosechan verdes-maduros (madurez fisiológica) y durante su manipulación, transporte y almacenamiento son susceptibles a heridas o ataque por patógenos postcosecha. Uno de los patógenos más importantes postcosecha de este fruto es *Colletotrichum gloeosporioides* (Beno-Moualem y Prusky, 2000).

Una de las primeras respuestas a la herida y al ataque por patógenos es la producción y acumulación de especies reactivas de oxígeno (ERO), cuales incluyen al anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y al radical hidroxilo ($HO^{\bullet}$). Las ERO tienen un papel importante en la señalización celular y en el establecimiento de respuestas de defensa, donde participan en reacciones bioquímicas tales como el entrecruzamiento oxidativo de proteínas, la formación de polímeros de lignina, la producción de fitoalexinas y la muerte celular programada (Shetty *et al.,* 2008).

La producción de ERO comienza en el espacio extracelular de la membrana plasmática por la reducción de un electrón del oxígeno molecular. La posible fuente principal de producción es el complejo enzimático llamado NADPH oxidasa, el cual está involucrado en la producción de ERO durante la infección de plantas por patógenos o la exposición a factores abióticos, incluyendo daño por herida. Otra fuente de ERO en el apoplasto son las enzimas peroxidasas de la pared celular dependientes del pH (Glyan'k e Ischenko, 2010).

Existe un balance entre la producción de ERO y su remoción por sistemas antioxidantes que incluyen a enzimas tales como la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1). Esta enzima es una de las primeras enzimas de defensa en contra del estrés oxidativo; es una metaloproteína que cataliza la dismutación de los radicales superóxido a peróxido de hidrógeno y oxígeno. Esta enzima ha sido clasificada en las plantas por su localización celular y el metal catalítico que requiere en los siguientes tipos: si contiene cobre-zinc se clasifica como superóxido dismutasa de cobre-zinc

✉ **Autor de correspondencia:** D. C. Ernesto García Pineda. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Edif B1, UMSNH, México. Email: egpineda@umich.mx

(CuZn-SOD). Este tipo de enzima se localiza en el citosol, en el cloroplasto y en el espacio extracelular. Si contiene fierro se clasifica como superóxido dismutasa de fierro (Fe-SOD), ésta se localiza en los cloroplastos, y si contiene manganeso se clasifica como una superóxido dismutasa de manganeso (Mn-SOD) y se localiza en la mitocondria y en los peroxisomas (Alscher *et al.*, 2002).

Por otro lado, los ácidos grasos del aguacate son susceptibles de formar lípidos hidroperóxidos durante el estrés oxidativo, lo cual podría dañar a los lípidos de las membranas celulares y a los principales ácidos grasos de almacén del fruto, como el oleico y el linoleico. Por lo tanto la producción de ERO podría tener efecto sobre la calidad nutritiva del fruto.Se ha reportado la producción de ERO en frutos de aguacate después del daño por herida o inoculación del tejido del pericarpio con *Colletotrichum gloeosporioides* (Beno-Moualem y Prusky, 2000), sin embargo, existe poca información de su efecto sobre la actividad de la enzima SOD y la composición de los ácidos del mesocarpio del fruto.

El objetivo de esta investigación fue analizar el efecto de la herida y de la infección por patógeno (*C. gloeosporioides*) sobre el estrés oxidativo, la actividad de la enzima SOD y la composición de los ácidos grasos del mesocarpio del fruto de aguacate.

Materiales y Métodos

Todos los experimentos fueron realizados con frutos de aguacate (*Persea americana* Mill cv. Hass) en la etapa de madurez fisiológica, obtenidos de mercados locales y usados inmediatamente.

Para los experimentos por herida, los frutos de aguacate fueron cortados en piezas de 0.5 g cada una e incubadas durante diferentes tiempos (0, 0.16, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 h) a temperatura ambiente. Después de la incubación el tejido se congeló en nitrógeno líquido y se almacenó a -80 °C hasta su evaluación.

Para la infección por patógeno, se utilizó un aislado de *C. gloeosporioides* donado por la D.C. Sylvia P. Fernández Pavía del Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich., México, el cual fue obtenido de frutos de aguacate con síntomas de infección. El hongo se mantuvo en incubación a 23 °C en cajas Petri conteniendo agar-dextrosa-papa (PDA). Para la inoculación, frutos de aguacate completos se desinfectaron con etanol al 70% durante 15 min y se lavaron con agua estéril. El patógeno se inoculó sobre el pericarpio del fruto con una suspensión de esporas (1 x 10^6 esporas/ml) y se incubó a temperatura ambiente durante diferentes tiempos (0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48 h) (Beno-Moualem y Prusky, 2000). Como tratamiento control, los frutos de aguacate fueron desinfectados e inoculados con agua estéril.

Ensayo para las especies reactivas de oxígeno.

Para analizar la producción del anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), a 0.5 g de tejido de mesocarpio se le adicionó una concentración final de 0.5 mM de XTT (sal de sodio 3,3′-[1-[fenilamino-carbonil] -3,4-tetrazolium]-bis(4-metoxi-6-nitro) bencilsulfonato; Sigma, St. Louis, MO).

Las muestras fueron incubadas durante 10 min a temperatura ambiente. Después de la incubación se colocó 1 ml del sobrenadante en una celda, obteniendo la absorbencia a 470 nm en un espectrofotómetro (Beckman DU 680, Fullerton, CA, USA). Esta técnica se basa en la formación de compuesto formazán de XTT, el cual solo se genera cuando está presente el $O_2^{\bullet-}$ (Able *et al.*, 1998).

La producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se analizó con una muestra de 0.5 g de tejido del fruto de aguacate, cual se sumergió durante 10 min en 1 ml de agua desionizada. Después de este tiempo se tomó una muestra de 500 µl del sobrenadante y se incubó con 1 ml de una mezcla de reacción que contenía guayacol al 0.05% y peroxidasa de rábano (2,500 U/ml) disueltos en buffer de fosfato de sodio 25 mM, pH 7.0. La mezcla de reacción se incubó durante 15 min en oscuridad a temperatura ambiente, para inmediatamente obtener la aboserbencia a 450 nm, ya que adquiere una coloración café. El cálculo de concentración se realizó en base a una curva estándar realizada con H_2O_2 comercial (Tiedemann, 1997).

Para analizar la posible fuente de ERO se usaron diferentes concentraciones de los compuestos *n*-propil galato, el cual es un inhibidor de peroxidasas, y difeniliodonio (DPI) que a su vez es un inhibidor del complejo enzimático NADPH oxidasa. Para esto, se pesaron 0.5 g de tejido de aguacate y se sumergieron de manera independiente, en una solución con los inhibidores antes mencionados, durante 30 min y después se analizó la producción de H_2O_2, de acuerdo al protocolo descrito anteriormente.

Ensayo para la enzima superóxido dismutasa

La actividad enzimática se analizó de acuerdo a la técnica descrita por Beauchamp y Fridovich (1971). La actividad se determinó por la habilidad de la enzima superóxido dismutasa para inhibir la reducción de nitroazul de tetrazolium (NBT, nitroblue tetrazolium) por el anión superóxido. La mezcla de reacción del ensayo enzimático estuvo compuesta de buffer de fosfato 67 mM, pH 7.8, EDTA 100 mM, riboflavina 120 mM, NBT 1.5 mM y extracto enzimático. La reacción se ilumina durante 10 min con luz fluorescente de 40 watts e inmediatamente obtener la absorbencia a 560 nm.

Ensayo en gel de la actividad superóxido dismutasa

Las proteínas extraídas de tejido de aguacate (100 µg proteína por carril) se separaron durante 3h en un gel nativo (condiciones no desnaturalizantes) de poliacrilamida al 12% (p/v), con una corriente de 50 V y 4 °C. La actividad enzimática se detectó después de la electroforesis, el gel se incubó en una solución compuesta de riboflavina 28 µM, TEMED 28 mM preparados en buffer de KPO_4 32 mM, pH 7.8 durante 30 min en agitación, después se sustituyó la solución por otra que contenía NBT 2 mM preparado en buffer de KPO_4 36 mM y se incubó durante 30 minutos bajo luz fluorescente de 40 watts. La actividad enzimática se observó como bandas acromáticas en el fondo azul intenso del gel (Beauchamps y Fridovich, 1971). El tamaño de las isoenzimas se estimó utilizando un marcador estándar para proteínas nativas (Invitrogen). Además, las diferentes isoenzimas se identificaron con inhibidores específicos, KCN inhibe las enzimas que contienen Fe y Cu, y el H_2O_2 inhibe las que contienen CuZn (Alscher *et al.,* 2002). Para el ensayo con los

inhibidores, después de la separación de las proteínas, los geles fueron incubados con los diferentes inhibidores durante 30 minutos a temperatura ambiente y después se reveló la actividad como se describió anteriormente.

Análisis del contenido de lípidos

La extracción de lípidos se realizó de acuerdo a lo establecido por Ortiz *et al.* (2003). El fruto de aguacate fue previamente lavado con detergente y agua, se retiró manualmente la cáscara y la semilla; la pulpa (300 g) se distribuyó en un recipiente para microondas en una capa uniforme de ~5 mm de espesor. La muestra se colocó en el microondas y se le dio un pulso de 3 minutos a la máxima potencia, la muestra así tratada se removió del microondas y los lípidos se extrajeron por presión manual del tejido a través de una malla de gasa.

Los ácidos grasos fueron preparados para su análisis por transesterificación con trifloruro de boro (BF3) al 15 % disuelto en metanol (Takenega *et al.,* 2008).

El contenido y la identificación de los ácidos grasos se analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Agilent 6850 Series II; Agilent, Foster City, CA, U.S.A.) con un detector de ionización de flama y una columna HP-5MS, usando un programa de temperatura inicial de 150 °C por 3 minutos con un gradiente de 5 °C/min a 270 °C. El gas acarreador utilizado fue helio ultrapuro (1 ml/min). Los ácidos grasos fueron identificados por comparación con los espectros de masa de la librería NIST/EPA/NIH, ChemStationAgilent Technologies Rev. D.04.00 2002.

Análisis Experimental

Todos los experimentos fueron realizados al menos tres veces utilizando cinco muestras en cada experimento. Las datos se expresan como media y desviación estándar.

Resultados

Producción de especies reactivas de oxígeno en respuesta al daño por herida

El estrés por herida en el mesocarpio del fruto indujo un incremento en la producción del anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Su cinética de producción mostró una producción incrementada notablemente 15 minutos después de la herida. Después de este tiempo, los niveles de anión superóxido bajaron hasta alcanzar el valor observado a las 0 h de tratamiento (**fig. 1**A).En la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), se observó un incremento aproximadamente 7 minutos después de la herida en relación con el tratamiento a 0 h y posteriormente decreció (**fig. 1**B).

Para analizar la posible fuente de producción de ERO se utilizaron los inhibidores DPI y *n*-propil galato. Cuando se realizó el tratamiento con el DPI, se observó una disminución notable en la acumulación de H_2O_2, no así cuando el ensayo se realizó con el *n*-propil galato (**fig. 2**), este resultado sugiere que el complejo enzimático NADPH oxidasa participa en la producción de ERO durante la herida en el mesocarpio del fruto de aguacate.

Por otro lado, se observó un incremento en actividad de la enzima SOD a los 15 y 30 minutos después del tratamiento por

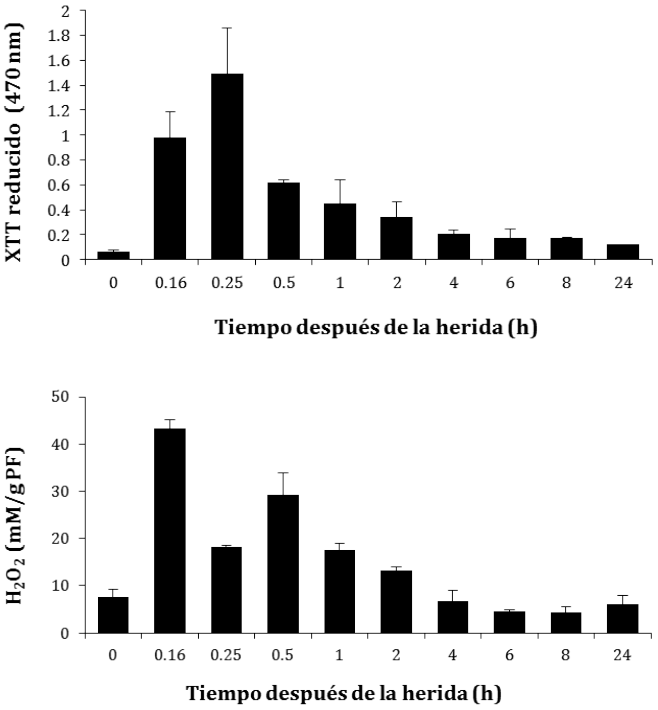

Figura 1. Cinética de acumulación de especies reactivas de oxígeno después de la herida en mesocarpio de fruto de aguacate. (**A**) Anión superóxido. (**B**) Peróxido de hidrógeno.

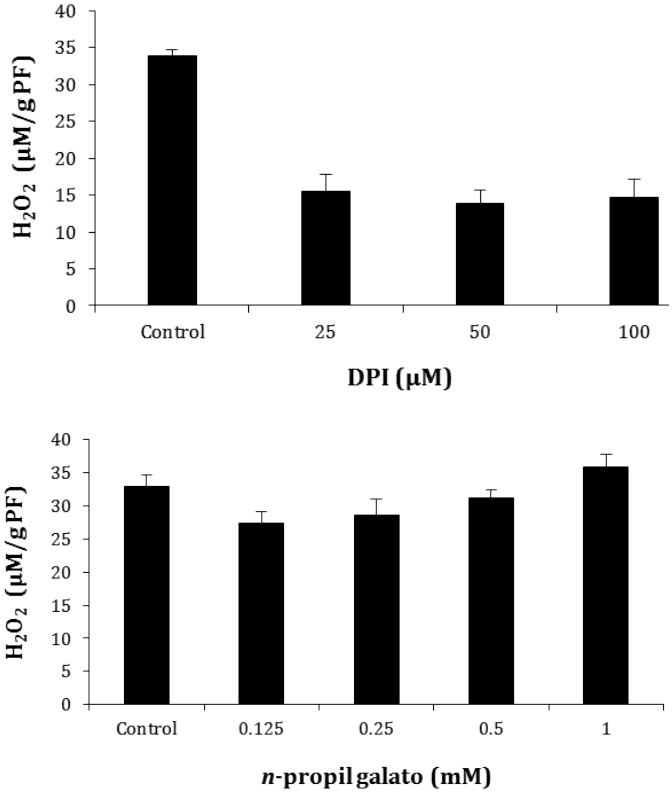

Figura 2. Caracterización de la fuente de producción de especies reactivas de oxígeno. El tejido de mesocarpio fue sometido previamente a tratamiento por herida durante 30 min. A. Inhibidor de la enzima NADPH oxidasa. B. Inhibidor de la enzima peroxidasa.

herida. Una hora después del tratamiento, su actividad disminuyó al nivel del control y a las 2 y 4 h se observó un ligero incremento en relación al control (**fig. 3**).

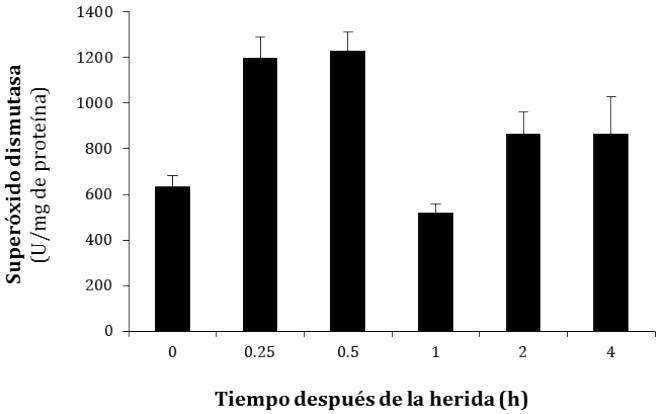

Figura 3. Actividad total de la enzima superóxido dismutasa en respuesta al tratamiento por herida.

El análisis isoenzimático para SOD reveló al menos cuatro bandas de actividad bien definidas, y de acuerdo a su tamaño y orden de migración en el gel nativo se nombraron: SOD1, SOD2, SOD3 y SOD4. Las cuatro bandas de actividad fueron observadas durante todo el tiempo de experimentación, pero la SOD2 mostró una banda de actividad más intensa (**fig. 4**A). La caracterización del tipo de isoenzima utilizando los inhibidores específicos para cada isoforma permitió distinguir que las SOD1, SOD3 y SOD4 probablemente corresponden a SOD que contienen CuZn en su estructura molecular y SOD2 corresponde a una SOD que contiene Mn (**fig. 4**B), debida a que no fue inhibida por ninguno de los compuestos inhibidores y ésta es una característica ya conocida para este tipo de isoforma.

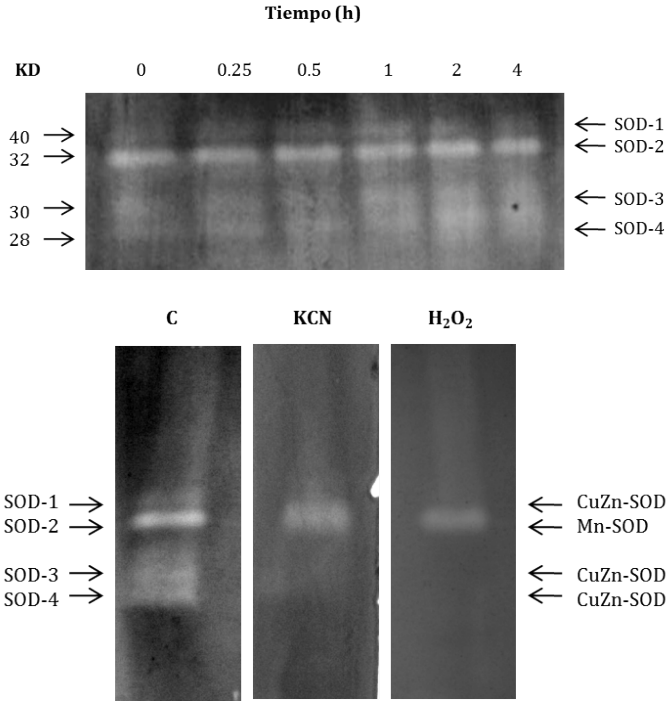

Figura 4. Caracterización isoenzimática de superóxido dismutasas en tejido de mesocarpio en respuesta a la herida. (**A**) Análisis isoenzimático en respuesta a la herida. (**B**) Identificación del tipo de enzima utilizando inhibidores específicos.

Producción de especies reactivas de oxígeno durante la infección con C. gloeosporioides

Se analizó la producción de ERO en respuesta a la infección en el tejido de mesocarpio del fruto de aguacate. Se observó un incremento en la acumulación de $O_2^{\bullet-}$ 1h después de la inoculación con esporas del patógeno y este incremento se mantuvo hasta las 48 h, en relación con los controles sin inocular (**fig. 5**A). El análisis de H_2O_2 mostró una cinética de acumulación de dos fases, la primera fase se observó entre las 2 y las 3 h después de la inoculación y la segunda fase entre las 12 y las 48 h después de la inoculación (**fig. 5**B).

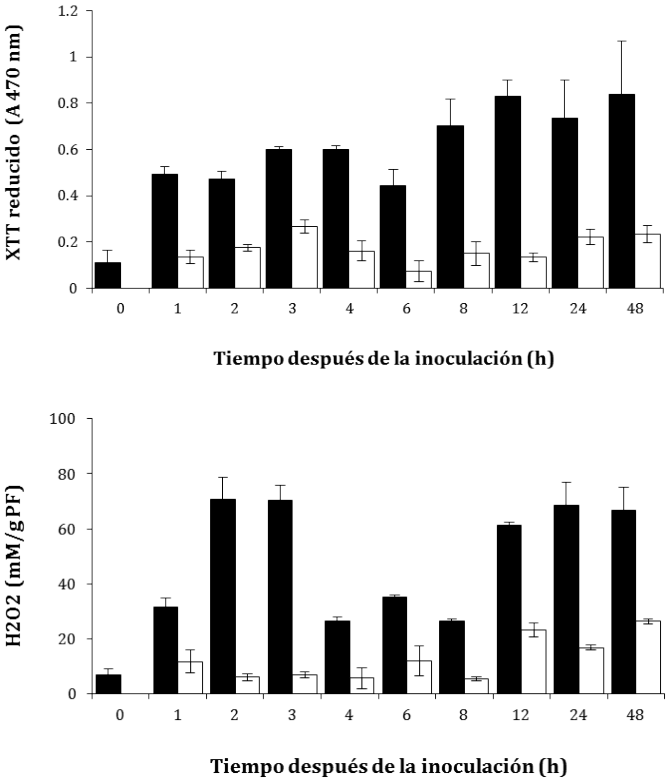

Figura 5. Cinética de producción de especies reactivas de oxígeno en mesocarpio en respuesta a la infección por *Colletotrichum gloeosporioides* **(1x10^6 esporas/ml).** (**A**) Anión superóxido. (**B**) Peróxido de hidrógeno. Barra negras, frutos inoculados; Barras blancas, controles inoculados con agua destilada estéril.

Análisis isoenzimático en tejido inoculado con C. gloeosporioides

Este análisis mostró el mismo patrón isoenzimático que en el tratamiento por herida, es decir, en el tratamiento por infección se observaron las 4 isoenzimas para SOD, pero a diferencia de la herida se observó una disminución de actividad en las 4 isoenzimas cuando se incrementó el tiempo de tratamiento (**fig. 6**).

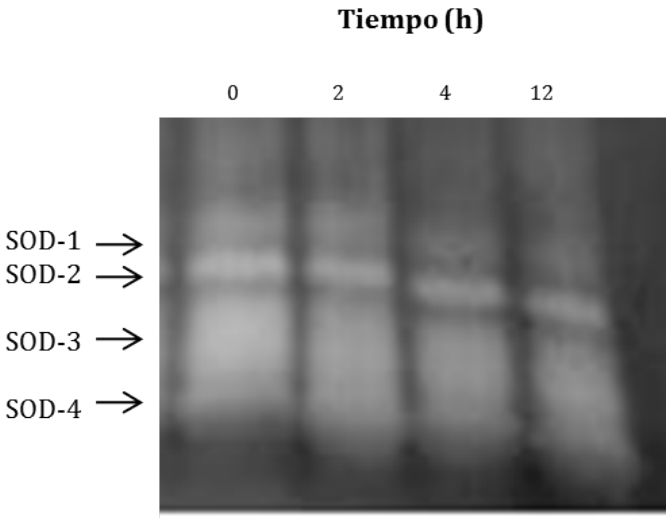

Figura 6. Análisis isoenzimático de superóxido dismutasas en tejido de mesocarpio en respuesta a la infección con *Colletotrichum gloeosporioides* (1x10^6 esporas/ml).

Contenido de lípidos en respuesta a herida o infección por patógeno

La herida modificó notablemente el contenido de ácidos grasos 15 min después del tratamiento, el mismo efecto se observó para la infección por patógeno pero 3h y 12h después del tratamiento. Los ácidos grasos que mostraron una disminución drástica en su acumulación después de la herida o la infección, fueron los ácidos palmitoleico, palmítico, oleico y linoleico. En contraste, se indujo la acumulación de los ácidos grasos esteárico y gadoleico en respuesta a ambos tratamientos (**Tabla 1**).

Discusión

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la herida estimuló la producción de ERO en el mesocarpio del fruto de aguacate, identificando que la posible fuente de producción es el complejo enzimático NADPH oxidasa, de acuerdo al efecto determinado con el uso de inhibidores de las posibles fuentes de producción. Se ha reportado que la NADPH oxidasa es la fuente más importante de producción de ERO durante la explosión oxidativa en plantas. Esta enzima se localiza en la membrana plasmática y reduce el O_2 molecular utilizando el NADPH para formar $O_2^{\bullet-}$. Éste es utilizado como el compuesto inicial para la síntesis de otras especies reactivas de oxígeno como el H_2O_2, el $ONOO^-$ (peroxinitrito), el $OH^\bullet$ (radical hidroxilo), entre otros. Las ERO formadas a través de este mecanismo protegen a la planta en contra de patógenos activando una reacción hipersensible, la resistencia sistémica adquirida y el reforzamiento de la pared celular, formando una barrera mecánica para evitar la invasión del tejido (Glyan'ko e Ischenko, 2010).

El incremento observado en la actividad de la enzima SOD pudiera tener un papel dual durante la aplicación de los dos tratamientos: por un lado es un mecanismo enzimático importante para proteger al tejido en contra del estrés oxidativo metabolizando el $O_2^{\bullet-}$, el cual es una molécula altamente oxidante; por otro lado puede contribuir a la producción de H_2O_2 el cual se utiliza por otras enzimas, como las peroxidasas, para sintetizar compuestos que refuerzan las barreras físicas, como la lignina (Vanholme *et al.,* 2010).

Por otra parte, se ha reportado que la explosión oxidativa es una de las primeras respuestas al ataque por patógenos en plantas (Apel y Hirt, 2004). En este trabajo se observó una producción de H_2O_2 en dos fases, en respuesta a la inoculación con el patógeno. En contraste, en el pericarpio de aguacate inoculado con *C. gloeosporioides*, se observó una sola producción de H_2O_2 2 h después del tratamiento (Beno-Moualem y Prusky, 2000). Se ha reportado que patógenos avirulentos inducen una acumulación bifásica de ERO con una primera fase corta y transitoria, seguida por una fase continua de mayor intensidad que correlaciona con la resistencia a la enfermedad (Lamb y Dixon, 1997; Torres *et al.,* 2006). El H_2O_2 está implicado en muchos procesos durante las interacciones de patógenos con las plantas, en las fases iniciales de dicha interacción, está involucrado en las reacciones de defensa, posiblemente participando en rutas de señalización para activar mecanismos, tales como la expresión de genes de defensa que codifican para proteínas relacionadas a patogénesis (PR), enzimas involucradas en la síntesis de fitoalexinas y lignificación, entre otras (Alvarez *et al.*, 1998; Apel y Hirt, 2004).

Colletotrichum gloeosporioides

Pertenece al grupo de patógenos conocidos como hemibiotróficos, estos patógenos son un grupo diverso de organismos con una fase inicial biotrófica cuando se establece la infección, seguida por una fase necrotrófica que es cuando el patógeno completa su ciclo

Tabla 1. Composición de ácidos grasos en fruto de aguacate en respuesta al tratamiento por herida o inoculación con *Colletotrichum gloeosporioides* (µg/g PF)*.

Acido graso		0 h	Herida	*C. gloeosporioides*	
			0.25 h	3 h	12 h
Palmitoleico	16:1	939.29 ± 101.41	21.21 ± 1.41	31.18 ± 2.72	28.45 ± 5.75
Palmítico	16:0	1893.83 ± 127.25	50.82 ± 13.45	70.68 ± 6.67	70.86 ± 9.26
Oleico	18:1	3385.60 ± 282.69	197.15 ± 62.74	157.24 ± 140.27	270.21 ± 20.75
Linoleico	18:2	731.23 ± 92.26	18.54 ± 20.00	ND	ND
Esteárico	18:0	ND	2.41 ± 0.93	3.61 ± 0.48	3.20 ± 0.65
Gadoleico	20:1	ND	1.63 ± 0.05	1.74 ± 0.18	1.27 ± 0.29

*Los valores representan la media de tres experimentos independientes ± la desviación estándar. ND = No detectado.

de vida (Oliver e Ipcho, 2004). Se ha establecido una correlación entre el crecimiento del patógeno en los estados tardíos de su ciclo de vida y la acumulación de grandes cantidades de H_2O_2 durante este tipo de interacción. La habilidad para colonizar y proliferar en un medio ambiente con altas concentraciones de ERO muestran que los patógenos tienen sistemas eficientes que los capacitan para protegerse en contra de un medio ambiente adverso durante la patogénesis. De acuerdo con esto, Goodwin *et al.* (2001) clonaron un gen de catalasa de *C. gloeosporioides* f. sp. *malvae*, sugiriendo que este tipo de genes se activan durante la fase necrotrófica de crecimiento, para protegerlo de los efectos tóxicos del H_2O_2.

Finalmente, también se observaron cambios en la composición de lípidos en respuesta a los tratamientos por herida e infección por patógeno. Algunos de los lípidos analizados forman parte importante de la composición de la membrana plasmática. Los lípidos de la membrana no solo funcionan como barreras pasivas hidrofóbicas para la separación del contenido celular del medio externo, sino que juegan un papel importante y activo en algunos procesos celulares. En las plantas estos procesos incluyen el anclaje de proteínas de membrana (Morita *et al.,* 1996), mediación en las cascadas de señalización celular (Munnik*et al.,* 1998) y activación de enzimas ubicadas en o cerca de la membrana (Munnik*et al.,* 1998). Específicamente, los ácidos grasos durante el estrés parecen contribuir a la liberación de ácido linoleico, el cual funciona como un modulador de la expresión de genes de defensa (Upchurch, 2008). La liberación de ácidos grasos de las membranas y su metabolismo para participar en cascadas de transducción de señales que conduce a la activación de respuestas de defensa es realizada por enzimas llamadas fosfolipasas (FL). Por ejemplo, la producción de ácido jasmónico en tejido vegetal herido procede del metabolismo del ácido linolénico, el cual se considera que se libera de los lípidos de la membrana por la acción de una enzima FL del tipo A (Creelman y Mullet, 1997). Otras evidencias indican que los tres tipos de FL que se conocen (FLA, FLC y FLD) están involucradas en la percepción de patógenos por las células vegetales, si bien no se conoce con detalle cómo se coordina el proceso (Low y Schoeder, 1997).

Conclusión

En fruto de aguacate, la herida y la infección por patógeno estimulan la producción de especies reactivas de oxígeno, disminuyen la actividad de la enzima superóxido dismutasa y modifican el perfil de ácidos grasos, resaltando la disminución de ácidos grasos normalmente presentes en grandes cantidades como el oleico y el palmítico.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH por el apoyo financiero otorgado para la realización de este proyecto de investigación.

Referencias

Able AJ, Guest DI, Sutherland MW (1998) Use of a new tetrazolium-based assay to study the production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenges with avirulent zoospores of *Phytophthora parasitica* var. nicotianae. *Plant Physiol.* 117:491-499.

Alscher RG, Erturk N, Heat LS (2002) Role of superoxide dismutase (SOD) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53:1331-1341.

Alvarez ME, Pennell RI, Meijer P-J, Ishikawa A, Dixon R, Lamb C (1998) Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. *Cell* 92:773-784.

Apel K, Hirt H (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:373-399

Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44:276-287.

Beno-Moualem D, Prusky D (2000) Early events during quiescent infection development by Colletotrichum gloeosporioides in unripe avocado fruits. *Phytopathol.* 90:553-559.

Creelman RA, Mullet JE (1997) Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:335-381

Glyan'ko AK, Ischenko AA (2008) Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *J. Plant Biol.* 51:167-173.

Glyan'ko AK, Ischenko AA (2010) Structural and functional characteristics of plant NADPH oxidase: A Review. *Appl. Biochem. Microbiol.* 46:463-471.

Goodwin PH, Li J, Jin S (2001) A catalase gene of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. malvae is highly expressed during the necrotrophic phase of infection of round-leaved mallow, Malvapusilla. *FEMS Microbiol. Lett.* 202:103-107.

Lamb C, Dixon RA (1997) The oxidative burst in plant disease resistance. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:251-275

Landhal S, Meyer MD, Terry LA (2009) Spatial and temporal analysis of textural and biochemical changes of imported avocado cv. *Hass during fruit ripening. J. Agric. Food Chem.* 57:7039-7047.

Low PS, Schoeder AT (1997) Signal transduction pathways of the plant oxidative burst. In Stacey G, Keen NT (eds.), *Plant-Microbe Interactions* (Vol. 3, pp. 35-52), New York: Chapman and Hall.

Morita N, Nakazato H, Okuyama H, Kim Y, Thompson GA (1996) Evidence for a glycosyl phosphotidylinositol-anchored alkaline phosphatase in the aquatic plant Spirodella oligorrhiza. *Biochim. Biophys. Acta* 1290:53-62.

Munnik T, Irvine RF, Musgrave A (1998) Phospholipid signaling in plants. *Biochim. Biophys. Acta* 1389:222-272.

Oliver RP, Ipcho SVS (2004) Arabidopsis pathology breathes new life into the necrotrophs-vs.-biotrophs classification of fungal pathogens. *Mol. PlantPathol.* 4:347-352.

Ortiz Moreno A, Dorantes L, Galindez J, Guzman RI (2003) Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (Persea americana Mill.) *oil. J. Agric. Food Chem.* 51: 2216-2221.

Shetty NP, Jorgensen HJL, Jensen JD, CollingeDB, Shetty HS (2008) Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens. *Eur. J. Plant Pathol.*121:267-280.

Takenaga F, Matsuyama K, Abe S, Trrii Y, Itoh S (2008) Lipid and fatty acid composition of mesocarp and seed of avocado fruits harvest at northern range in Japan. *J. Oleo Sci.* 57:591-597.

Tiedemann AV (1997) Evidence for a primary role of active oxygen species in induction of host cell death during infection of bean

leaves with Botrytis cinerea. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 50:151-166.

Torres MA, Jones JDG, Dangl JL (2006) Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiol.* 141:373-378.

Upchurch RG (2008) Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnol. Lett.* 30:967-977.

Vanholme R, Demedts B, Morreel K, Ralph J, Boerjan W (2010) Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiol.* 153:895-905.