

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS



**CARACTERIZACIÓN DEL PAPEL DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA EN
RESPUESTA AL ESTRÉS EN PLÁNTULAS DE MEZQUITE (*Prosopis
glandulosa*)**

TESIS

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

Presenta

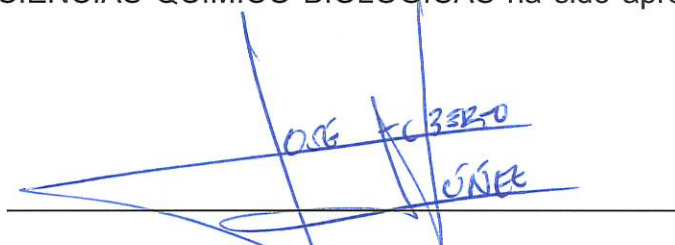
CARLOS MONTEJO DÁVILA

Cd. Juárez, Chih., México

Noviembre, 2024

APROBACIÓN DE LA TESIS

Identificación del papel de la glutatión peroxidasa en respuesta al estrés en germinados de mezquite (*Prosopis glandulosa*), reporte de investigación preparado por Carlos Montejo Dávila como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS QUIMICO BIOLÓGICAS ha sido aprobado y aceptado por:



Dr. José Alberto Núñez Gastelum
DIRECTOR DE TESIS




Dr. Ángel Gabriel Díaz Sánchez
DIRECTOR DE TESIS



Dr. José Alberto López Díaz
ASESOR



Dra. Coyolxauhqui Figueroa Batalla
ASESOR



Dr. Joaquín Rodrigo García
ASESOR

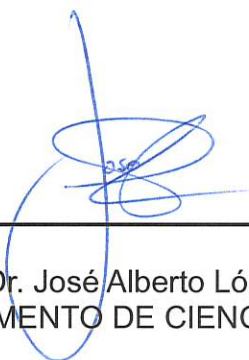
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

**IDENTIFICACIÓN DEL PAPEL DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA EN
RESPUESTA AL ESTRÉS EN GERMINADOS DE MEZQUITE (*PROSOPIS
GLANDULOSA*)**

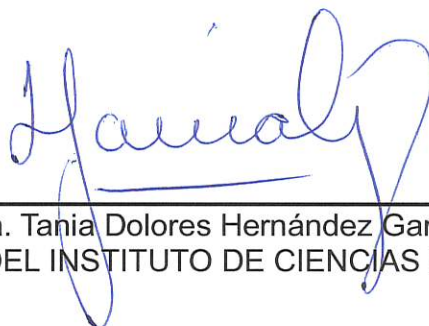
Se permite el uso académico de información contenida en esta tesis, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al autor. Para la reproducción parcial o total de este documento con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de las autoridades que avalan esta tesis.



Dr. Jonatan Torres Pérez
COORDINADOR DE MAESTRÍA EN CIENCIAS QUIMICO BIOLÓGICAS



Dr. José Alberto López Díaz
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS



Mtra. Tania Dolores Hernández García
DIRECTORA DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMEDICAS

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a todas las personas que estuvieron presentes en mi vida durante el transcurso de mi formación académica, brindándome su apoyo en los diversos aspectos de mi desarrollo, tanto a nivel familiar, social como educacional. Cada contribución me ayudó a superar los retos y avanzar en este camino de posgrado.

Quiero comenzar agradeciendo a mis padres, quienes han sido mi principal apoyo desde el inicio de mi carrera. Su respaldo incondicional fue esencial en los momentos más difíciles, ya sea al ayudarme a resolver problemas materiales o al ofrecer soluciones a las dificultades logísticas del día a día. Gracias a ellos, pude concentrarme en mis estudios con tranquilidad.

En el ámbito social, quiero expresar mi gratitud a aquellos compañeros que compartieron el laboratorio conmigo, y que, de una forma u otra, contribuyeron a mi crecimiento personal y académico. A mis compañeros de generación, Grethel Dánae, Pamela Martínez y Raymundo, les agradezco profundamente por su compañía, por las conversaciones que tuvimos y por haber creado un ambiente de respeto y cordialidad, incluso con nuestras diferencias. Su presencia hizo de este trayecto una experiencia mucho más enriquecedora y agradable.

Agradezco también a Manuel Terrazas, Ángel Homero, Jessica Guadalupe, y a los estudiantes de biotecnología Christian y Alán Leonid, por su apoyo técnico, teórico y por hacer del laboratorio un lugar único de aprendizaje. Su ayuda y perspectivas contribuyeron enormemente a mi crecimiento en esta etapa.

A nivel educativo, extiendo mi más sincero agradecimiento a mis asesores de posgrado, el Dr. Ángel Gabriel Díaz y el Dr. José Alberto Núñez Gastélum, por brindarme el espacio y la oportunidad de desarrollar mi proyecto en sus laboratorios, así como por su guía teórica desde los primeros pasos hasta los momentos finales de esta investigación.

Por último, agradezco en general a todos por formar parte de este momento de mi vida como fragmentos que de cierta manera ahora forman parte de mí.

RESUMEN

Este estudio investigó el papel de la enzima glutatión peroxidasa (GPX) en la respuesta al estrés de plántulas de mezquite (*Prosopis glandulosa*), explorando su potencial contribución a la resistencia homeostática vegetal y a la resistencia sistémica adquirida (SAR). Para evaluar el impacto de la actividad de la GPX bajo condiciones de estrés hídrico-lumínico (H-L) y exposición a quitosano (EQ), un elicitor relacionado con respuestas de defensa frente a hongos fitopatogénicos e insectos herbívoros. El estudio incluyó tres grupos: un grupo control sin tratamiento, uno expuesto a estrés H-L y otro tratado con EQ. Se evaluó la actividad de la GPX y su potencial relación con SAR monitoreada mediante la cuantificación de fenoles, la densitometría de proteínas, el análisis de actividad enzimática y mediciones morfológicas que incluyeron el crecimiento y endurecimiento de los tejidos de los germinados. Los resultados mostraron que el tratamiento EQ promovió una mayor actividad de la GPX y un aumento significativo en la acumulación de fenoles libres, lo que sugiere un papel adaptativo de esta enzima en la defensa contra agentes de estrés. En contraste, el grupo H-L presentó un aumento en las proteínas totales y una reducción de fenoles libres, indicando un proceso de adaptación más gradual. Adicionalmente, se observó un endurecimiento de tejidos y una mejora en el desarrollo de los germinados, posiblemente vinculados con la actividad de GPX y su contribución a los procesos de resistencia homeostática. En conclusión, la GPX de *P. glandulosa* se identifica como un mediador clave en la adaptación al estrés y el crecimiento de la planta en condiciones adversas, destacando su papel en la defensa y el mantenimiento de la resistencia homeostática vegetal.

CONTENIDO

APROBACIÓN DE LA TESIS	i
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	iv
INDICE DE FIGURAS	viii
INDICE DE TABLAS	x
ABREVIATURAS ACRONIMOS Y UNIDADES	xi
GLOSARIO	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Resistencia homeostática vegetal	3
<i>2.1.1 Resistencia sistémica adquirida</i>	3
<i>2.1.2 Moléculas clave involucradas en la resistencia sistémica vegetal</i>	6
<i>2.1.2.1 Actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa</i>	6
<i>2.1.2.2 Fenoles de origen vegetal involucrados en la resistencia homeostática</i>	7
<i>2.1.2.3 Polifenoles</i>	8
<i>2.1.3.4 Fenoles glucósidos</i>	9
<i>2.1.3.6 Saponinas</i>	9
<i>2.1.3.7 Alcaloides</i>	9
<i>2.1.3.8 Fitohormonas</i>	9
2.2 Proteínas PR	11
2.3 Peroxidasas	13
<i>2.3.1 Funciones de las peroxidasas</i>	15
<i>2.3.2 Superfamilia de tiol peroxidasas</i>	15

2.3.3	<i>Clasificación de tiol peroxidases según su localización celular</i>	17
2.3.4	<i>La función de GPX en la respuesta no redox del estrés</i>	20
2.4	Modelo biológico experimental	22
2.4.1	<i>Fisiología, genómica y aspectos evolutivos de las plantas del desierto</i>	22
2.4.2	<i>Prosopis glandulosa</i>	24
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
4.	JUSTIFICACIÓN	27
5.	OBJETIVOS	28
4.1	Objetivo general	28
4.2	Objetivos específicos	28
5.	METODOLOGIA	29
5.1	Preparación de los cultivos de <i>P. glandulosa</i>	29
5.1.1	<i>Obtención de las semillas</i>	29
5.1.2	<i>Cultivo del modelo biológico</i>	29
5.2	Activación de la resistencia homeostática	30
5.3	Análisis de fenoles libres presentes en las plantas	31
5.4	Análisis morfológico y tisular de germinados	31
5.5	Actividad enzimática de GPX total	32
5.6	Análisis electroforético de GPX	33
5.7	Análisis bioinformático de las enzimas GPX del género <i>Prosopis</i>	33
6.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	35
6.1	Análisis de polifenoles Libres	35
6.2	El análisis morfológico	36
6.3	Endurecimiento de tejidos	39
6.4	Relación entre fenoles libres y cambio morfológicos	42

6.5 Actividad de GPX.....	43
6.6 Patrón de expresión de proteínas	45
6.7 Análisis integrado de patrones densitométricos y respuestas morfofisiológicas durante la adaptación vegetal	49
6.8 Análisis Bioinformático de las Isoformas de Glutación Peroxidasa en genero <i>Prosopis</i>	49
6.8 Análisis Bioinformático de las Isoformas de Glutación Peroxidasa en genero <i>Prosopis</i>	50
7. CONSLUSIONES	59
8. REFERENCIAS	61

INDICE DE FIGURAS

Ilustración 1 Mecanismos de defensa homeostática en plantas frente a factores de estrés a través de dos niveles: la Resistencia Local y la Resistencia Sistémica Adquirida. La figura es de elaboración personal usando BioRender.....	4
Ilustración 2 Importancia de la actividad de PAL en la resistencia sistémica adquirida. Figura de elaboración propia en Biorender.....	7
Ilustración 3 Estructuras de las fitohormonas relacionadas con las respuestas sistémicas vegetales (Jordán & Casaretto, 2006).	10
Ilustración 4 Respuesta Defensiva de las Plantas: Activación de Proteínas Relacionadas a la Patogénesis (PR) y Enzimas contra Agentes Estresores en la Resistencia Homeostática (dos Santos & Franco, 2023; Ebrahim et al., 2011; ScienceDirect, 2005).....	13
Ilustración 5 Funciones generales de las peroxidasas en las plantas (Francoz et al., 2015; Siegel, 1993).	16
Ilustración 6 clasificación y composición de las peroxidasas en las plantas.	16
Ilustración 7 Papel de las peroxidasas en la maduración y dinámica de las paredes celulares vegetales (Francoz et al., 2015).	19
Ilustración 8 Generalidades morfológicas de la Prosopis glandulosa: a) Tallo, b) Hoja, c) Árbol, d) Testa y e) Semilla	24
Ilustración 9 Niveles de fenoles libres en germinados de Mezquite según la prueba de Folin. Se muestra la concentración de fenoles (g/L) en tres tiempos de muestreo: (a) una semana, (b) dos semanas, y (c) tres semanas después del sometimiento a distintas condiciones experimentales: un grupo control y dos tratamientos: estrés hídrico/lumínico (H-L) y exposición a quitosano (EQ). Los valores de concentración se presentan en barras de color verde para el grupo control, amarillo para el tratamiento con quitosano y azul para el tratamiento con estrés.	35
Ilustración 10 Gráfico de los cambios relativos tras la exposición de mezquite a estrés. Las diferencias representan los cambios en los niveles de fenoles libres en germinados corregidos sustrayendo los niveles observados en el grupo control. Se muestra la concentración de fenoles (g/L) en tres tiempos de muestreo: una	

semana, dos semanas, y tres semanas después del sometimiento a estrés H-L y EQ.	36
Ilustración 11 fotografías de germinados de mezquite bajo tres grupos experimentales: control (a), quitosano (b) y H/L (c) , donde se observan diferencias morfológicas evidentes entre los tres grupos, tanto en la parte aérea como en la radicular.	40
Ilustración 12 cortes histológicos transversales del tallo en germinados de mezquite de los grupos: control (a), exposición a quitosano (b) estrés H-L (c).	41
Ilustración 13 Grafico de diferencias en la Absorbancia del Reactivo de Ellman en Extractos de Glutación Peroxidasa (GPX) de los Grupos Control, Quitosano y H/L	44
Ilustración 14 Cuantificación de Proteínas en Gel mediante Curvas Densitométricas	47
Ilustración 15 Modelos de las estructuras tridimensionales de las GPX de Prosopis potencialmente involucradas en la respuesta homeostática vegetal. Las regiones de color azul corresponden a zonas con un plegamiento sustentado con geometrías locales permitidos y las de color naranja presentan tensiones moderadas o leves.	54
Ilustración 16 Modelos de unión de sustratos en las cavidades potencialmente catalíticas de GPX de Prosopis. Unión del GSH en A. GPX2; B. GPX4; C. GPX6 y D. GPX-L1. Unión del sustrato lauril- ω -peróxido en E. GPX2; F. GPX4; G. GPX6 y H. GPX-L1. Se muestra en representación de superficies como referencia y las imágenes debajo de cada panel son la misma orientación.	55
Ilustración 17 Modelo tridimensional de la tiorredoxina de P. alba un potencial sustrato de las GPX de Prosopis. Se muestra a la izquierda la representación en listones y a la derecha en superficie. El código de color indica la calidad del modelo de azul, mayor calidad a naranja, calidad adecuada.	57
Ilustración 18 Modelo tridimensional de la interacción entre GPX2 y tiorredoxina-H de P. alba un potencial sustrato de las GPX de Prosopis. Se muestra la cercanía de los sitios activos de las dos enzimas.	58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Ejemplos de proteínas PRs	12
Tabla 2 diferencias porcentuales en el crecimiento de raíces, tallos y biomasa relativa entre los grupos experimentales, con énfasis en las comparaciones del grupo control y el tratamiento con quitosano frente a las condiciones de estrés hídrico-lumínico. (Semana 4) El grupo con más biomasa fue el EQ por lo tanto se usó para sustraerle el valor de la del grupo que se usó para comparar: % Incremento = biomasa EQ- biomasa grupo a comparar.....	39
Tabla 3 Promedio de aminoácidos, peso molecular y pl teórico para varias GPX de especies de plantas leguminosas.....	46
Tabla 4 Comparación de Características Morfológicas y Adaptativas de <i>Prosopis alba</i> , <i>Prosopis glandulosa</i> y <i>Prosopis cineraria</i>	51
Tabla 5 Identificación de enzimas GPXs en el género <i>Prosopis</i> y su clasificación general.....	53
Tabla 6 Calidad general de los modelos de las estructuras tridimensionales de las GPX del género <i>Prosopis</i>	54
Tabla 7 Interacción de ligandos con las GPX del género <i>Prosopis</i>	55

ABREVIATURAS ACRONIMOS Y UNIDADES

AJ - Ácido jasmónico

AS - Ácido salicílico

CA1P - 2-carboxy-D-arabinitol 1-fosfato

CONAFOR - Comisión Nacional Forestal

DLI – Luz diaria integral

DTNB - Ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico), también conocido como Reactivo de Ellman

FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization)

FIJI - Fiji is Just ImageJ (software para análisis de imágenes científicas)

GPX - Glutación peroxidasa

GSH - Glutación reducido

GSSG - Glutación oxidado

GST - Glutación S-transferasa

H₂O - Agua

kDa - Kilodalton (unidad de masa molecular)

MALDI-TOF - Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight

NPR1 - Nonexpressor of Pathogenesis-Related genes 1

OD - Densidad óptica

PAL - Fenilalanina amonio liasa

PBS - Solución salina tamponada de fosfato (Phosphate-buffered saline)

PDB - Protein Data Bank

PEG - Polietilenglicol

POI - Proteínas de Interés

PR - Proteínas relacionadas con la patogénesis

Prx - Peroxirredoxina

ROS - Especies reactivas de oxígeno

SAR - Resistencia sistémica adquirida

TCA - Ácido tricloroacético

TNB - 5-Tio-2-nitrobenzoico

TRX - Tio redoxina

UPGF - Unidad Productora de Germoplasma Forestal

USAI - Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria

GLOSARIO

Ácido Jasmónico (AJ): Hormona vegetal que activa mecanismos de defensa contra herbívoros y patógenos, regulando la síntesis de compuestos de defensa.

Ácido Salicílico (AS): Compuesto fenólico que promueve la resistencia sistémica adquirida en plantas mediante la activación de genes defensivos.

Adaptación Vegetal: Conjunto de cambios fisiológicos y estructurales que permiten a las plantas sobrevivir en condiciones de estrés ambiental.

Antioxidantes: Moléculas que neutralizan especies reactivas de oxígeno (ROS) para proteger a las células del daño oxidativo.

Biorremediación: Uso de organismos vivos, como plantas, para remover o transformar contaminantes en el ambiente.

Densidad Óptica (OD): Medida de absorbancia utilizada en bioquímica para cuantificar la concentración de compuestos en solución.

Especies Reactivas de Oxígeno (ROS): Moléculas inestables que pueden dañar componentes celulares y que se generan en respuesta a factores de estrés.

Fenilalanina Amonio Liasa (PAL): Enzima clave en la ruta de los fenoles en plantas, importante para la síntesis de compuestos defensivos.

Fitoalexinas: Compuestos antimicrobianos que se acumulan en las plantas en respuesta a la infección por patógenos.

Glutación (GSH): Antioxidante celular que participa en la detoxificación de ROS y en la regulación del equilibrio redox en células vegetales.

Glutación Peroxidasa (GPX): Enzima antioxidante que protege a las células vegetales al descomponer peróxidos tóxicos.

Proteínas PR (Pathogenesis-Related): Proteínas defensivas inducidas en las plantas como respuesta a patógenos y otros factores de estrés.

Quitosano: Derivado de la quitina que actúa como elicitador, estimulando la respuesta defensiva en las plantas.

Resistencia Sistémica Adquirida (SAR): Respuesta inmune inducida en las plantas que permite una resistencia prolongada y generalizada frente a patógenos.

Tioredoxina (TRX): Proteína que actúa en el mantenimiento del equilibrio redox y facilita la respuesta antioxidante en las plantas.

Unidad Productora de Germoplasma Forestal (UPGF): Organización que produce y conserva germoplasma de especies vegetales para su uso en conservación y reforestación.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas, al igual que otros seres vivos, poseen una notable capacidad de adaptación para enfrentar adversidades de naturaleza biótica y abiótica. Este fenómeno, conocido como resistencia sistémica o homeostática vegetal, involucra un conjunto de procesos adaptativos esenciales para su supervivencia en entornos dinámicos y cambiantes (Chen et al., 2022).

La resistencia sistémica tiene una importancia crítica en los contextos ecológico y agrícola, ya que influye tanto en la biodiversidad de los ecosistemas como en la productividad de los cultivos. Un aspecto clave en la adaptabilidad de las plantas radica en las proteínas relacionadas con la patogénesis (PRPs) (Ebrahim et al., 2011; Jain & Khurana, 2018). Entre estas, destacan las glutatión peroxidadasas (GPX), un grupo de enzimas esenciales que juegan un papel crucial en la protección contra el estrés oxidativo celular en las plantas (Brigelius-Flohé & Maiorino, 2013).

La función principal de las GPX, en conjunto con otras enzimas dependientes de glutatión, es eliminar las especies reactivas de oxígeno (ROS) para proteger las células de posibles daños en sus estructuras, funciones y dinámica. En plantas, algunas isoformas conocidas como GPX-like (GPX-L) muestran una preferencia por la tioredoxina (TRX) como agente reductor, diferenciándose de las GPX animales que prefieren el glutatión (Saiz, 2015). Además de su papel en la protección celular, las GPX-L están involucradas en el crecimiento y desarrollo de las plantas, e incluso se han asociado con mecanismos epigenéticos y redes reguladoras génicas (Li et al., 2021).

La caracterización genética, evolutiva y bioquímica de estas enzimas ha revelado roles específicos en distintas especies vegetales, subrayando su importancia en la biología vegetal y sus aplicaciones potenciales (Margis et al., 2008; Nianiou-Obeidat et al., 2017).

En este estudio se investigó la posible relación entre las GPX y las respuestas sistémicas adaptativas en plantas de mezquite, una especie vegetal altamente adaptada a los biomas desérticos. El mezquite fue seleccionado como modelo debido a sus características bioquímicas, fisiológicas y morfológicas bien

documentadas, que reflejan su adaptación al estrés abiótico en condiciones extremas (Mohanta et al., 2024). Particularmente, se evaluó el efecto del estrés hídrico combinado con el lumínico y la aplicación de quitosano sobre la actividad de las GPX y los cambios morfológicos.

Este enfoque permitirá explorar cómo las GPX y las PRPs en general contribuyen a la respuesta sistémica adquirida, postulando al mezquite como una especie idónea para profundizar en los mecanismos adaptativos de las plantas en ambientes desérticos.

2. ANTECEDENTES

2.1 Resistencia homeostática vegetal

2.1.1 Resistencia sistémica adquirida

Los organismos han desarrollado mecanismos de adaptación desde los niveles bioquímico, fisiológico y ecológico. En el contexto de fisiología vegetal, la resistencia sistémica es aquella capacidad de adaptabilidad frente a adversidades bióticas y abióticas (Landes Bioscience, 2006). Esta propiedad de las plantas consta de distintos mecanismos homeostáticos los cuales pueden acontecer en un tiempo y tejidos determinados durante ciclo de vida. Aunque existen distintas etapas para poder comprender el fenómeno, la primera etapa consiste en diferenciar entre los distintos niveles en los que ocurren los procesos de adaptabilidad, denominándolos resistencia local, poblacional o de comunidad (Ilustración I) (Balfagón et al., 2020; Camarena-Gutiérrez & De La Torre-Almaráz, 2007; Klessig et al., 2018; Wenig et al., 2019).

En las distintas etapas de resistencia adquirida se pueden identificar los siguientes aspectos:

- La resistencia local adquirida (LAR) se refiere a la capacidad de las plantas para establecer una homeostasis inicial en un tipo de tejido u órgano específico del organismo en respuesta a un agente estresor. En este nivel, las plantas empiezan a detectar y desplegar mecanismos defensivos específicos en áreas afectadas.
- La SAR representa la segunda etapa de la respuesta de resistencia en las plantas. En su caso, se logra la homeostasis a nivel organismo, pudiéndose encontrar el agente estresor en toda la planta o solamente en una zona específica; la razón por la cual ocurre esta etapa de resistencia se puede deber al tiempo de exposición al estrés y a la concentración de este.
- La resistencia poblacional adquirida es un tipo de resistencia que ocurre cuando múltiples organismos de la misma especie reaccionan ante una adversidad sin necesidad de estar expuestos directamente al agente estresor. Este proceso puede desencadenarse a través de una o más plantas

iniciadoras que han sido previamente expuestas al estrés y su respuesta a la adversidad se comunica a otras plantas de la población.

- La resistencia comunitaria adquirida (CAR) representa un mecanismo de defensa colectivo donde organismos vegetales de la misma especie establecen una red de comunicación bioquímica que permite la transmisión de señales de alerta y respuestas defensivas entre individuos. Este nivel de resistencia trasciende la respuesta individual y opera mediante la liberación de compuestos orgánicos volátiles (VOCs), señales químicas a través de redes micorrícicas subterráneas y exudados radiculares que actúan como mensajeros moleculares entre plantas vecinas, permitiendo que aquellos organismos no expuestos directamente al estrés inicien respuestas preventivas de defensa.

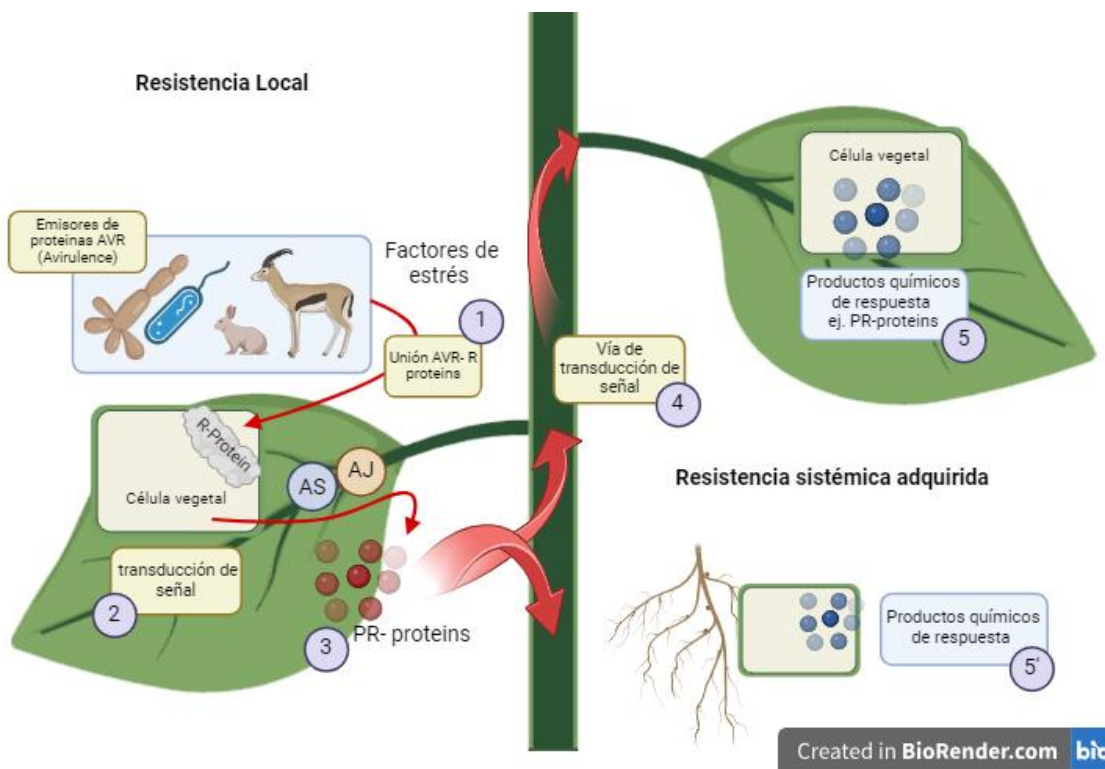


Ilustración 1 Mecanismos de defensa homeostática en plantas frente a factores de estrés a través de dos niveles: la Resistencia Local y la Resistencia Sistémica Adquirida. La figura es de elaboración personal usando BioRender.

Teóricamente todas las plantas pueden actuar a nivel de LAR, pero, dependiendo de las características de la especie (genoma), existe la posibilidad de que ocurran los fenómenos de resistencia a nivel poblacional o inclusive a nivel comunidad (Belkis Peteira Delgado-Oramas, 2020; Camarena-Gutiérrez & De La Torre-Almaráz, 2007; Choudhary et al., 2007; Montero, 2022; Wenig et al., 2019).

La identificación de la resistencia homeostática en las plantas también se puede abordar a través de la categorización de diversos agentes estresores, los cuales pueden clasificarse en dos categorías principales: agentes bióticos y abióticos (Rai et al., 2021):

- Los agentes bióticos pueden ser organismos biológicos completos, partes o sustancias derivadas de estos que pueden actuar como factores estresantes para las plantas. Se incluyen patógenos vegetales, como hongos, bacterias y virus, que invaden las plantas y desencadenan respuestas de resistencia, como la producción de fitoalexinas y otras moléculas defensivas. Además, los herbívoros, como insectos y mamíferos, pueden causar daño a las plantas al alimentarse de ellas, lo que a su vez desencadena la producción de compuestos tóxicos o la activación de sistemas de defensa física (Delgado-Oramas, 2020; Camarena-Gutiérrez & De La Torre-Almaráz, 2007).
- Los agentes abióticos son factores de estrés de naturaleza no biológica, pueden ser físicos o químicos. En las plantas éstos pueden incluir cambios en las condiciones ambientales, como la temperatura, la intensidad lumínica, humedad, el pH y la disponibilidad de minerales. Por ejemplo, las plantas pueden experimentar estrés térmico debido a temperaturas extremadamente altas o bajas, lo que desencadenará la regulación de la apertura de estomas y la síntesis de proteínas de choque térmico. Además, la exposición a altas concentraciones de salinidad o niveles bajos de nutrientes esenciales en el suelo también se considera un estrés abiótico, lo que lleva, por ejemplo, a la acumulación de solutos osmoprotectores (Camarena-Gutiérrez & De La Torre-Almaráz, 2007).

La respuesta adquirida es un proceso secuencial: (1) las plantas detectan proteínas de avirulencia (AVR) que actúan como señales de invasión patogénica, las cuales se unen a proteínas de resistencia (R) en la célula vegetal. Esto inicia una (2) transducción de señal, activando (3) la producción de proteínas de defensa, por ejemplo, las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-proteins, por sus siglas en inglés). Luego, (4) la señal de defensa se transduce a otras partes de la planta, (5) activando la SAR en otras células, que inician una respuesta local o potencian la sistémica.

2.1.2 Moléculas clave involucradas en la resistencia sistémica vegetal

Las plantas biosintetizan una variedad de moléculas que median las respuestas vegetales. Éstas pueden ser hormonas o intermediarios del metabolismo secundario que actúan sobre la regulación de genes o reguladores de diversos procesos celulares o bien como moléculas que combaten directamente el estrés.

2.1.2.1 Actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa

Durante la resistencia homeostática, las plantas despliegan diversas reacciones metabólicas para contrarrestar los agentes estresores. Entre éstas, la actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL) representa el punto de conexión entre el metabolismo primario y la biosíntesis de polifenoles y otros fitoquímicos de respuesta al estrés. PAL cataliza la conversión de fenilalanina en ácido cinámico mediante la eliminación oxidativa del grupo amino en forma de ion amonio. El ácido cinámico es el precursor de los compuestos fenólicos, sustancias cruciales para la adaptación. Los fenoles son iniciadores de factores de expresión proteica produciendo cambios que pueden tener un impacto inmediato o a largo plazo. Uno de éstos son las fitoalexinas, que son esenciales en la respuesta inmune de la planta frente a patógenos, contribuyendo tanto a la resistencia homeostática como a la SAR (Ávalos-García & Pérez-Urria Carril, 2009; José et al., 2016).

En el contexto de la SAR, la activación de PAL y la posterior acumulación de fenoles son eventos clave. Después de la exposición inicial a un patógeno, la planta desarrolla mecanismos para resistir futuras infecciones, una memoria inmunitaria

vegetal. Además, el metabolismo de PAL no solo está vinculado a la respuesta a patógenos, sino que también responde a factores de estrés abiótico, como la radiación ultravioleta, la salinidad y la sequía. En estas condiciones, los fenoles actúan como antioxidantes y mediadores fisiológicos, contribuyendo a mantener la homeostasis celular (Rankenberg et al., 2021; Ávalos-García & Pérez-Urria Carril, 2009; Francoz et al., 2015; Gondor et al., 2022; José et al., 2016).

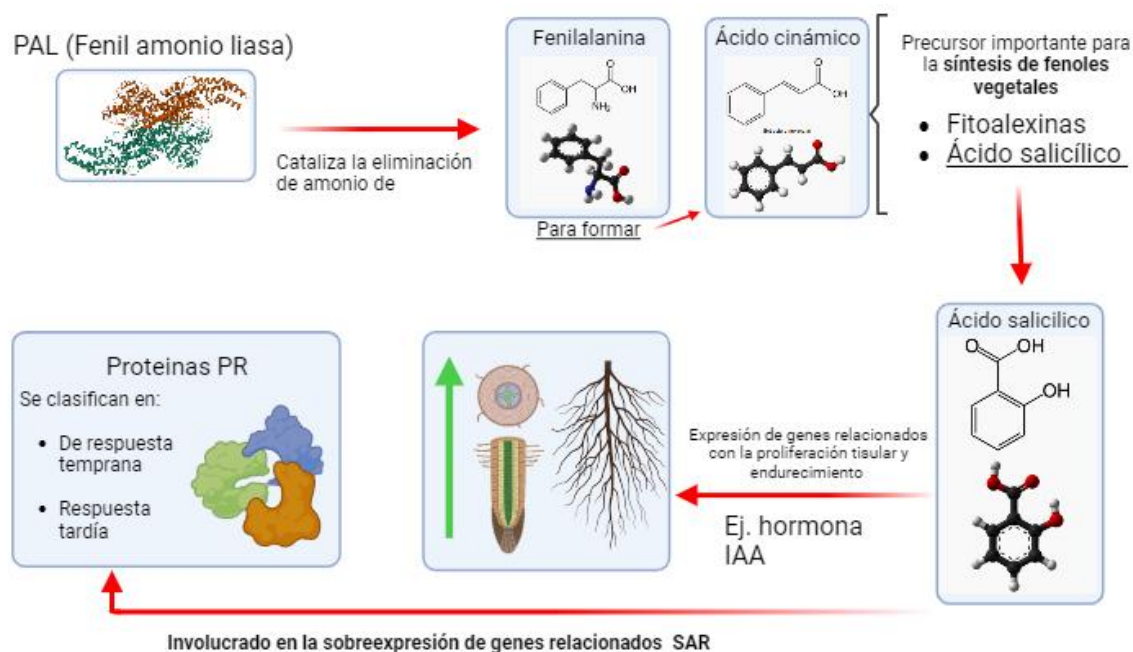


Ilustración 2 Importancia de la actividad de PAL en la resistencia sistémica adquirida. Figura de elaboración propia en Biorender.

2.1.2.2 Fenoles de origen vegetal involucrados en la resistencia homeostática

Los compuestos fenólicos son una clase de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran en diversos organismos, desde plantas hasta microorganismos. Estos compuestos son de gran interés en la investigación biológica debido a su capacidad para desempeñar múltiples funciones fisiológicas dentro del individuo. Su principal característica distintiva es presencia de uno o más grupos hidroxilo (-OH). Este grupo funcional confiere propiedades únicas a estos compuestos, incluyendo su capacidad antioxidante y su participación en diversas rutas metabólicas. Además, la estructura química de los compuestos fenólicos a menudo exhibe la formación de anillos cíclicos, lo que contribuye a su estabilidad y

actividad biológica (Ávalos García Elena Pérez-Urria Carril, 2009; Chávez-Arias et al., 2022; José et al., 2016; Saleh & Plieth, 2009).

Los compuestos fenólicos pueden tener funciones inmediatas o a largo plazo, ya sea como promotores estructurales o promotores genéticos (José et al., 2016). A pesar de su importancia reconocida, persisten interrogantes sobre su diversidad estructural, funciones específicas en distintos contextos biológicos y su participación en procesos evolutivos. La comprensión más profunda de la estructura y función de los compuestos fenólicos no solo enriquecerá nuestros conocimientos fundamentales en biología y química, sino que también nos brindará la oportunidad de explorar aplicaciones potenciales en campos tan diversos como la medicina, la agricultura y la nutrición.

En los procesos que conciernen a la resistencia homeostática vegetal se han identificado distintos compuestos fenólicos, clasificándolos por medio de su estructura y función; algunas de estos fenoles estudiados se describen a continuación.

2.1.2.3 Polifenoles

Se caracterizan por contener múltiples grupos fenólicos en su estructura, representan una clase diversa de compuestos con propiedades funcionales diversas en las plantas y extensas actividades biológicas sobre organismos. Los taninos desempeñan un papel destacado en la resistencia contra herbívoros y patógenos, actuando como agentes defensores al interferir en procesos biológicos esenciales para estos organismos. Las cumarinas presentan funciones fotoprotectoras, contribuyendo así a la capacidad adaptativa de la planta en entornos variables y exhiben bioactividad de anticoagulantes. Los flavonoides actúan como antioxidantes, pigmentos responsables de la coloración vibrante en flores y frutos, así como reguladores del crecimiento, desempeñando funciones cruciales en la respuesta al estrés ambiental. Las ligninas son esenciales ya que proporcionan rigidez y resistencia a las paredes celulares, contribuyendo de manera significativa a la arquitectura y la integridad estructural de la planta (Kumar et al., 2023; Šamec et al., 2021; Zhang et al., 2022).

2.1.3.4 Fenoles glucósidos

Son caracterizados por la presencia derivatizada de glucosa u otro azúcar en uno o varios grupos hidroxilos. Los glucosinolatos participan activamente en la defensa contra herbívoros y patógenos, desencadenando respuestas químicas específicas que actúan como barreras efectivas (Y. Zhang et al., 2022)

2.1.3.6 Saponinas

Las saponinas presentan propiedades detergentes y se postula que estas sustancias desempeñan papeles en la defensa de la planta, aunque la comprensión completa de sus funciones aún está en investigación (Kumar et al., 2023; Šamec et al., 2021; Zhang et al., 2022).

2.1.3.7 Alcaloides

Los alcaloides son compuestos orgánicos nitrogenados con una estructura química heterogénea, lo que se traduce en propiedades biológicas diversas. Desempeñan funciones multifacéticas en las plantas, desde la defensa contra herbívoros hasta la atracción de polinizadores y la inhibición de patógenos. Algunos alcaloides contienen grupos fenólicos, o derivan de metabolitos fenólicos, lo que les permite clasificarse dentro de los fenoles según su estructura química y los efectos biológicos que producen (Bhambhani et al., 2021)

2.1.3.8 Fitohormonas

Durante la inducción de estrés en las plantas se producen fenoles con funciones hormonales específicas, como el ácido salicílico (AS) y el ácido jasmónico (AJ). Estos compuestos en particular sobresalen por su capacidad para modular una diversidad de procesos fisiológicos. Uno de ellos es la respuesta de resistencia de la planta a patógenos, así como en su papel en la regulación precisa del crecimiento, desarrollo y defensa, subrayando así su papel central en la adaptabilidad y supervivencia de la planta (Jordán & Casaretto, 2006).

La biosíntesis de AJ y AS en situaciones de estrés agudo resalta la complejidad inherente y la versatilidad funcional de los fenoles dentro de la intrincada red de señalización vegetal. Este fenómeno sugiere una interconexión sofisticada entre el estrés, la producción de fenoles y las respuestas hormonales, evidenciando la

riqueza de las adaptaciones bioquímicas desencadenadas en las plantas ante condiciones adversas (Kumar et al., 2023; Šamec et al., 2021; Y. Zhang et al., 2022).

Durante la exposición de una planta a un estresor y antes de que se despliegue su respuesta SAR, se observa un aumento en los fenoles. Para que se manifieste la resistencia homeostática vegetal y se produzcan proteínas relacionadas a la patogénesis, ocurriendo cambios bioquímicos y morfológicos, se requiere la presencia de moléculas o factores que modulen la expresión génica (José et al., 2016; “Resistencia Sistémica Adquirida,” 2006; ScienceDirect, 2010). Las moléculas clave en este proceso son el AS, AJ, el etileno y los factores de transcripción NPR1 (Nonexpressor of Pathogenesis-Related genes). Su papel es coordinar la activación o desactivación de genes que codifican proteínas relacionadas con las PRPs, lo que permite a la planta hacer frente al estresor. Los factores NPR1 pueden facilitar esta regulación génica de manera independiente o en colaboración con las fitohormonas (Backer et al., 2019; Caarls et al., 2015; M. Shahid Mukhtar et al., 2009; Tamaoki et al., 2013).

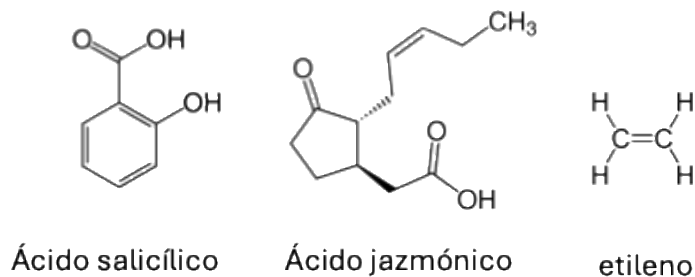


Ilustración 3 Estructuras de las fitohormonas relacionadas con las respuestas sistémicas vegetales (Jordán & Casaretto, 2006).

El AS es conocido por su papel central en la activación de genes de defensa contra patógenos. Induce la expresión de genes que codifican PRPs, como enzimas de defensa y proteínas antimicrobianas. Además, se ha demostrado que juega un papel crucial en la señalización intra e intercelular durante la SAR, coordinando la respuesta de la planta ante la infección (Caarls et al., 2015; Tamaoki et al., 2013)

El AJ está involucrado en la respuesta de la planta a herbívoros y daños mecánicos, así como en la defensa contra patógenos. Esta fitohormona estimula la síntesis de metabolitos secundarios y PRPs, como las proteasas inhibitorias y las diversas

hidrolasas y oxido-reductasas, incluida GPX. Además, el AJ puede interactuar con el AS para modular la respuesta de la planta a diferentes estímulos ambientales.

El etileno es conocido por su papel en la regulación del crecimiento y el desarrollo de las plantas, así como en la respuesta al estrés abiótico y biótico. Durante la SAR, el etileno actúa como un modulador clave de la señalización del AS y el AJ, amplificando la respuesta de la planta frente a los patógenos. Además, el etileno puede inducir la expresión de genes de defensa y la producción de metabolitos secundarios que contribuyen a la resistencia contra patógenos (Helber Enrique Balaguera-López et al., 2014; Jordán & Casaretto, 2006)

2.1.3.9 Factores de transcripción

Las NPR1 son reguladores clave en la activación de genes de defensa durante la SAR. Las NPR1 se encuentran en el citoplasma en condiciones normales, pero se translocan al núcleo en presencia de señales de estrés, donde interactúan con factores de transcripción para activar la expresión de genes de defensa. Además, regulan la respuesta de la planta a diferentes señales de estrés, integrando las vías de señalización del AS, el AJ y el etileno para coordinar una respuesta efectiva contra los patógenos (Backer et al., 2019; Chen et al., 2019; M. Shahid Mukhtar et al., 2009; Olate et al., 2018).

Es importante considerar la concentración de la molécula clave, su localización celular, el momento en que se presenta y su interacción con otras moléculas indispensables al contemplar el mecanismo de SAR.

2.2 Proteínas PR

En el contexto de la respuesta de las plantas, se destaca la generación de macromoléculas debido a la regulación genética mediada por ciertos fenoles de naturaleza hormonal; entre estas macromoléculas se encuentran las PRPs, las cuales, a pesar de sus diferencias estructurales y funciones (Cuadro 1), comparten una actividad fundamental en la sobrevivencia. Esta función consiste en desencadenar respuestas inmediatas o graduales frente a agentes estresores,

manifestándose en los distintos niveles de resistencia (Ebrahim et al., 2011; Menéndez et al., 2020).

La conexión entre la regulación genética impulsada por fenoles hormonales y la síntesis de PRPs es esencial para comprender la respuesta adaptativa de las plantas frente a situaciones de estrés (Camarena-Gutiérrez & De La Torre-Almaráz, 2007; García-García & García-Arenal, 2003; Menéndez et al., 2020; ScienceDirect, 2005).

Tabla 1. Ejemplos de proteínas PRs

Clasificación de Proteínas	Funciones	Ejemplos
Quitinasas	Degradación de la pared celular de hongos patógenos e insectos	Quitinasa A: Presente en fabáceas, descompone la quitina en la pared celular de los hongos y exoesqueletos de insectos
Glucanasas	Degradación de la pared celular de patógenos	Glucanasa b (beta): Presente en fabáceas, degrada el glucano en la pared celular de los hongos
Proteínas antifúngicas	Actividad antimicrobiana contra hongos y patógenos	Proteína C: Presente en solanáceas, exhibe actividad antimicrobiana contra hongos y otros patógenos
Peroxidasas	Producción de compuestos oxidativos tóxicos para patógenos y síntesis de compuestos fenólicos	Peroxidasa D: Presente en gramíneas, cataliza la oxidación de moléculas y sintetiza compuestos fenólicos

Además, las PR pueden interactuar entre sí en un tiempo y espacio determinados, promoviendo una mayor actividad antimicrobiana. Este proceso se regula a través de hormonas que promueven la degradación de la membrana o pared celular de los atacantes y estimulan la proliferación o endurecimiento de los tejidos de soporte, como la cutícula de las hojas, lignificación del tallo y raíces. Esta interacción refuerza la capacidad de las plantas para enfrentar desafíos bióticos, añadiendo una capa

adicional de complejidad y eficacia a sus estrategias de defensa (Chiu et al., 2022; Jain & Khurana, 2018; Martínez-Pacheco, 2017; Zribi et al., 2021).

Proteínas PR y Proteínas de Resistencia en la Defensa de las Plantas

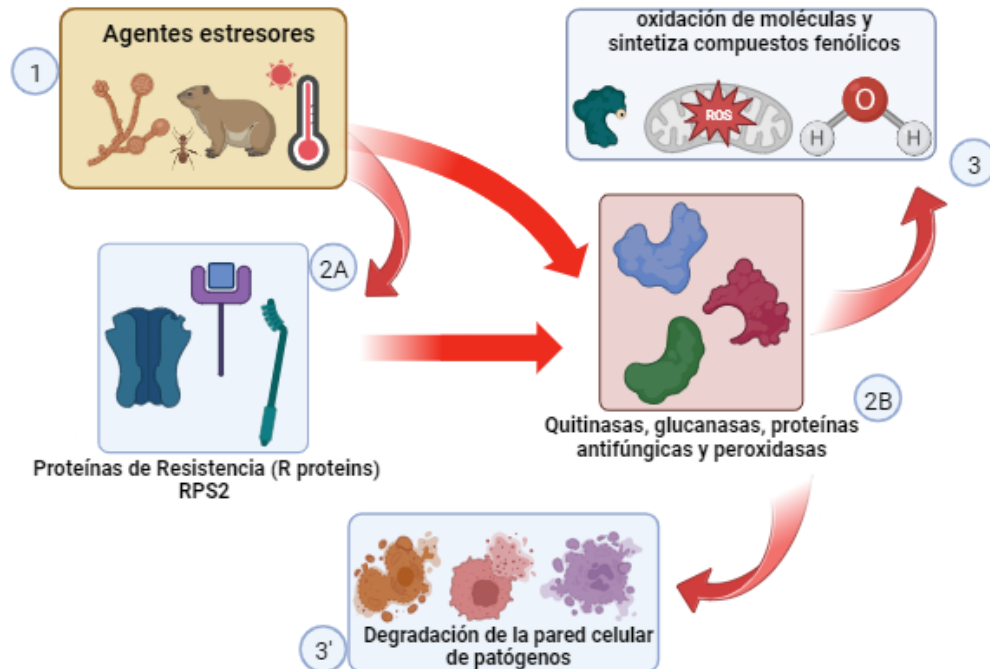


Ilustración 4 Respuesta Defensiva de las Plantas: Activación de Proteínas Relacionadas a la Patogénesis (PR) y Enzimas contra Agentes Estresores en la Resistencia Homeostática (dos Santos & Franco, 2023; Ebrahim et al., 2011; ScienceDirect, 2005).

Las PRPs se dividen en 17 familias de acuerdo con su estructura y función. Destacan proteínas con actividades antifúngicas como las quitinasas y glucanasas, proteasas, antivirales, antibacterianas y diversas enzimas redox, las oxidasas pertenecen a la familia de la PR-9 (dos Santos & Franco, 2023). Las peroxidasas tienen papeles importantes en las primeras etapas de defensa ante hongos, bacterias y virus. No está establecida completamente la relación entre la respuesta sistémica adquirida y la actividad de las peroxidasas.

2.3 Peroxidasas

Las peroxidasas son una clase de enzimas que se encuentran ampliamente distribuidas en las células de todos los organismos biológicos; cumpliendo roles diversos y fundamentales en los procesos fisiológicos. Estas enzimas forman parte

de la familia de las oxidorreductasas, catalizando específicamente la descomposición de peróxidos como el de hidrógeno (H_2O_2), un subproducto tóxico del metabolismo celular, en agua y oxígeno. Además de su función en la detoxificación de dichas moléculas oxidantes, las peroxidasas también tienen la capacidad de utilizar sustratos como el ascorbato, fenoles y compuestos fenólicos como donadores de electrones, participando así en la defensa antioxidante de la planta contra el estrés oxidativo generado por factores ambientales o el propio desarrollo metabólico (Lifeder, 2020; Pandey et al., 2017; Siegel, 1993).

Existe una amplia diversidad de peroxidasas con distintos mecanismos para eliminar la presencia de moléculas oxidantes generadas durante el estrés biológico o agentes externos bióticos y abióticos. Se pueden englobar en las peroxidasas dependientes de grupo hemo y las no dependientes. Las que usan el grupo hemo son independientes de glutatión (GSH), ya que los electrones los dona el ion ferroso. Las que no requieren un grupo hemo emplean azufre como donador de los electrones en forma de GSH u otro tiol, como es el caso de las peroxidasas dependientes de GSH o de tiorredoxinas, respectivamente. Las GPX utilizan el glutatión como cofactor para reducir peróxidos orgánicos e inorgánicos, protegiendo a la célula vegetal del estrés oxidativo y eliminando compuestos dañinos. Además de las GPX, existen otras enzimas llamadas glutatión S-transferasas (GST) que en cooperación con las GPX coadyuvan en la defensa de la planta contra sustancias tóxicas (Brigelius-Flohé & Maiorino, 2013; Moons, 2005; Nianiou-Obeidat et al., 2017; Pandey et al., 2017).

Sin embargo, es importante señalar que no todas las peroxidasas, como las GPX o las enzimas dependientes de GSH como las GSTs, son exclusivas de las funciones estrictamente relacionadas con la regulación frente al estrés. Aunque cada enzima tiene sus propias características y funciones específicas, incluso algunas pueden compartir ciertas similitudes en su actividad y estructuras, existen enzimas con múltiples funciones o funciones alternas como en la participación en procesos de protección, regulación y diferenciación celular (Li et al., 2021; Moons, 2005).

2.3.1 Funciones de las peroxidasas

Las peroxidasas cumplen diversas funciones esenciales en las plantas (Ilustración 5):

- Desintoxicación del peróxido de hidrógeno: Actúan como parte del sistema antioxidante de la planta, contribuyendo a eliminar el peróxido de hidrógeno para evitar que cause daño oxidativo si se acumula en niveles elevados.
- Resistencia a patógenos: Algunas peroxidasas participan en respuestas defensivas contra patógenos. Contribuyen a la producción controlada de radicales libres y metabolitos oxidados con propiedades antimicrobianas, ayudando a la planta a combatir infecciones.
- Regulación del crecimiento y desarrollo: Intervienen en la regulación del crecimiento y desarrollo de la planta, incluida la lignificación de las células, un proceso crucial en la formación de estructuras de soporte y defensa.
- Relación con el estrés abiótico: están implicadas en la respuesta de las plantas al estrés abiótico, como la salinidad, sequía, y temperaturas extremas. Participan en la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas como resultado de este estrés.

2.3.2 Superfamilia de tiol peroxidasas

Son enzimas que forman parte de la superfamilia de las tiol peroxidasas y eliminan peróxido de hidrógeno u otros peróxidos a expensas de GSH (GPX), así como por otros tioles, incluso residuos de cisteína de diversas proteínas, estas últimas conocidas como peroxirredoxinas (PRX) (Bela et al., 2022; Dña. Ana Saiz Rodríguez, 2015; Margis et al., 2008).

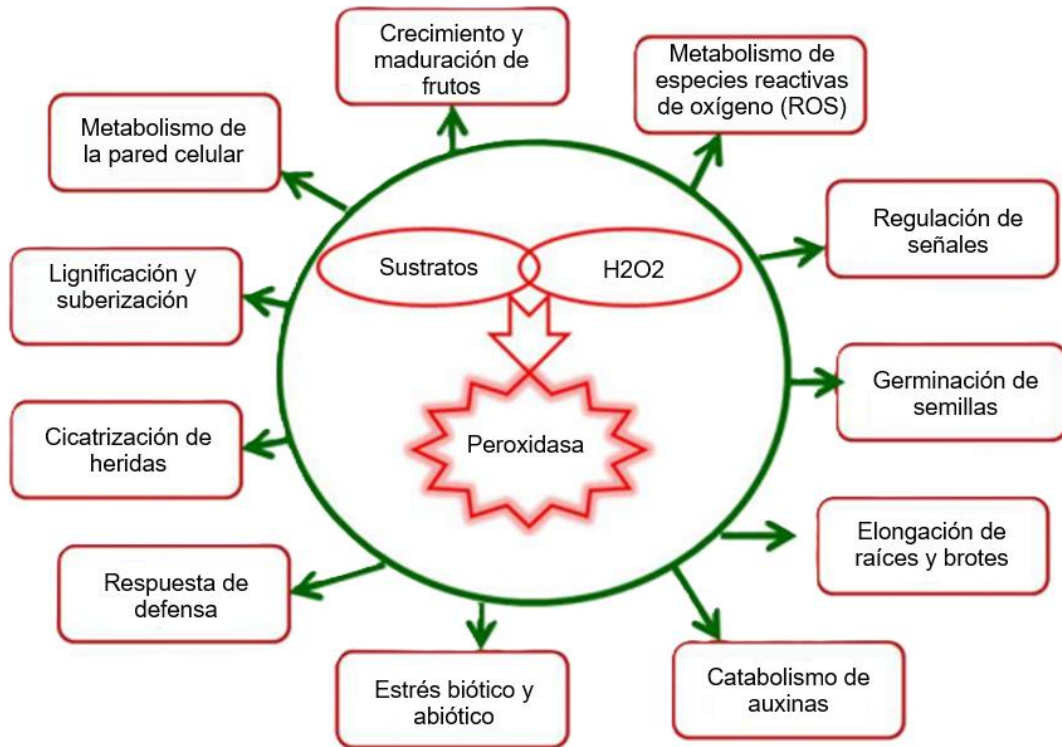


Ilustración 5 Funciones generales de las peroxidasas en las plantas (Francoz et al., 2015; Siegel, 1993).

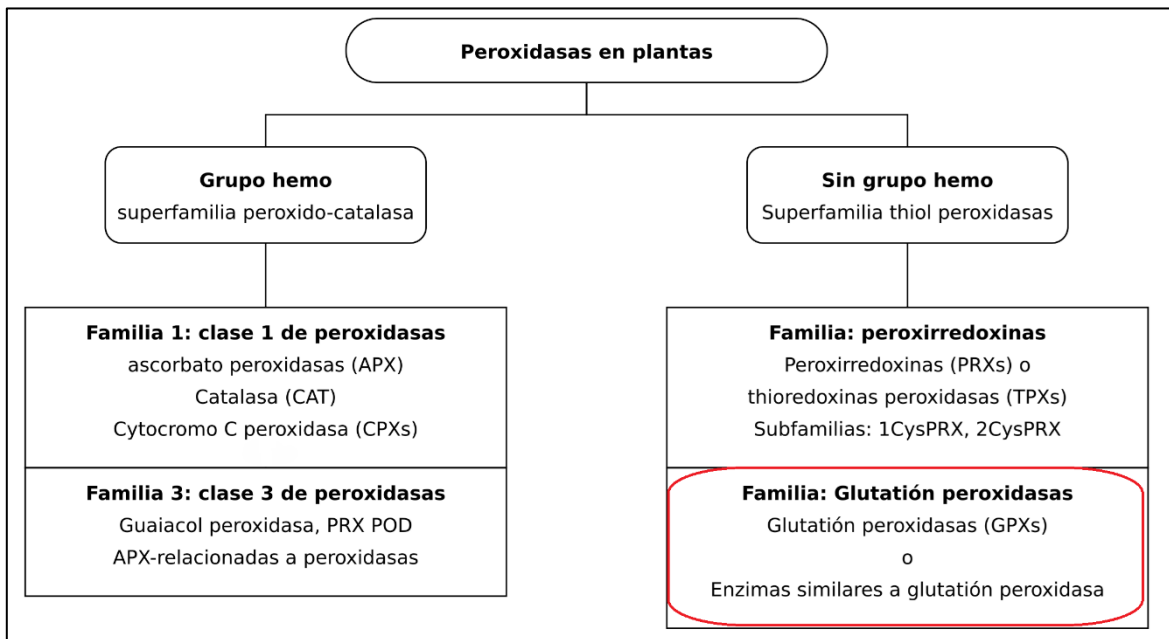


Ilustración 6 clasificación y composición de las peroxidasas en las plantas.

En las plantas, existen múltiples isoformas y tipos de GPX. un tipo corresponde a enzimas monoméricas que tienen cisteína en lugar de selenocisteína en su sitio activo y muestran una preferencia general por el sistema TRX en lugar del GSH. Debido a esto, se les denomina GPX-L para distinguirlas de las GPX que tienen selenocisteína catalítica. Las GPXL poseen funciones extra-catalíticas por la presencia de múltiples dominios de proteínas específicos (Bela et al., 2022). La diversidad estructural, funcional y evolutiva observada entre las distintas GPXL sugiere la existencia de roles específicos y adaptativos dentro de las diferentes especies de plantas, enfatizando aún más la complejidad y la importancia de la superfamilia de tiol peroxidasas en la biología vegetal. Se ha descubierto que las GPXL están implicadas en mecanismos epigenéticos, modificaciones postranscripcionales, postraduccionales, interacciones proteína-proteína y redes de regulación génica, modulando sus funciones y actividades de manera intrincada (Agbemafle et al., 2023; Movahedi et al., 2024). Se requiere de una mayor investigación para delimitar el alcance e importancia de este tipo de proteínas. También se ha relacionado recientemente a las GPX mitocondriales y cloroplásticas en la respuesta al estrés causado por factores abióticos (Pei et al., 2023).

2.3.3 Clasificación de tiol peroxidasas según su localización celular

Las enzimas se clasifican comúnmente según las características funcionales detectadas en experimentos *in vitro* e *in vivo*, etiquetándolas y agrupándolas según su relación, secuencia, función o metabolismo. Sin embargo, surge una problemática reduccionista al intentar comprender por completo las diversas variantes (isoformas) de estas proteínas, lo que nos lleva a tener una concepción limitada de los posibles aspectos clave de algunas isoformas que podrían desempeñar un papel fundamental en aspectos adaptativos del organismo, como la modulación de procesos tales como el crecimiento, la maduración, la homeostasis o la reproducción (X. C. Zhang et al., 2012). Recientemente, se ha buscado analizar las isoformas en líneas celulares de organismos de interés debido a su capacidad de adaptabilidad en comparación con otros, siendo capaces de tolerar condiciones ambientales que normalmente serían difíciles para otros organismos. Los estudios que se llevan a cabo para identificar las funciones adicionales en las enzimas

conocidas superficialmente requieren una serie de experimentos multifacéticos que ayuden a considerar diferentes aspectos que han sido pasados por alto. Esto incluye la realización de pruebas que pongan de manifiesto la función de sus dominios proteicos, las cuales pueden llevarse a cabo mediante formulaciones teóricas, técnicas bioinformáticas y experimentales. En una búsqueda exhaustiva de las características adicionales de una proteína previamente conocida se requiere considerar su localización en relación con otras isoformas cuya ubicación y temporalidad en el organismo sean conocidas. Además, para clasificarla e identificar su función, es crucial evaluar su interacción con el entorno ambiental en el que se encuentra, tanto en términos de tiempo como de espacio. Aunque varias isoformas pueden aparentar tener funciones similares, como ciertas actividades catalíticas, su importancia funcional puede variar significativamente según el contexto (Dña. Ana Saiz Rodríguez, 2015; Margis et al., 2008; Martin et al., 2003).

Un claro ejemplo de aquellas funciones identificadas que ayudan a ampliar el conocimiento de un determinado tipo de proteínas es el descubrimiento de endurecimiento y aflojamiento de la pared celular de células vegetales en *Arabidopsis thaliana*. Dicho estudio consistió en el análisis de las tiol peroxidasas (GPX y PRX), las cuales se caracterizan por ser oxidorreductoras de determinados compuestos citotóxicos, diferenciándose únicamente por pertenecer a ciertos nichos específicos de homeostasis frente el estrés oxidativo (Francoz et al., 2015). En un estudio se aborda cómo la ubicación temporal (dinámica) y espacial (compartimentalización de funciones) de una enzima puede influir en la modificación de ciertas estructuras de soporte en las plantas, como la pared celular. Se ilustra cómo los procesos de oxidoreducción en esta zona pueden conducir a la formación de polímeros de lignina o suberina (dependiendo del tejido) a partir de compuestos fenólicos libres, los cuales se generan en respuesta a la exposición a agentes estresantes, tanto bióticos como abióticos. Estos polímeros se adhieren a la matriz de celulosa a través de un fenómeno conocido como entrecruzamiento "*cross-linking*" (Ilustración 7) (Francoz et al., 2015). Además, el fenómeno de entrecruzamiento entre polímeros y la matriz de celulosa destaca la complejidad y la precisión de la regulación enzimática en la síntesis y remodelación de la pared

celular, lo que a su vez influye en la resistencia mecánica y la integridad estructural de las plantas (Francoz et al., 2015).

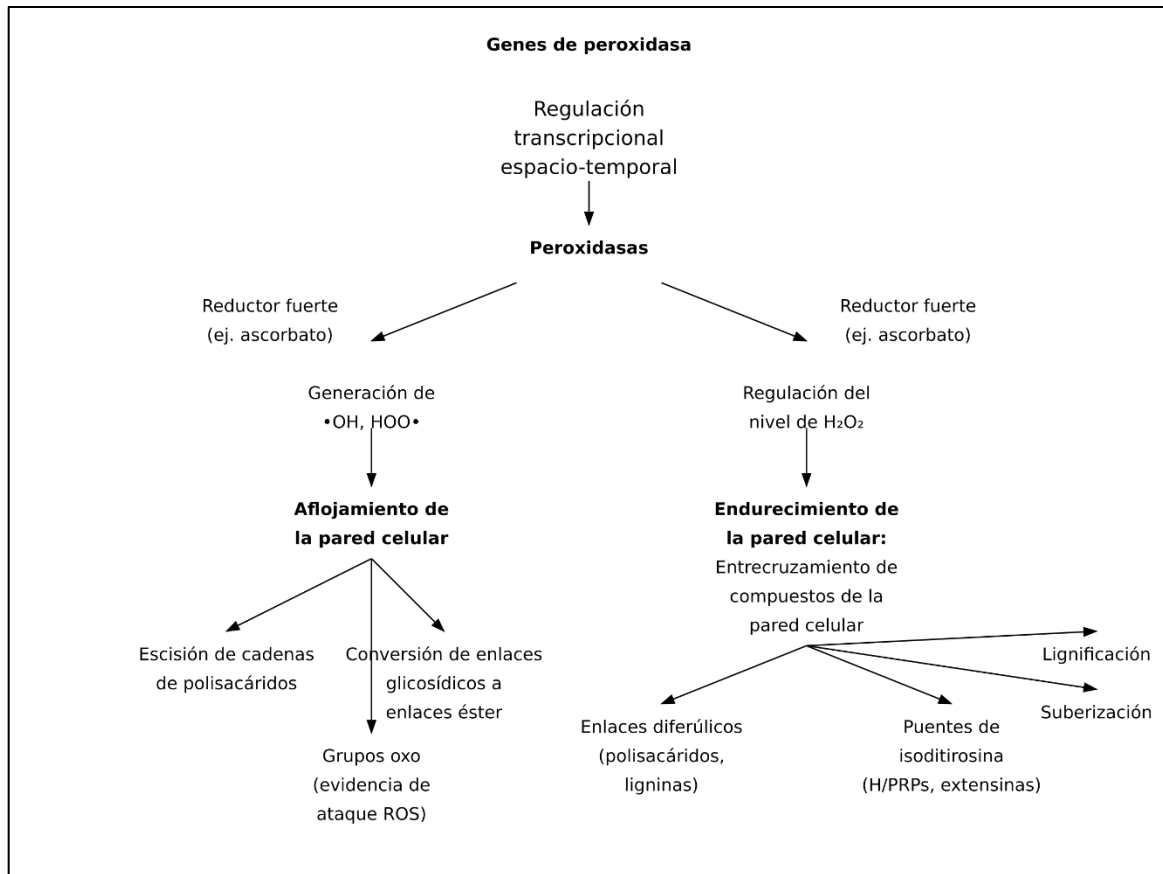


Ilustración 7 Papel de las peroxidasas en la maduración y dinámica de las paredes celulares vegetales (Francoz et al., 2015).

Es reconocido que las GPX son clave en la eliminación de ROS en animales (Arthur, 2000). La familia de proteínas GPX se pueden clasificar en ocho subfamilias divididas desde GPX1 a GPX8 según su secuencia de aminoácidos, especificidades de sustrato y localización subcelular. En mamíferos GPX1-4 y GPX6 presentan selenocisteína como residuo catalítico en la reducción de H₂O₂ o hidroperóxidos orgánicos a agua o alcoholes correspondientes. Además, GPX4 también es capaz de reducir compuestos lipídicos complejos. Es la única enzima de la familia GPX que reduce y destruye directamente los hidroperóxidos lipídicos. Los sitios activos de GPX5 y GPX7-GPX8 contienen residuos de cisteína (Cys) como sitios activos. GPX5 se expresa principalmente en el tejido epididimario y desempeña un papel en la protección de los espermatozoides del estrés oxidativo. GPX7 y GPX8, están ubicadas en el retículo endoplásmico y son enzimas involucradas en el plegamiento

oxidativo de las proteínas del retículo endoplásmico. GPX8 también juega un papel importante en la regulación del Ca^{2+} en el retículo endoplásmico (Pei et al., 2023). Dada la función de GPX8 en mamíferos puede ser que en plantas este involucrada en la dinámica de apertura y cierre de estomas, una característica que las plantas de desierto usan para regular su abundancia de agua (Mohanta et al., 2024).

2.3.4 La función de GPX en la respuesta no redox del estrés

Existen escasos estudios sobre la existencia de actividad enzimática vegetales similares a las GPX animales (Holland et al., 1993; Beeor-Tzahar et al., 1995; Depege et al., 1998; Faltin et al., 1998; Herbette et al., 2002; Jung et al., 2002). Las secuencias de diversas fuentes vegetales exhiben similitud con algunas GPX animales (Holland et al., 1993; Depege et al., 1998; Roeckle-Drevet et al., 1998). La mayoría de las GPX vegetales tienen similitudes con las fosfolípido hidroperóxido glutatión peroxidasas (PHGPX) (Churin et al., 1999). Estas PHGPX se consideran la principal defensa enzimática contra la destrucción oxidativa de las membranas (Ursini y Bindoli, 1987; Brigelius-Flohe et al., 1994). Además, se ha descubierto que los niveles estables de ARNm de GPX aumentan bajo diferentes estreses ambientales (Criqui et al., 1992), tratamiento con altas concentraciones de sal y metales (Sugimoto y Sakamoto, 1997), estimulación mecánica (Depege et al., 1998), y bajo condiciones de toxicidad por aluminio (Rodríguez Milla et al., 2002). Sin embargo, las GPX vegetales tienen actividades más bajas que las de los animales porque contienen Cys en el sitio catalítico putativo en lugar de la selenocisteína típica de las GPX animales (Holland et al., 1993; Faltin et al., 1998; Herbette et al., 2002; Jung et al., 2002). Esta baja actividad ha dificultado aclarar el papel fisiológico de GPX en plantas superiores.

Existe evidencia de que las GPX también interactúan específicamente con proteínas asociadas para conferir oxidación inducida por peróxido. Por ejemplo, Delaunay et al. (2002) demostraron que GPX3 forma un complejo con el dominio del factor de transcripción de cierre (“zipper”) de leucina de activación de levadura 1 (Yap1), que es necesaria para la oxidación inducida por H_2O_2 de esta proteína en *Saccharomyces cerevisiae*. Por lo tanto, GPX3 funciona tanto en la detección como

en la eliminación de hidroperóxido. Se ha implicado al etileno en el retraso del cierre de los estomas al inhibir la vía de señalización ABA en las plantas (Tanaka et al., 2005). El receptor de etileno ETR1 de *Arabidopsis* mediaba la señalización de H₂O₂ en las células protectoras de los estomas y podría servir como sensor de H₂O₂ en células vegetales (Desikan et al., 2005). Por el contrario, la represión de la expresión de RAB18 inducida por ABA mediante el tratamiento con ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico sugiere que la señalización de etileno podría alterar el influjo de Ca²⁺ o la activación del canal aniónico tipo S aguas abajo de la señalización de ABA. Por tanto, el etileno no parece interferir con los primeros pasos de la vía de señalización de ABA (Tanaka et al., 2005). En otro estudio se relacionó la actividad de algunas GPX con la resistencia al estrés hídrico y lumínico. Emplearon TiDNA para silenciar diversos genes de GPX en *A. thaliana* (Miao et al., 2006). Se reportó que cuando silencian dos variantes de GPX3 la planta se hace más sensible al estrés hídrico y salino, exhibiendo una mayor tasa de pérdida de agua bajo estrés por sequía, mayor sensibilidad al tratamiento con H₂O₂ durante la germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas, y una mayor producción de H₂O₂ en las células protectoras. Por el contrario, las líneas diseñadas para sobreexpresar las GPX3 identificadas fueron menos sensibles al estrés por sequía que el tipo salvaje y mostraron menos pérdida de agua por transpiración, lo que resultó en una mayor temperatura de la superficie de la hoja. La mutación *gpx3* también interrumpió la activación de los canales de calcio del ácido abscísico y la expresión de genes ABA y que responden al estrés. Se encontró que GPX3 interactúa físicamente con la proteína fosfatasa de tipo 2C ABA INSENSITIVE2 (ABI2), así como en menor medida con ABI1. Además, los estados redox tanto de ATGPX3 como de ABI2 estaban regulados por H₂O₂. La actividad fosfatasa de ABI2, medida *in vitro*, se redujo aproximadamente cinco veces mediante la adición de GPX3 oxidado. La forma reducida de ABI2 se convirtió a la forma oxidada mediante la adición de GPX3 oxidado *in vitro*, que podría mediar en ABA y la señalización oxidativa. Estos resultados sugieren que GPX3 podría desempeñar funciones duales y distintivas en la homeostasis del H₂O₂, actuando como un eliminador

general y transmitiendo específicamente la señal de peróxido como un transductor de señales oxidativas en ABA y la señalización del estrés por sequía.

2.4 Modelo biológico experimental

2.4.1 Fisiología, genómica y aspectos evolutivos de las plantas del desierto

Existe un interés en conocer los aspectos biológicos de los organismos capaces de sobrevivir en ambientes extremos. Uno de estos ambientes son los desiertos o biomas desérticos. Aunque es complicado definir el ecosistema de los desiertos de manera general, existe un consenso en destacar algunas de las características comunes como zonas con poca abundancia de vida, baja precipitación pluvial, escasez de agua, nutrientes limitados en el suelo y temperaturas extremas (Mohanta et al., 2024). A pesar de la exposición a condiciones ambientales áridas más frecuentes en todo el mundo, pocas especies de plantas están equipadas con varias características genéticas únicas. Las plantas en estos ecosistemas desérticos han desarrollado fenotipos típicos, además de propiedades bioquímicas y fisiológicas para contrarrestar las condiciones tan extremas.

Morfológica y fisiológicamente, las plantas del desierto han evolucionado con adaptaciones específicas para sobrevivir en ambientes extremos. Estas adaptaciones incluyen hojas de tamaño reducido o ausentes, espinas, cutículas cerosas, hojas gruesas, parénquima acuífero (hojas o tallos suculentos), o endurecimiento de las hojas (esclerófilas), lo que les permite reducir la pérdida de agua y protegerse del exceso de radiación solar. Además, algunas plantas del desierto han desarrollado la capacidad de realizar fotosíntesis en partes no foliares, como tallos y raíces, lo que les permite aprovechar al máximo la energía solar disponible.

Su anatomía de hojas, raíces, tallos, flores, polen y frutos también ha sufrido una amplia modificación para evitar el exceso de desecación y pérdida de agua (Carvajal et al., 2017). Por ejemplo, las raíces de las plantas del desierto pueden ser más profundas y ramificadas para acceder a aguas subterráneas, mientras que las hojas pueden tener una cutícula más gruesa y una densidad de estomas reducida para minimizar la pérdida de agua.

Asimismo, las plantas del desierto desarrollan un sistema de raíces fuerte y profundo (Gremer & Venable, 2014). lo que les permite acceder a aguas subterráneas y nutrientes del suelo. A nivel bioquímico, existen variantes de fotosíntesis eficientes a través del metabolismo del ácido crasuláceo (CAM) y la ruta C4, que se caracteriza por la formación de ácido oxaloacético, el cual se reduce posteriormente a ácido málico, permitiendo a las plantas fijar el CO₂ de manera más eficiente en ambientes con baja disponibilidad de agua.

Aunque la información genómica de las especies de los desiertos es escasa, se reconoce que la secuenciación del genoma de organismos del desierto, principalmente las plantas, es clave para identificar rasgos responsables de superar la condición xerofítica (Mohanta et al., 2024). Los árboles del género *Prosopis* son un excelente modelo de estudio de las características biológicas de las formas de vida del desierto y de los mecanismos de las respuestas sistémicas de la adaptación. Aunque, recientemente se secuenció el genoma de *P. cineraria* y *P. alba* (Pruitt et al., 2014), no existe información genómica o proteómica de *P. glandulosa*.

2.4.2 *Prosopis glandulosa*

El mezquite dulce (*P. glandulosa*) es un árbol perteneciente a la familia *Leguminosae*, originario del sur de Estados Unidos y el Norte de México. Aunque se ha propagado por todo el mundo, convirtiéndose en una de las especies invasoras más comunes en zonas áridas, su presencia plantea desafíos ambientales. Puede desarrollarse como un arbusto o un árbol pequeño, alcanzando alturas de hasta 12 m en condiciones óptimas, aunque en otros entornos su crecimiento es más limitado, llegando solo a los 3 m (Lifeder & Lorena Blanco, 2023; Mónica Sánchez, 2020; Passera, 2000).

Entre sus características se encuentran una copa amplia y casi plana, un tronco corto con múltiples ramas espinosas y hojas bipinnadas con pocas pinnas que se organizan de manera opuesta, cada una con numerosos folíolos lineares u oblongos y una glándula apical.

Su corteza es marrón-grisácea, áspera y fibrosa, con fisuras o

surcos (CAB International, 2022; Lifeder & Lorena Blanco, 2023).

Aunque es nativo en ciertas regiones, el mezquite dulce se ha vuelto problemático en muchas zonas secas debido a su capacidad invasora. No obstante, en su hábitat natural, desempeña un papel crucial para las comunidades rurales, que lo utilizan para obtener madera y en la medicina tradicional (CAB International, 2022; Passera, 2000).

El mezquite dulce es una especie ideal para estudiar en el ámbito de la fisiología vegetal y la proteómica relacionada con la resistencia homeostática de las plantas.

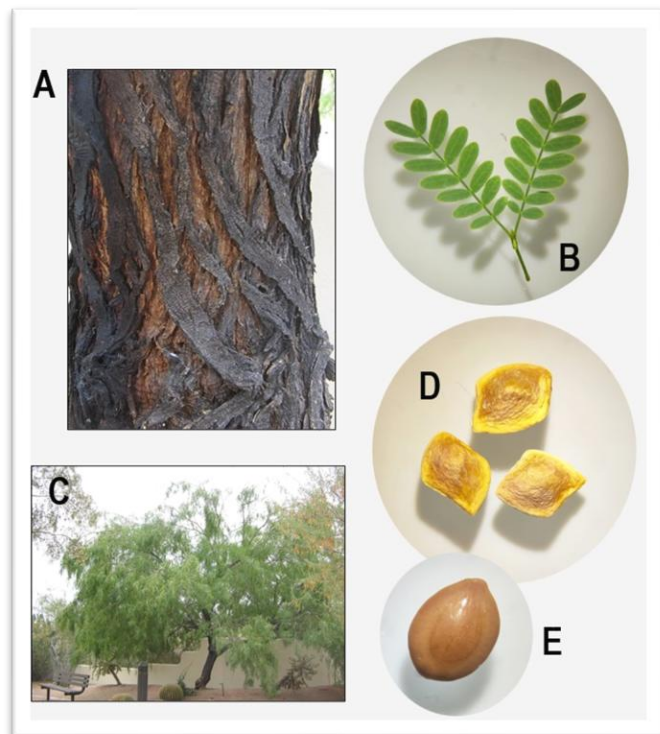


Ilustración 8 Generalidades morfológicas de la *Prosopis glandulosa*: a) Tallo, b) Hoja, c) Árbol, d) Testa y e) Semilla

Su notable adaptación a entornos adversos, como la sequía extrema, revela su capacidad única para sobrevivir y prosperar en condiciones desafiantes. La habilidad de almacenar agua en sus raíces y hojas, junto con su estructura especializada que reduce la pérdida de agua por transpiración, resalta su resiliencia ante la escasez hídrica (Antonio Munive Hernández, 2017; Sosa Pérez, s/f). Los estudios fisiológicos y proteómicos revelan información valiosa sobre los mecanismos moleculares detrás de su resistencia y adaptabilidad. Se pueden identificar proteínas clave involucradas en sus respuestas a condiciones estresantes como la sequía y su interacción con otros organismos en su entorno (Batista-Roche & Huerta-Ocampo, 2021; Blanco-Labra & Aguirre-Mancilla, 2002).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La capacidad de las plantas para resistir de manera sistémica a condiciones dinámicas adversas es fundamental para su supervivencia, productividad y reproducción. En particular, la SAR y la resistencia homeostática son mecanismos generales que permiten a las plantas adaptarse y prosperar en entornos con cambios ambientales hostiles. Aunque, las respuestas sistémicas de las plantas han sido extensamente estudiadas, no se conocen todos los detalles moleculares del inicio, establecimiento y memoria. El mezquite (*P. glandulosa L.*) es una planta conocida por su notable resistencia a condiciones ambientales adversas como son los desiertos. Condiciones que se caracterizan por tener biomas áridos, con poca precipitación anual, escasa cobertura nubosa, climas extremos con variaciones de temperatura de -20 a 60 °C, además de cambiantes en un solo día, así como de una fauna, flora y microbiota adaptada. Es por estas características que el mezquite es un modelo viable y poco estudiado en términos bioquímicos para contribuir con la comprensión de estos mecanismos de defensa vegetal.

Uno de los componentes clave en la respuesta de las plantas al estrés oxidante y de la respuesta ante patógenos es la enzima GPX. Aunque tradicionalmente se ha entendido que la GPX juega un papel en la detoxificación de ROS, recientes investigaciones han revelado que las variantes vegetales de la GPX (GPX-Like) también están involucradas en el crecimiento y la activación de la SAR, así como las GPX de mitocondria y cloroplasto: GPX3, GPX4 y GPX8. Sin embargo, la comprensión de cómo la GPX influye específicamente en los mecanismos de resistencia del mezquite es limitada.

En el presente se contribuye a entender cómo las enzimas GPX potencialmente están involucradas en los mecanismos de resistencia del mezquite. Al investigar esta relación, se espera avanzar en el conocimiento científico sobre los mecanismos de defensa vegetal y, en última instancia en un futuro, contribuir al desarrollo de cultivos más resistentes y adaptables a condiciones adversas.

4. JUSTIFICACIÓN

La SAR es un fenómeno crucial en la defensa de las plantas contra diversas condiciones de estrés. El estudio de este sistema en plantas tiene una relevancia significativa, tanto en términos de comprensión a nivel bioquímico, así como en aplicaciones prácticas para la agricultura sostenible y la mejora de cultivos. En este contexto, GPX ha emergido como un componente importante no solo en la detoxificación de las ROS sino también en procesos de señalización y regulación del crecimiento.

Recientes descubrimientos han mostrado que las variantes vegetales GPX-L, GPX3, GPX5 y GPX8 tienen funciones adicionales al crecimiento y en la activación de la SAR, más allá de su rol clásico en la oxidorreducción. Aunque, esto sugiere que la GPX participa en la respuesta adaptativa de las plantas al estrés, aún no hay evidencias concluyentes. Profundizar en esta relación permitirá entender mejor los mecanismos de defensa vegetal y desarrollar estrategias para mejorar la resistencia de las plantas a condiciones adversas (Bela et al., 2022).

El mezquite se destaca como una planta notablemente resistente a condiciones ambientales extremas. La investigación de las propiedades del mezquite en relación con la GPX puede proporcionar información valiosa sobre cómo esta enzima contribuye a la SAR y la homeostasis en condiciones de estrés (Mónica Sánchez, 2020).

Por lo anterior, este estudio se justifica en la necesidad de explorar el papel multifuncional de la GPX en la respuesta al estrés en plantas, específicamente en el mezquite.

5. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el papel de la glutatión peroxidasa (GPX) en la respuesta al estrés de germinados de mezquite (*Prosopis glandulosa*), mediante la identificación de su actividad enzimática y su relación con la resistencia sistémica adquirida (SAR), bajo condiciones de estrés hídrico-lumínico y exposición a quitosano.

4.2 Objetivos específicos

- Establecer las condiciones de estrés por la aplicación de quitosano, por limitación hídrica y lumínica.
- Relacionar la actividad de GPX en germinados de cada grupo de investigación con la SAR evidenciada por el incremento de polifenoles y cambios morfológicos.
- Identificar enzimas GPX del género *Prosopis* disponibles en las bases de datos públicas y correlacionarlos con la SAR.

5. METODOLOGIA

5.1 Preparación de los cultivos de *P. glandulosa*

5.1.1 Obtención de las semillas

Las semillas del modelo biológico *P. glandulosa* fueron obtenidas de dos fuentes para disminuir la variabilidad de colectas en diversas épocas del año y por el tiempo de almacenamiento, así como para asegurar un universo muestral representativo. En primer lugar, se realizó una obtención de semillas en arboles localizados en Ciudad Juárez, Chihuahua, México, específicamente en el Parque 4 Siglos. Este proceso se llevó a cabo utilizando una guía de identificación vegetal proporcionada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Por otro lado, una porción de las semillas fue adquirida a través de una Unidad Productora de Germoplasma Forestal (UPGF), avalada por la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). La mezcla de las semillas de ambas fuentes, producidas durante el período 2019-2020, presentan una tasa de germinación del 80% y una viabilidad del 85%.

5.1.2 Cultivo del modelo biológico

Se realizó en dos áreas del laboratorio que se adecuaron para el cultivo de las plantas en etapas la germinación y la fase de plántula. Para inducir la germinación, se utilizaron cajas de germinación equipadas con un modelo de emisión de luz LED® específico para el cultivo de interior y modulación de humedad, compuestas por cinco contenedores. Estas cajas proporcionaban una intensidad lumínica medida como la integral diaria de luz (DLI) de 2 y contenían un sustrato estéril de vermiculita.

Para el cultivo de las plántulas, se emplearon tres fuentes de luz: 2 luces GROW LIGHT Full spectrum® de 200 W y 1 iluminador LED de 2 metros colocado en la periferia de una cámara de 1.5 x 1.2 m, con un DLI de 4. Las plántulas fueron trasplantadas a macetas de plástico de 12 cm de altura, utilizando un sustrato diseñado específicamente para el cultivo de plantas de interior.

Las condiciones ambientales, como la temperatura, humedad y pH, fueron monitoreadas y controladas mediante sensores específicos ubicados cerca del área

de cultivo y en el suelo se empleó un medidor de pH. La intensidad lumínica, medida como DLI, se obtuvo mediante el software "*Photone - Grow Light Meter*", el cual permite medir la intensidad de luz utilizando la cámara de un teléfono inteligente. La temperatura se mantuvo dentro del rango óptimo para el desarrollo de los organismos (entre 21-29 °C), con una humedad relativa inferior al 30% y un pH del suelo ligeramente superior a 7. La administración de agua se llevó a cabo una vez por semana, vertiendo 70 mL de agua en cada maceta a través de un sistema de riego por goteo automatizado conectado a la fuente de agua más cercana.

El contenido de cada caja de germinación fue de 12 plántulas, multiplicado por 5 cajas, resultando en un total de 60 plántulas germinadas. En la campana, se cultivaron 30 plantas por experimento.

El tiempo estimado para la germinación de las plantas fue de aproximadamente 15 días, mientras que la fase de plántula comprendió entre 30 y 40 días, siempre y cuando se mantuvieran las condiciones óptimas de crecimiento mencionadas.

5.2 Activación de la resistencia homeostática

Con el objetivo de evaluar la potencial resistencia homeostática vegetal, se seleccionaron tres grupos de plantas, incluyendo tanto germinados como plántulas procurando mantener proporciones equitativas entre ellos. Se establecieron tres condiciones: un grupo control, un grupo sometido a estrés hídrico-lumínico (H-L) y un grupo expuesto a quitosano (EQ).

El grupo control recibió las condiciones óptimas de crecimiento bajo la premisa de evitar o disminuir el estrés. En el caso del grupo sometido a estrés H-L se redujeron en un 50% los recursos disponibles: intensidad lumínica diaria (DLI) y el suministro de agua. Finalmente, para la EQ, a los germinados se les aplicaron 0.5 mL de quitosano solubilizado (4 g/L a pH de 7.0) por individuo, mientras que para las plántulas se empleó un 1 mL por individuo, dos veces por semana durante un período de 30 días.

5.3 Análisis de fenoles libres presentes en las plantas

Los fenoles solubles totales se determinaron empleando la técnica de Folin-Ciocalteu (Muñoz-Bernal et al., 2017). Esta técnica utiliza el reactivo del mismo nombre como indicador. La solución de Folin-Ciocalteu se preparó combinando ácido fosfomolibdico y ácido fosfotúngstico con el reactivo, lo que genera un viraje de color azul por la presencia de fenoles que se puede medir a 765 nm. Se realizó una curva estándar empleando ácido gálico (2 g/L). Para la preparación de las muestras, se añadieron 150 μ L de muestra o estándar en un microtubo de 2 mL, seguidos de 600 μ L de carbonato de sodio al 7%, luego se agitó y se reposó por 2 min. Después, se agregaron 900 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu al 10%, se agitó nuevamente y la microplaca se incubó por 30 min en ausencia de luz a temperatura ambiente (25°C). Finalmente se leyó la absorbancia a 750 nm en un lector de microplaca (Thermo Scientific Multiskan FC, Waltham, Massachusetts). El análisis se realizó por triplicado y la cantidad de polifenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg EAG/g). El nivel de fenoles totales se monitoreo en tres etapas de las plantas: día 0, primera y tercera semana después del inicio del estudio de estrés. Esto permitió verificar el aumento de fenoles libres en cada etapa del estudio.

5.4 Análisis morfológico y tisular de germinados

El análisis macroscópico y celular de las plantas se llevó a cabo con el propósito de determinar el aumento en el tamaño de tejidos vegetales, con el fin de correlacionar los cambios físicos con los bioquímicos. Se midió la longitud de la raíz y la parte aérea. También, se buscó detectar un incremento en el endurecimiento de la pared celular con el uso de la tinción del azul de toluidina, para determinar el grado de endurecimiento de la pared celular por ligninas u otros compuestos. Para el análisis tisular, se realizaron cortes transversales y longitudinales del tallo, raíz y cotiledón y se observaron en campo claro en un microscopio óptico de marca VELAP, modelo VE-B1. Se capturaron imágenes y se procesaron digitalmente mediante el software IMAGE J para realizar comparaciones de tamaños entre el grado de lignificación de la pared celular (Rica Gutiérrez-Hernández et al., 2007).

5.5 Actividad enzimática de GPX total

La determinación de la actividad de GPx en las muestras de plantas en los diferentes grupos de estudio se realizó mediante el monitoreo de la reacción enzimática de reducción del peróxido de hidrógeno utilizando glutatión reducido como sustrato (BMG-LABTECH, 2024) La actividad enzimática se midió cuantificando el glutatión reducido en la mezcla de reacción mediante el uso del reactivo de Ellman, también conocido como DTNB (5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico)), que reacciona con el grupo tiol del glutatión para formar el compuesto TNB (5-tio-2-nitrobenzoato), de color amarillo.

Este método de medición se realizó de manera discontinua; es decir, la reacción se detuvo después de un tiempo de incubación con la adición de DTNB. Para evaluar la cinética de la reacción, se midieron las absorbancias del complejo TNB en intervalos de tiempo específicos a lo largo del experimento (Thermo Scientific™, 2011). La actividad de la GPX se cuantificó observando la disminución en la absorbancia del TNB, la cual corresponde a la oxidación del glutatión en el proceso enzimático. Se utilizó un espectrofotómetro (BMG Omega) para medir la absorbancia a 410 nm.

Las concentraciones utilizadas en la prueba para medir la actividad enzimática fueron las siguientes: extracto vegetal, buffer, agua, GSH, sustrato (H_2O_2 a 4.4 y 8.8 mM) e indicador (el DTNB se prepara a 0.7 mM para la siguiente prueba).

H2O	BUFFER	GSH	Extracto	DTNB	Total
127.5	37.5	25	50	10	250

Los datos de absorbancia obtenidos se usaron para calcular la concentración mM de GSH oxidado y se dividió entre el tiempo en minutos de incubación para obtener la velocidad de reacción y las unidades de actividad de GPX. Las mediciones de actividad no se realizaron después de 24 h, puesto que GPX es afectada considerablemente después de este tiempo.

5.6 Análisis electroforético de GPX

Para analizar el perfil de las proteínas presentes en los extractos de las muestras vegetales se emplearon extractos de la fracción intracelular soluble obtenidos de los diferentes grupos. Los extractos se obtuvieron mediante maceración en mortero, subsecuente sonicación (QSonica) y centrifugación (10,000 RPM) durante 7 min en amortiguador tris acetato con 10 mM de 2-mercaptoetanol. Posteriormente, las muestras se concentraron en una proporción de 1:4 y se sometieron a un proceso de desnaturalización. Se añadieron 30 μ L de amortiguador Laemmli y 70 μ L de muestra a un microtubo que se colocó en un baño maría a una temperatura cercana al punto de ebullición durante 10 min. Luego, las muestras se analizaron mediante electroforesis de poliacrilamida-bisacrilamida en condiciones desnaturalizantes SDS-PAGE, siguiendo las instrucciones del protocolo de Mini-Protean IV (BioRad®). Los geles se tiñeron por el método de Coomassie BR y se analizaron con Image J en donde se realizó una cuantificación de densitometría en la zona de bandas de un peso molecular de 19-23 kDa (Calle Luna et al., 2010).

Con el fin de realizar comparaciones relativas se consideraron dos tipos de bandas entre las muestras: las constitutivas y las variables. En particular, se empleó la banda que corresponde al peso de la enzima GPX.

5.7 Análisis bioinformático de las enzimas GPX del género *Prosopis*

Se realizó una búsqueda en la literatura de las enzimas GPX involucradas en la SAR de *A. taliana*, un modelo vegetal ampliamente estudiado durante el estrés y su papel en el desarrollo y adaptación. Se identificaron las isoenzimas 3, 8 y GPX-L. se seleccionó la secuencia de la isoforma GPX-3 de *A. taliana* (O22850 GPX3_ARATH, código de Uniprot) como secuencia de búsqueda en un blasp P en la base de datos NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>). Esta GPX esta anotada como una isoforma mitocondrial y está implicada en la resistencia sistémica de factores de estrés abióticos, específicamente en el hídrico. La búsqueda se realizó en la base de datos de secuencias de proteínas no redundantes de los proyectos de los genomas parcialmente ensamblados de *P. alba* y *P. cinerara*.

Se seleccionaron secuencias de GPX obtenidas en la búsqueda y se usaron para detectar péptidos señales de tránsito celular empleando el servidor “*LOCALIZER: subcellular localization prediction of plant and effector proteins in the plant cell*” (<https://localizer.csiro.au/>). En este análisis se indentificaron rasgos de secuencia que den cuenta con su localización subcelular en cloroplasto, mitocondria y/o núcleo. Este análisis se empleó para seleccionar una potencial isoforma de mitocondría y otra de cloroplasto para realizar los análisis bioinformáticos posteriores.

Con las secuencias de GPX de *Prosopis* se generaron modelos tridimensionales por homología de secuencia empleando el servidor Swiss Modeler (<https://swissmodel.expasy.org/>). Los modelos se generaron usando el homologo con más porcentaje de identidad disponible en el PDB y que tuviera una calidad de validación interna adecuada. Los modelos se emplearon para realizar un estudio comparativo a nivel de estructura tridimensional, estado oligómero y potencial interacción con fenoles, fitohormonas y proteínas relacionadas al control de la respuesta sistémica.

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Análisis de polifenoles Libres

Para identificar si los grupos de germinados se sometían a condiciones de estrés distintos a lo largo del tiempo, se optó por el análisis de fenoles totales. Este análisis es un indicador directo del estrés crónico en las plantas, ya que niveles elevados de polifenoles están asociados con respuestas adaptativas al estrés biótico y abiótico (Vázquez de Aldana et al., 2012).

Los niveles de polifenoles libres totales en los germinados de mezquite mostraron variaciones significativas según los grupos de inducción de estrés y los tiempos de crecimiento evaluados (Ilustración 9). En general, se observó un incremento en la concentración de fenoles totales con el tiempo en todos los grupos, siendo más pronunciado en las plántulas sometidas a estrés H-L.

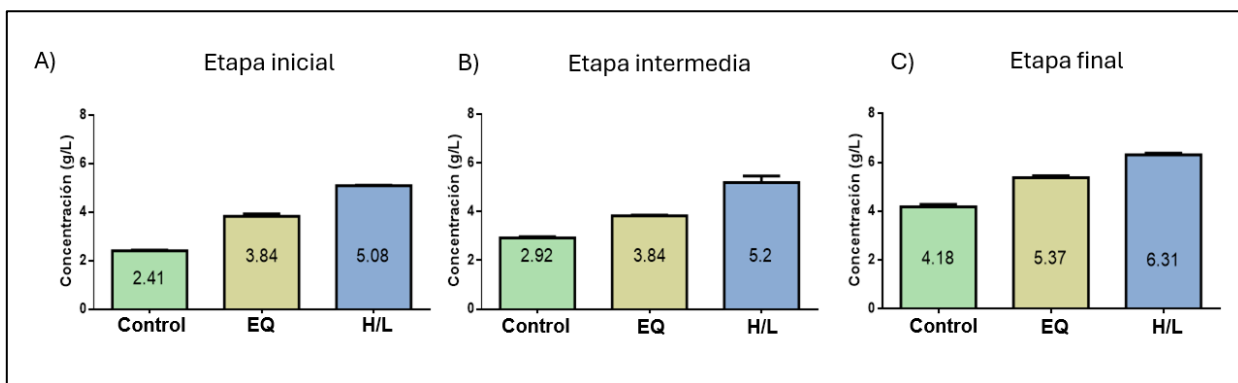


Ilustración 9 Niveles de fenoles libres en germinados de Mezquite según la prueba de Folin. Se muestra la concentración de fenoles (g/L) en tres tiempos de muestreo: (a) una semana, (b) dos semanas, y (c) tres semanas después del sometimiento a distintas condiciones experimentales: un grupo control y dos tratamientos: estrés hídrico/lumínico (H-L) y exposición a quitosano (EQ). Los valores de concentración se presentan en barras de color verde para el grupo control, amarillo para el tratamiento con quitosano y azul para el tratamiento con estrés.

Aunque en el grupo control los niveles de fenoles incrementaron con el tiempo de germinación, su cambio a lo largo de las tres semanas de evaluación no fue comparable con los grupos de estrés. Por el contrario, los grupos de estrés H-L y de EQ mostraron un aumento progresivo mayor. El grupo de estrés H-L registró los niveles más altos, alcanzando valores máximos a las tres semanas.

Este incremento de fenoles en los grupos experimentales sugiere una respuesta adaptativa al estrés, consistente con reportes previos que asocian el estrés abiótico

con la acumulación de compuestos fenólicos como mecanismo de defensa (Julia del Socorro Cano Sosa, 2022; ScienceDirect, 2010).

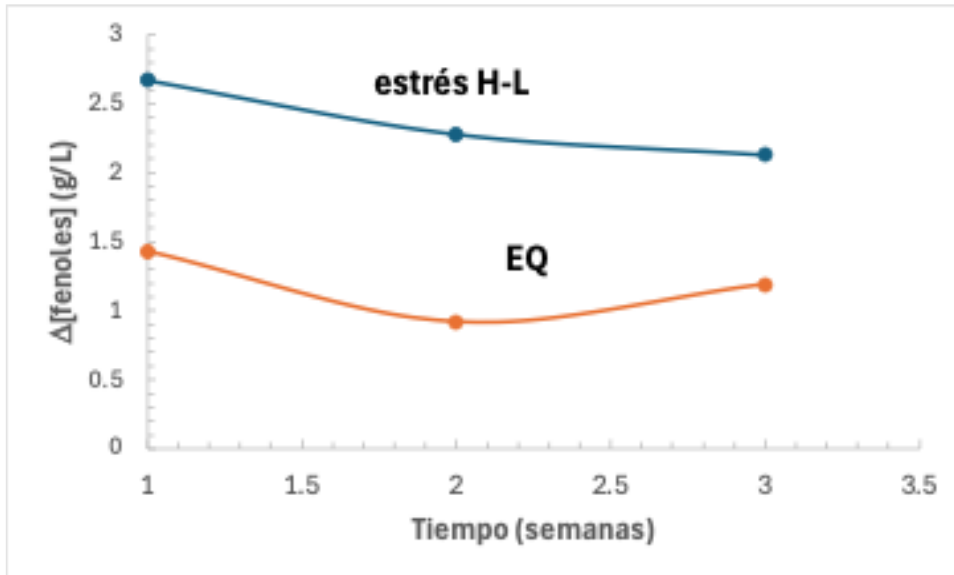


Ilustración 10 Gráfico de los cambios relativos tras la exposición de mezquite a estrés. Las diferencias representan los cambios en los niveles de fenoles libres en germinados corregidos sustrayendo los niveles observados en el grupo control. Se muestra la concentración de fenoles (g/L) en tres tiempos de muestreo: una semana, dos semanas, y tres semanas después del sometimiento a estrés H-L y EQ.

En el caso de estrés H-L la concentración relativa de fenoles disminuye a medida que la planta crece, en contraste con la exposición a quitosano muestra que en la tercera semana se observa una segunda etapa de aumento en la producción de fenoles. Al parecer la EQ produce una respuesta a un nivel distinto que la respuesta por el estrés H-L. Esto es consistente con una SAR de mayor profundidad. Esta potencial respuesta debe investigarse en un futuro en termino de las respuestas poblacionales, comunitarias o de memoria inmunológica, mediante el monitoreo de marcadores moleculares específicos hormonales y proteicos, no sólo mediante el monitoreo de fenoles.

6.2 El análisis morfológico

El análisis morfológico es una herramienta clave para evaluar cómo las plantas responden al estrés abiótico y biótico. En este caso, se midió la longitud de las raíces y los tallos como indicadores de biomasa y capacidad adaptativa, permitiendo entender las diferencias entre los grupos.

Se examinaron las variaciones en la longitud de las raíces y los tallos, calculando un promedio de ambas como un indicador del aumento de biomasa (Ilustración 11). Esta metodología permitió evaluar el crecimiento vegetal, entendido como el aumento en longitud de las raíces y tallos, sin depender de las mediciones de peso que pueden estar influenciadas por el contenido de agua (Buxbaum et al., 2022; Roberts et al., 1985); Cabe destacar que, en este análisis, el crecimiento se considera como un parámetro de incremento estructural y no necesariamente un indicador de desarrollo funcional, que implica cambios cualitativos más complejos en la planta.

Los datos muestran un patrón claro en la respuesta de crecimiento en función de los grupos experimentales. El grupo con EQ presentó un incremento significativo en el tamaño del germinado, especialmente en el tallo, donde el efecto parece ser más pronunciado. Este comportamiento sugiere que el quitosano podría actuar como promotor de crecimiento en las partes aéreas, posiblemente debido a una activación de mecanismos de defensa inducidos que favorecen la elongación (Higinio Ruiz Espinoza et al., 2021).

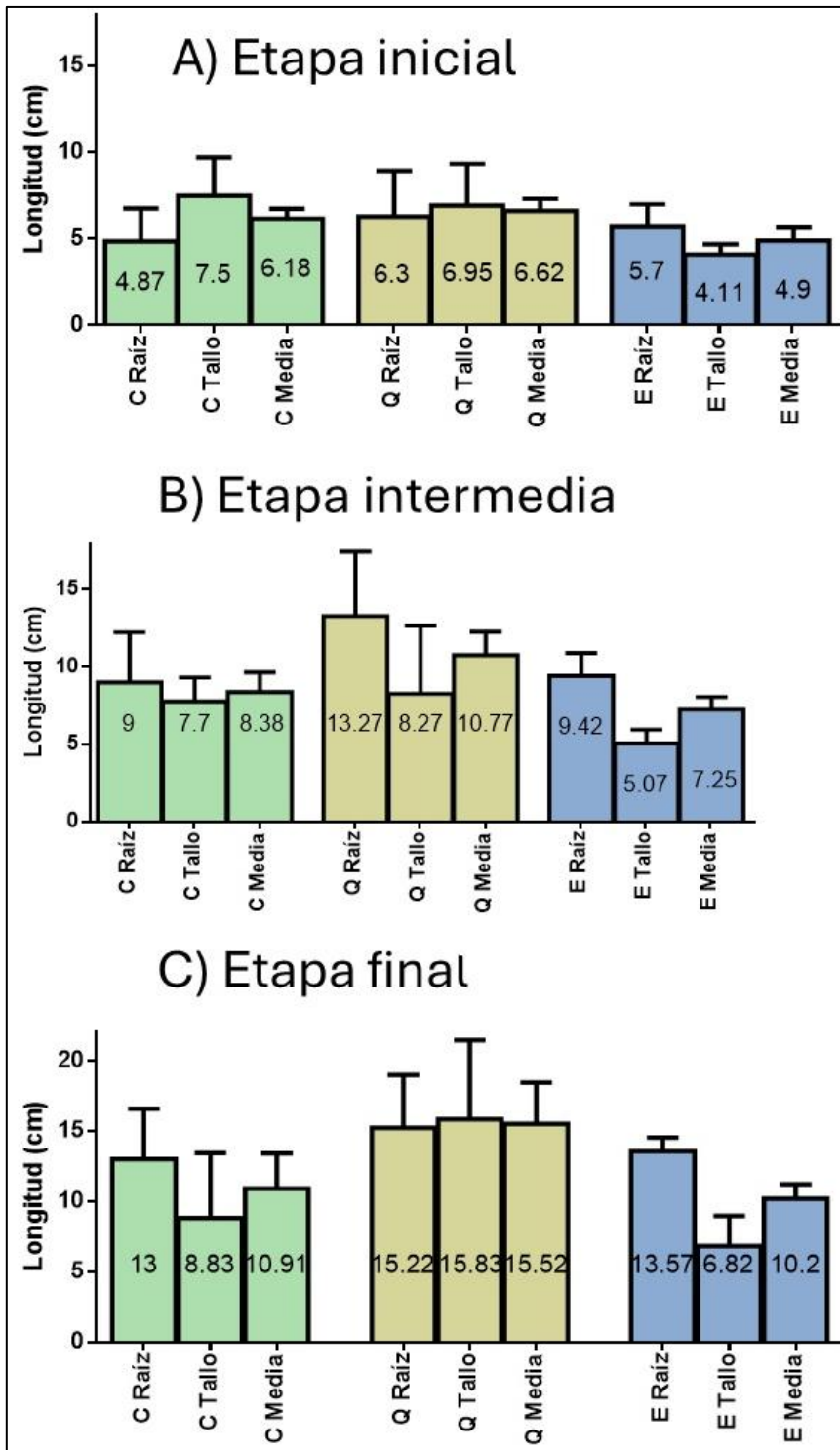


Ilustración 11. Crecimiento de germinados de mezquite sometidos a los diferentes grupos. Las mediciones de longitud son en cm en tres tiempos de muestreo: (a) una semana, (b) dos semanas, y (c) tres semanas tras el sometimiento a estrés H-L y EQ. Cada grupo se compone de tres barras que representan el crecimiento de raíz, tallo y promedio de ambas partes (como estimación de biomasa). Los colores indican los grupos: verde para el grupo control, amarillo para el grupo con quitosano, y azul para el grupo H/L.

En contraste, los germinados sometidos a estrés H-L mostraron un desarrollo diferencial, particularmente en las raíces. Durante el periodo de evaluación, se observó un mayor desarrollo en las raíces primarias y secundarias, indicando una posible adaptación para optimizar la captación de agua y nutrientes en condiciones de limitación. Este crecimiento priorizado en las raíces resalta un mecanismo de resiliencia frente a condiciones adversas como la deshidratación (Mohanta et al., 2024).

Resumen de diferencias entre tamaño entre quitosano y demás grupos

Parámetro	Comparación entre grupos	% de incremento de biomasa
Raíz	Control vs. EQ	47.50
	H-L vs. EQ	40.80
Tallo	Control vs. EQ	21.20
	H-L vs. EQ	63.30
Biomasa relativa	Control vs. EQ	36.10
	H-L vs. EQ	48.70

Tabla 2 diferencias porcentuales en el crecimiento de raíces, tallos y biomasa relativa entre los grupos experimentales, con énfasis en las comparaciones del grupo control y el tratamiento con quitosano frente a las condiciones de estrés hídrico-lumínico. (Semana 4) El grupo con más biomasa fue el EQ por lo tanto se usó para sustraerle el valor de la del grupo que se usó para comparar: % Incremento = biomasa EQ- biomasa grupo a comparar

Estos resultados destacan las diferencias significativas en la respuesta de crecimiento entre los grupos experimentales, subrayando el potencial del quitosano como promotor de crecimiento y la capacidad adaptativa de los germinados bajo condiciones de estrés.

6.3 Endurecimiento de tejidos

Se analizó la influencia de las condiciones de estrés sobre la morfología de las plantas a nivel macroscópico y específico en tallos y raíces (Ilustración 12). Este análisis proporciona información sobre los mecanismos de adaptación a condiciones adversas a nivel de la planta completa (Ilustración 13) y cambios fisiológicos locales (Ilustración 14).

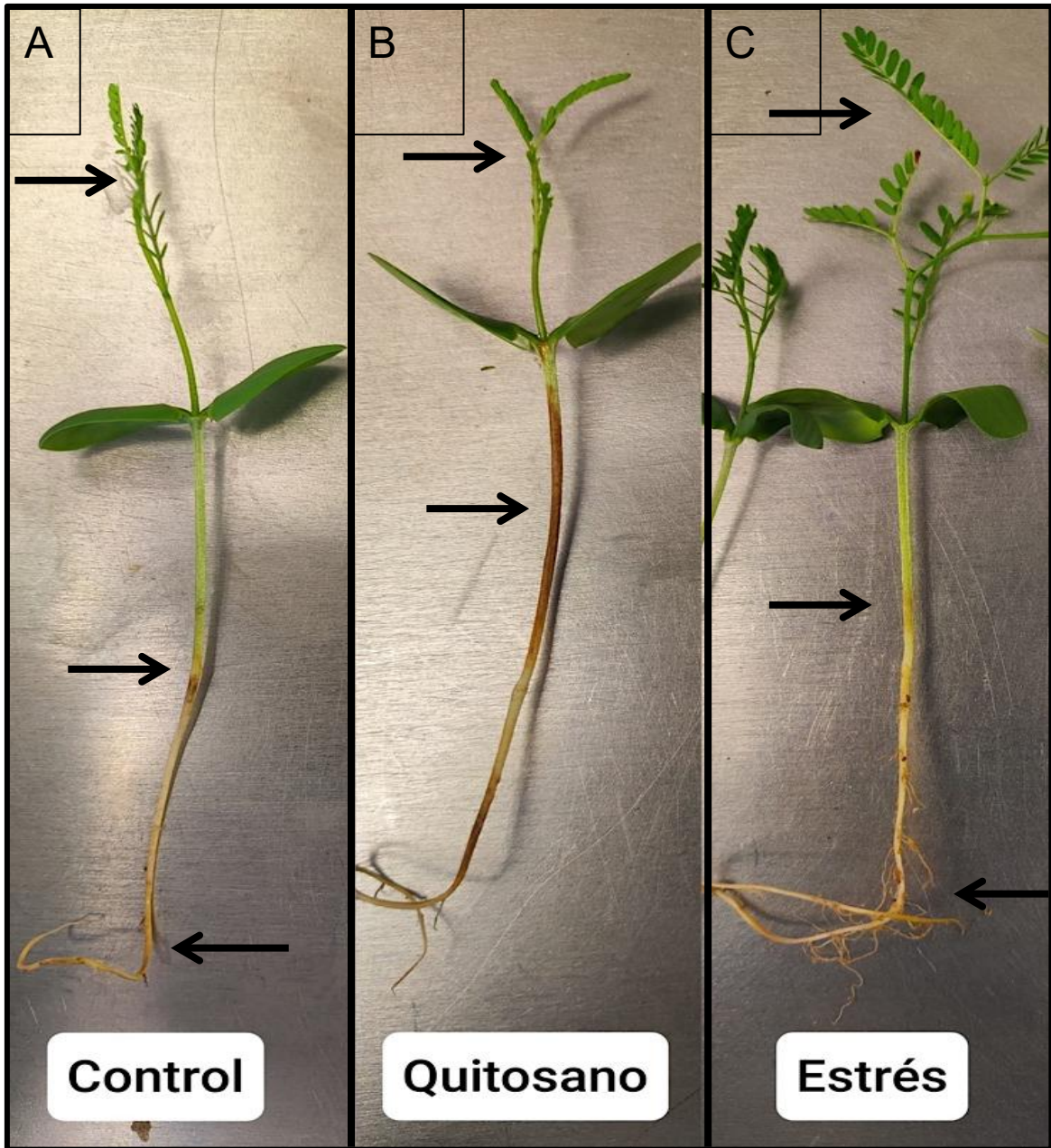


Ilustración 11 fotografías de germinados de mezquite bajo tres grupos experimentales: control (a), quitosano (b) y H/L (c) , donde se observan diferencias morfológicas evidentes entre los tres grupos, tanto en la parte aérea como en la radicular.

Los grupos de EQ y H-L evidencian un endurecimiento visible de los tejidos en comparación con el grupo control, el cual mantiene una apariencia más flexible y menos signos de rigidez. En el grupo EQ, el endurecimiento de los tejidos puede asociarse a una respuesta de defensa inducida por el elicitor, mientras que en el

grupo estrés H-L, el endurecimiento se presenta como una respuesta adaptativa ante condiciones ambientales adversas.

Se identificó que los folíolos de las plantas del grupo estrés H-L presentan una textura más rígida y una "taxia" sensible al tacto, sugiriendo un posible mecanismo de adaptación para reducir la pérdida de agua o protegerse de daños mecánicos. También se observan que las hojas se encuentran más grandes y extendidas. Las Hojas más grandes y extendidas pueden ser parte de la respuesta de adaptación a condiciones de luz limitadas en el estrés lumínico. En contraste, los folíolos de los grupos control y EQ no exhiben esta respuesta táctil y no muestran afectaciones físicas, lo que podría indicar que el quitosano, aunque endurece los tejidos, no induce el mismo nivel de respuesta de protección frente al estrés H-L. Cabe señalar que, si bien las diferencias morfológicas son perceptibles a simple vista, una caracterización detallada del tipo y extensión del endurecimiento requiere pruebas histológicas adicionales en futuros estudios.

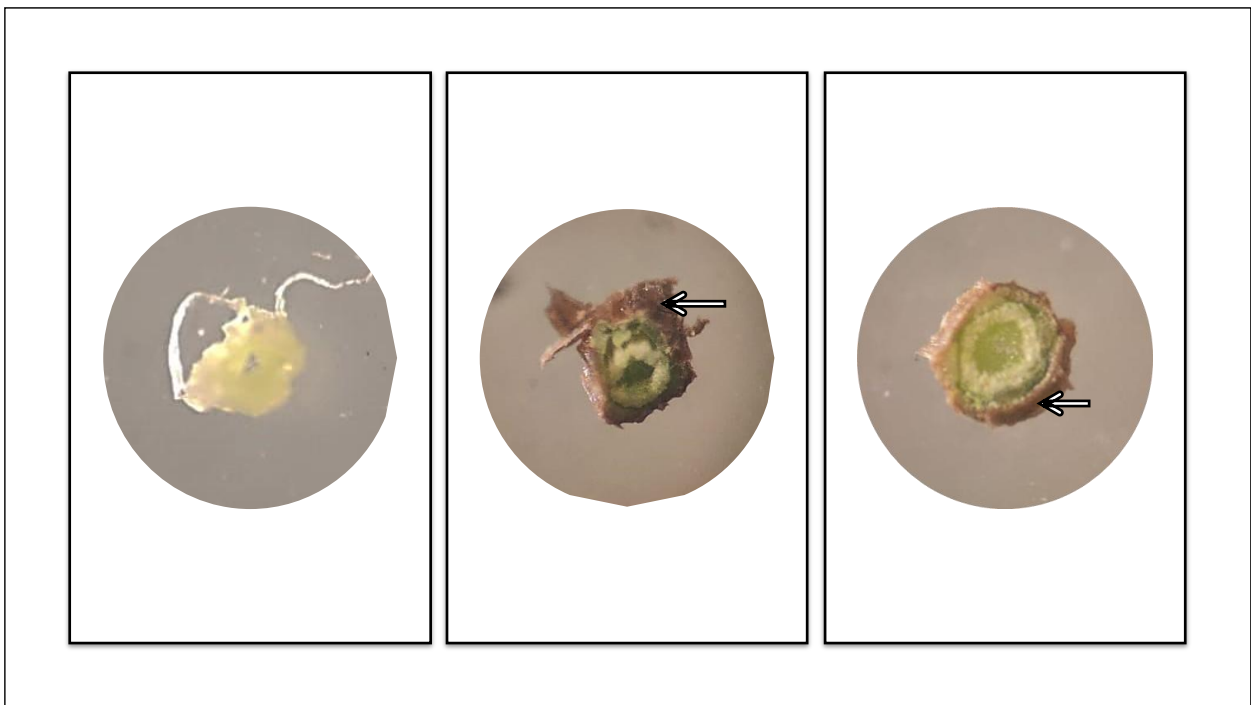


Ilustración 12 cortes histológicos transversales del tallo en germinados de mezquite de los grupos: control (a), exposición a quitosano (b) estrés H-L (c).

Los cortes histológicos transversales del tallo en germinados de mezquite bajo tres grupos experimentales: control (a), quitosano (b) y grupo H/L (c). El corte del grupo control (a) exhibe un tejido de textura flexible y de color verde claro, sin signos de endurecimiento, lo que indica un desarrollo normal en ausencia de estresores (Alenazi et al., 2024; Asaf et al., 2020; Higinio Ruiz Espinoza et al., 2021; Mohanta et al., 2024).

El corte del grupo de EQ (b) evidencia signos de endurecimiento en su estructura, manifestándose como un cambio de coloración de verde claro a un tono pardo, particularmente en la parte externa del órgano. Esta modificación sugiere un proceso de lignificación o acumulación de compuestos de defensa en la periferia del tallo, posiblemente debido a la acción del quitosano como elicitador de respuestas de defensa.

Por su parte, el corte del grupo estrés H-L (c) presenta un endurecimiento similar al observado en el grupo EQ, aunque con una coloración menos intensa. La rigidez de los tejidos en este grupo, en comparación con el control, indica una adaptación estructural ante las condiciones de estrés H-L, posiblemente para mejorar la resistencia mecánica y reducir la transpiración en un entorno hostil (Chen et al., 2022; Francoz et al., 2015).

Los grupos EQ y H-L muestran un endurecimiento del tallo que, aunque similar en apariencia, podría originarse de mecanismos de respuesta fisiológicos distintos: uno inducido por el quitosano como respuesta de defensa, y el otro como una respuesta adaptativa al estrés ambiental. La menor intensidad de coloración parda en el grupo estrés H-L podría indicar diferencias en el tipo o concentración de compuestos de lignificación, aspecto que requeriría evaluación mediante análisis químicos complementarios.

6.4 Relación entre fenoles libres y cambio morfológicos

Durante el estudio, se observaron cambios bioquímicos y morfológicos en los germinados de mezquite en respuesta a los tratamientos aplicados. Estos cambios incluyeron incrementos en la concentración de fenoles libres y modificaciones en la longitud de tallos y raíces, así como en la estructura de los tejidos. La correlación

entre la concentración de fenoles y los cambios morfológicos fue positiva en los grupos tratados con EQ, donde el quitosano, como elicitador, promovió un aumento significativo de fenoles libres, coincidiendo con un mayor crecimiento en longitud de raíces y tallos y un endurecimiento visible de los tejidos. Este comportamiento sugiere que el quitosano podría inducir respuestas adaptativas que favorecen tanto la acumulación de metabolitos secundarios como el cambio estructural, similar a lo reportado en otros sistemas vegetales (Marina et al., 2008; Vázquez de Aldana et al., 2012).

En contraste, en los grupos sometidos a estrés hídrico-lumínico (H-L), la relación entre fenoles libres y cambios morfológicos presentó una dinámica distinta. Durante las primeras etapas del experimento, se observó un aumento en la concentración de fenoles libres junto con una reducción en el tamaño de las raíces, lo que podría indicar una estrategia de adaptación inicial frente al estrés, posiblemente para priorizar la captación de agua mediante capilaridad. Sin embargo, en etapas posteriores, el tamaño del tallo se incrementó progresivamente hasta asemejarse al grupo control, evidenciando un proceso de adaptación tardío (Carvajal et al., 2017; Kou et al., 2022; Mohanta et al., 2024).

Por último, el endurecimiento de los tejidos, observado mediante análisis histológicos, mostró una respuesta positiva tanto en los grupos EQ como en los sometidos a H-L, con estructuras más gruesas y compactas en comparación con el control. Este fenómeno podría formar parte de una respuesta adaptativa integral, donde los cambios bioquímicos y morfológicos interactúan para optimizar la resistencia de los germinados de mezquite bajo condiciones adversas (Bhuiyan et al., 2009).

6.5 Actividad de GPX

Se detectó la presencia de enzimas GPX monitoreando la actividad de GSH peroxidasa en los extractos solubles de mezquite libres de células. La cuantificación de GPX se realizó en la tercera semana de exposición a estrés, lo que refleja el contenido de GPX en condiciones de estrés crónico. Se realizaron pruebas de los ensayos de actividad para establecer las condiciones óptimas de detección. Se

encontró que el tiempo óptimo para monitorear la actividad es de menos 60 segundos de la reacción. Con respecto al grupo control se observó que las plantas EQ presentaron una mayor actividad, seguido por el grupo de estrés H-L. Es importante destacar que los fenoles presentes en las plantas pueden causar interferencias durante una medición enzimática específica, como se menciona en estudios previos (Borràs VallverdúBernat, 2018; Reyes-Morales et al., 2023).

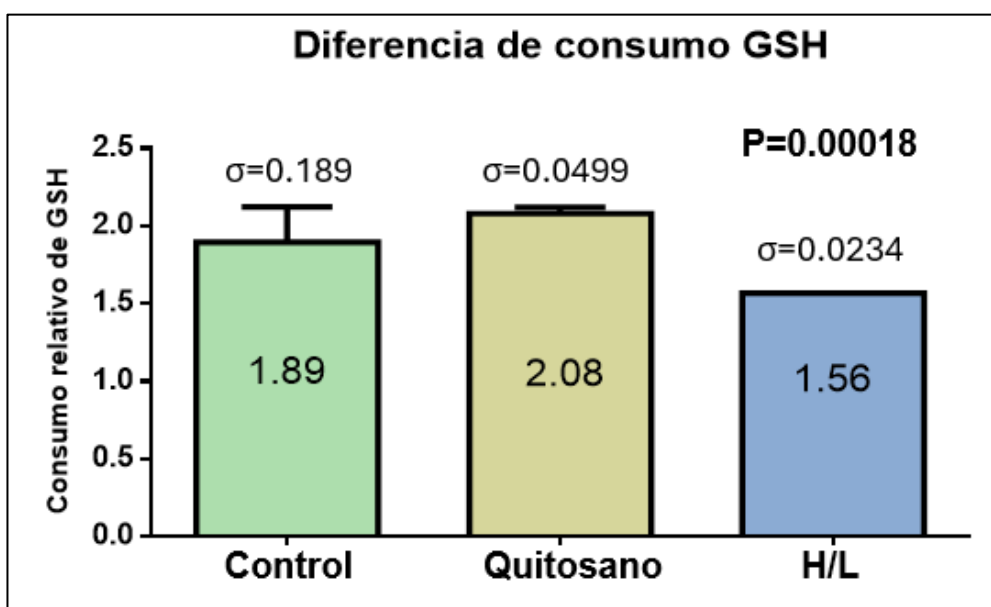


Ilustración 13 Grafico de diferencias en la Absorbancia del Reactivo de Ellman en Extractos de Glutatión Peroxidasa (GPX) de los Grupos Control, Quitosano y H/L

Se muestra la diferencia en la absorbancia inicial y final ($\Delta D.O$) en los extractos de proteína total solubles de GPX correspondientes a los tres grupos: control, estrés H-L y EQ. Se registraron diferencias en la actividad de GPX entre los grupos. Aunque, la EQ mostró la mayor actividad de GPX sólo se observó un incremento del consumo de GSH en un 9.47 % en comparación con el grupo control, lo que sugiere una respuesta adaptativa menor o estabilizada. En contraste, el grupo sometido a estrés mostró una disminución del 17.37 % en el consumo de GSH frente al control, indicando una menor actividad de GPX y una probable reducción en la capacidad antioxidante bajo condiciones de estrés hídrico/lumínico o bien el establecimiento de sensibilización al estrés o adaptación sistémica. Para corroborar

el mecanismo y papel de GPX en mesquite durante la germinación frente al estrés es necesario realizar una cinética de expresión de GPX en más intervalos de tiempo de exposición en las etapas agudas y crónicas. Este monitoreo se puede hacer con herramientas de identificación molecular específicas de isoforma y localización celular. El desarrollo de estas herramientas de detección requiere tener información estructural de las diversas GPX. Aunque no existe información de las GPXs de *P. glandulosa* si hay información de otras especies de *Prosopis*.

El efecto del aumento en la actividad de GPX puede estar relacionado con la capacidad de los elicitores, como el quitosano, para inducir cambios bioquímicos y morfológicos en las plantas. Se sabe que los elicitores promueven un aumento en la síntesis de fenoles y la expresión de proteínas relacionadas con la patogénesis, algunas de las cuales incluyen peroxidasas (Bhuiyan et al., 2009; Francoz et al., 2015). Este incremento en los fenoles y en proteínas de defensa podría estar contribuyendo a la mejora en la actividad de GPX observada en la EQ, reforzando la capacidad de la planta para enfrentar el estrés oxidativo (Asaf et al., 2020; F.A.O, 2000; Kou et al., 2022).

En el grupo de estrés H-L, la reducción en la actividad de GPX podría deberse a la acumulación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) o al agotamiento de los recursos necesarios para mantener una respuesta antioxidante adecuada. Esta disminución en el consumo de GSH puede implicar que, bajo condiciones de estrés sostenido, la actividad de GPX no es suficiente para contrarrestar el daño oxidativo, afectando potencialmente el crecimiento y la salud de la planta. La disminución de GPX en la etapa previa al inicio de la etapa de plántula a planta se puede deber a una sensibilización al estrés o al establecimiento de un mecanismo de resistencia sostenida (Alenazi et al., 2024; Chen et al., 2022; Movahedi et al., 2024; Rasheed et al., 2022).

6.6 Patrón de expresión de proteínas

Para obtener información del patrón de expresión de GPX en las plántulas de mezquite sometidas a estrés H-L y EQ se analizaron las fracciones proteicas de los extractos mediante SDS-PAGE (Ilustración 16). Para realizar una comparación

relativa entre el control y otros grupos se realizó un análisis por densitometría de las bandas atribuidas a proteínas que se expresan de manera constitutivas como la enzima RUBISCO y las bandas que cambian su expresión. La banda constitutiva utilizada fue la que corresponde a 55 kDa, la cual, según la literatura corresponde a la RUBISCO, una enzima clave en el metabolismo primario de la fotosíntesis. Su presencia en los organismos fotosintéticos y su importancia en la producción de biomasa la convierten en una elección común como proteína de referencia en estudios de densitometría de proteínas (Erb & Zarzycki, 2018; Prywes et al., 2023). Para la determinación de la proteína de interés, se consultó la base de datos Protein Data Bank (PDB) para obtener la masa en kDa y la cantidad de aminoácidos de las proteínas glutatión peroxidasas en plantas leguminosas (*Fabaceae*). Se calculó una masa promedio de 21 kDa (Tabla 4).

Especie	Promedio Número de Aminoácidos	Promedio Peso Molecular (Da)	Promedio pI Teórico
<i>Medicago truncatula</i>	195	21834.75	7.85
<i>Senna tora</i>	194.33	21654.14	8.64
<i>Cajanus cajan</i>	198	22170.96	8.17
<i>Pisum sativum</i>	173.75	19575.7	8.77
<i>Cicer arietinum</i>	195.14	21877.84	8.54
<i>Glycine max</i>	169.29	18971.96	7.88
Promedio Total	187.62	21050	8.18

Tabla 3 Promedio de aminoácidos, peso molecular y pI teórico para varias GPX de especies de plantas leguminosas.

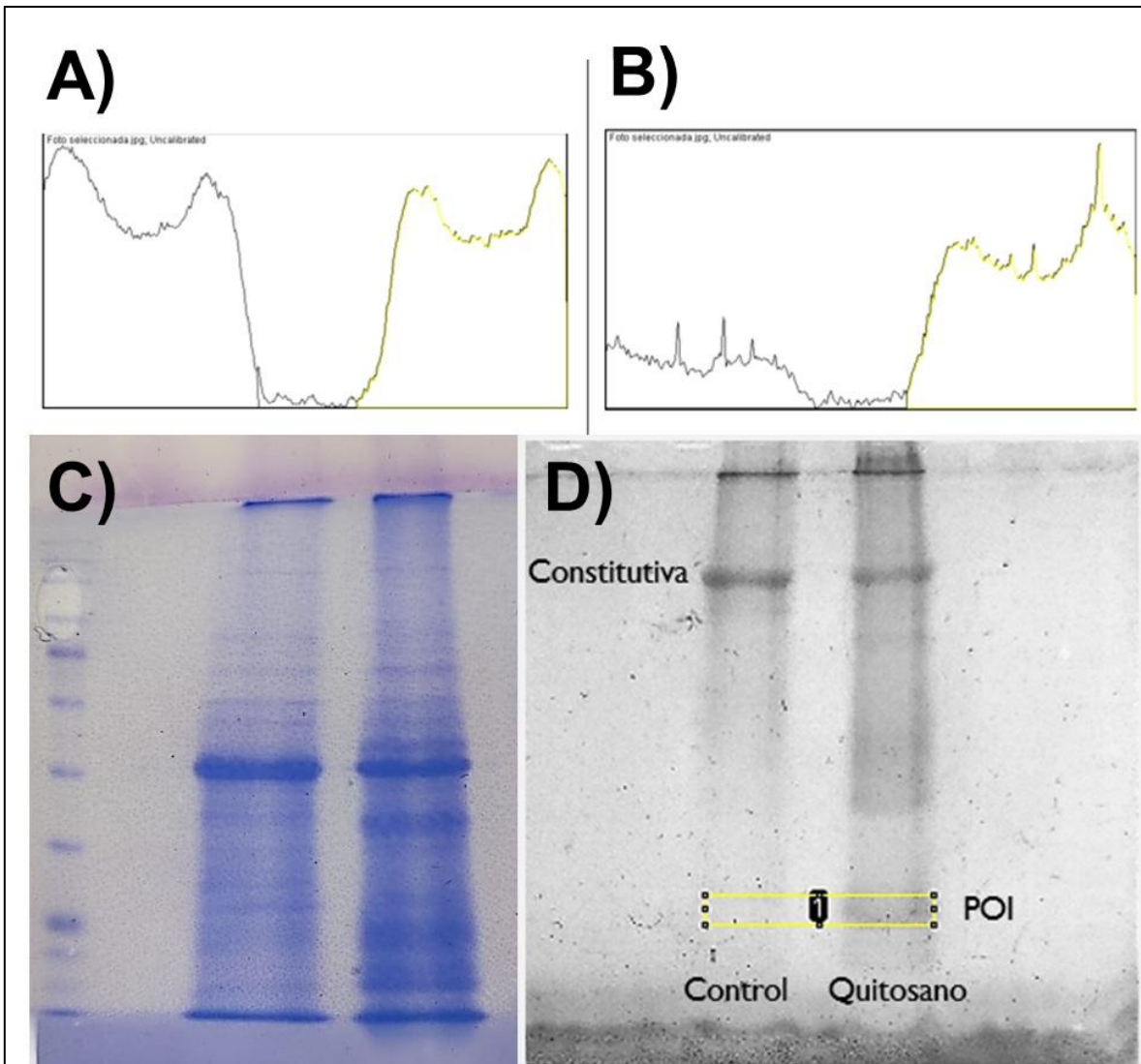


Ilustración 14 Cuantificación de Proteínas en Gel mediante Curvas Densitométricas

La Ilustración 16 presenta el análisis densitométrico de proteínas en gel para evaluar la expresión diferencial de proteínas bajo tratamiento con quitosano en comparación con un control.

A) Curva densitométrica generada mediante IMAGE J, que analiza las bandas constitutivas. Estas bandas corresponden a proteínas cuya expresión no se altera con el tratamiento y que se utilizan como referencia para normalizar la cuantificación de las proteínas de interés (POI), minimizando errores asociados a variaciones experimentales.

B) Curva densitométrica centrada en las POI, específicamente proteínas con un peso molecular aproximado al de GPX. Este análisis compara el área de las bandas correspondientes entre las condiciones control y tratadas con quitosano, para determinar si este tratamiento induce sobreexpresión de las POI.

C) Imagen del gel original teñido, donde se visualizan las bandas tras la electroforesis, sirviendo como referencia inicial del patrón de expresión proteica.

D) Versión procesada del gel en escala de grises, etiquetando los grupos Control y Quitosano. En esta imagen se destacan las bandas constitutivas y las POI, lo que facilita un análisis densitométrico preciso para comparar cuantitativamente la expresión proteica entre las condiciones experimentales.

Se consideró esta diferencia para interpretar el aumento en la banda de la proteína de interés (POI) del mismo grupo, garantizando que los resultados no estuvieran influenciados por una dilución al cargar las muestras en los geles (Alonso Villela et al., 2020).

El análisis de la POI reveló un incremento significativo del 358% en las muestras tratadas con quitosano en comparación con el control, ya corregido el efecto de dilución. Este aumento en proteínas específicas sugiere que el tratamiento con quitosano pudo activar mecanismos de resistencia en la planta, probablemente asociados a una respuesta de defensa ante el elicitador. En efecto, el incremento observado se alinea con la hipótesis de que el quitosano fomenta una activación de la resistencia sistémica vegetal, lo cual es consistente con estudios previos que documentan la capacidad del quitosano para inducir respuestas de defensa en diferentes especies vegetales (Alonso Villela et al., 2020; Calle Luna et al., 2010)..

En cuanto a la banda constitutiva de rubisco, considerada esencial para la fotosíntesis, se observó una disminución general en las plantas sometidas a estrés lumínico e hídrico, reflejada en la menor densidad de esta banda en los geles. Esto se asocia con la reducción de luz disponible para la planta, elemento clave en el proceso fotosintético. La alteración de rubisco en el tratamiento de estrés sugiere una menor capacidad fotosintética, modulada en parte por la molécula CA1P (2-

carboxy-d-arabinitol 1-phosphate), cuya función es regular la actividad de rubisco en respuesta a cambios ambientales como la luz y la disponibilidad de agua (Carmo-Silva & Sharwood, 2023) La reducción en los niveles de rubisco podría, por lo tanto, influir en el metabolismo primario de la planta, limitando el crecimiento en condiciones de estrés prolongado (Alonso Villela et al., 2020; Carmo-Silva & Sharwood, 2023; Erb & Zarzycki, 2018; Prywes et al., 2023).

6.7 Análisis integrado de patrones densitométricos y respuestas morfofisiológicas durante la adaptación vegetal

El aumento de las proteínas de interés (POI) en el grupo tratado con quitosano se correlaciona con el crecimiento radicular y aéreo de las plantas. Este aumento parece vinculado a un incremento en los fenoles libres, compuestos asociados con mecanismos de respuesta al estrés y adaptación fisiológica. En contraste, el grupo H/L mostró una adaptación progresiva, con un aumento lento en las proteínas totales y una disminución relativa de los fenoles libres, lo que sugiere un proceso de adaptación gradual.

El análisis de la actividad enzimática de GPX mostró una disminución en el grupo de estrés y un aumento en el grupo tratado con quitosano, comparado con el control. Esto indica que el quitosano podría estar promoviendo una respuesta antioxidante, favoreciendo la adaptación de la planta ante condiciones adversas. Sin embargo, el aumento en GPX en el grupo H/L podría manifestarse en etapas posteriores, conforme las plantas se adapten a las condiciones de estrés lumínico y hídrico (Alenazi et al., 2024; Alonso Villela et al., 2020; Asaf et al., 2020; Kou et al., 2022; Mohanta et al., 2024).

6.8 Análisis Bioinformático de las Isoformas de Glutación Peroxidasa en genero *Prosopis*

El aumento de las proteínas de interés (POI) en el grupo tratado con quitosano se correlaciona con el crecimiento radicular y aéreo de las plantas. Este aumento parece vinculado a un incremento en los fenoles libres, compuestos asociados con mecanismos de respuesta al estrés y adaptación fisiológica. En contraste, el grupo H/L mostró una adaptación progresiva, con un aumento lento en las proteínas

totales y una disminución relativa de los fenoles libres, lo que sugiere un proceso de adaptación gradual.

El análisis de la actividad enzimática de GPX mostró una disminución en el grupo de estrés y un aumento en el grupo tratado con quitosano, comparado con el control. Esto indica que el quitosano podría estar promoviendo una respuesta antioxidante, favoreciendo la adaptación de la planta ante condiciones adversas. Sin embargo, el aumento en GPX en el grupo H/L podría manifestarse en etapas posteriores, conforme las plantas se adapten a las condiciones de estrés lumínico y hídrico (Alenazi et al., 2024; Alonso-Villela et al., 2020; Asaf et al., 2020; Kou et al., 2022; Mohanta et al., 2024).

6.8 Análisis Bioinformático de las Isoformas de Glutación Peroxidasa en genero *Prosopis*

El género *Prosopis*, conocido por su alta tolerancia a las condiciones extremas de los biomas desérticos, ofrece un modelo interesante para explorar la diversidad funcional de las isoformas de GPx. No existe información genómica, ni proteómica de *P. glandulosa*. Para obtener información de las GPXs del género *Prosopis* se realizó una búsqueda y análisis de las secuencias de GPX en los genomas de *P. alba* y *P. cineraria*. Aunque no hay información bioquímica de las enzimas que representan las secuencias de *Prosopis*, usamos herramientas bioinformáticas para conocer sus principales propiedades fisicoquímicas. Las dos plantas *Prosopis* secuenciadas presentan características similares a *P. glandulosa* (Cuadro 3).

Característica	<i>P. glandulosa</i>	<i>P. alba</i>	<i>P. cineraria</i>
Distribución	América del Norte: suroeste de EE. UU., norte de México	Sudamérica: Argentina, Bolivia, Paraguay, Perú, Chile	Asia: Afganistán, Irán, India, Omán, Pakistán, Arabia Saudita, EAU, Yemen

Altura	5-9 m (puede alcanzar 14 m en condiciones óptimas)	9-15 m	3-5 m (puede crecer más bajo en zonas desérticas)
Hojas	Bipinnadas; 6-29 pares de folíolos estrechos	Bipinnadas; 25-40 pares de folíolos alargados	Bipinnadas; 7-14 pares de folíolos ovalados
Flores	Pequeñas, amarillas, dispuestas en racimos	Pequeñas, blancas-verdosas o amarillentas	Pequeñas, amarillo, de aspecto delicado
Frutos	Largas, amarillas, dulces y comestibles (longitud no especificada)	Largas (hasta 20 cm), dulces, ricas en azúcares; semillas pardas	Más cortas y fibrosas, menos dulces (longitud no especificada)
Adaptaciones	Tolerante a suelos pobres y salinos	Resiste climas áridos y semiáridos, prefiere suelos profundos	Muy resistente a la sequía extrema y suelos salinos

Tabla 4. Comparación de Características Morfológicas y Adaptativas de *Prosopis alba*, *Prosopis glandulosa* y *Prosopis cineraria*.

Aunque estas tres especies muestran variaciones en su distribución geográfica y características morfológicas, en esencia comparten adaptaciones similares, como la resistencia a climas áridos y la tolerancia a suelos salinos. Esto sugiere que, a pesar de las diferencias, podrían contar con mecanismos biológicos comunes (Asaf et al., 2020; CAB International, 2022; F.A.O, 2000; Passera, 2000). Para explorar si esta similitud se refleja también a nivel molecular, se realizó un análisis bioinformático de las isoformas de glutatión peroxidasa (GPx). Este análisis ayudará a determinar si las isoformas de GPX en *P. alba*, *P. glandulosa* y *P. cineraria* siguen un patrón común o si, por el contrario, presentan diferencias significativas que puedan estar relacionadas con sus adaptaciones específicas.

Se realizó una búsqueda de secuencias de GPX en los genomas parcialmente ensamblados de *P. alba* y *P. cineraria* usando la herramienta P-Blast del NCBI. La búsqueda se realizó usando la base de datos de secuencias de proteínas no redundantes y la secuencia de GPX isoforma 3 de *A. thaliana*. El resultado arrojó 16 secuencias con un porcentaje de identidad que va de un 54.60 a 74.70, sugiriendo que se identificaron homólogos de AtGPX-3 (Cuadro 4). Algunas de las isoformas estaban anotadas con la predicción de la isoforma y el resto como probables GPX o como probables PHGPX (GPX de fosfolípidos). Para intentar clasificar a las GPX de una manera más sistemática se realizó un blast en la base uniprot para identificar propiedades por comparación con el homólogo más cercano de otras especies, así como con el empleo de un identificador de secuencias de péptidos señal. Se identificaron isoformas de GPX1, GPX2, GPX4, GPX6, GPX7, GPX8 y GPX-L1.

Para realizar un estudio comparativo se eligió un representante de GPX de mitocondria, otro de cloroplasto, una citosólica y a la GPX-L1. La elección es con base a su papel potencial en la respuesta a estrés biótico y abiótico con la premisa de que estas GPX homólogas realizan un papel similar que en otros organismos en donde se ha atribuido un papel directo a estas isoformas.

Tabla 5. Identificación de enzimas GPXs en el género *Prosopis* y su clasificación general.

Nombre	Especie	Tipo	% identidad	tamaño	PM Da	pl	código NCBI	Predicción de localización
probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	P. alba	GPX 4* citosolica	80	266	18805	5.66	XP_028801544.1	citósol
probable glutathione peroxidase 2	P. alba	GPX2	80	265	18736	5.62	XP_028759504.1	citósol
probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	P. cineraria	GPX4* citosolica	80	261	18867	5.62	XP_054795861.1	citósol
probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	P. alba	GPX1 citosolica	90	251	22488	9.03	XP_028759838.1	citósol
probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	P. alba	GPX6* citosolica	81	243	26328	9.24	XP_028807184.1	mitocondria
probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	P. alba	GPX4* citosolica	77	240	26417	9.12	XP_028792674.1	cloroplasto
probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	P. cineraria	GPX7* cloroplastica	77	237	25694	9.32	XP_054808434.1	mitocondria
probable glutathione peroxidase 8 isoform X2	P. alba	GPX8-x2	80	225	19100	5.1	XP_028784507.1	citósol
probable glutathione peroxidase 8	P. cineraria	GPX8	82	225	19144	5.1	XP_054775739.1	citósol
probable glutathione peroxidase 8	P. alba	GPX8	80	225	19112	5.1	XP_028767431.1	citósol
probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	P. cineraria	GPX4* citosolica	72	227	26780	8.92	XP_054818215.1	cloroplasto
probable glutathione peroxidase 8 isoform X1	P. alba	GPX8	78	217	20504	4.79	XP_028784506.1	citósol
glutathione peroxidase 1-like	P. alba	GPX-L1	80	216	18960	4.83	XP_028767432.1	citósol
probable glutathione peroxidase 8	P. cineraria	GPX8	80	216	23738	5.72	XP_054823382.1	citósol
probable glutathione peroxidase 4	P. cineraria	GPX4	77	199	18998	8.87	XP_054800443.1	citósol
probable glutathione peroxidase 5	P. alba	GPX5	79	195	18949	9.25	XP_028804246.1	citósol

Se encontró que los pesos moleculares de las isoformas de los GPX de *Prosopis* están cercanos al peso de la banda identificada como una potencial GPX que se incrementa durante el estrés H-L y EQ en este estudio, particularmente las que corresponden las isoformas mitocondriales y cloroplásticas. Se eligió a GPX2 como representante de la actividad en citósol (XP_028759504.1); a GPX6 de mitocondria (XP_028807184.1); GPX4 de cloroplasto (XP_028792674.1) y a GPX-L1 como representante de las GPX tipo (XP_028767432.1) para realizar una comparación a nivel de estructura y funciones potenciales.

Se generaron los modelos de las estructuras tridimensionales de las GPX seleccionadas (Tabla 5 e Ilustración 17). Los modelos fueron clasificados como

modelos con validez adecuada para realizar predicciones estructurales subsecuentes (Cuadro 5).

Tabla 6 Calidad general de los modelos de las estructuras tridimensionales de las GPX del género *Prosopis*.

Enzima	Localización celular	Calidad Qmean	Estado de oligómero predicho	Referencia homologa
GPX2	Citosol	0.80	dímero	GPX5 2p5r
GPX4	Cloroplasto	0.79	monómero	GPX4 8xit
GPX6	Mitocondria	0.78	monómero	GPX5 2p5r
GPX-L1	Citosol	0.81	dímero	GPX5 2p5r

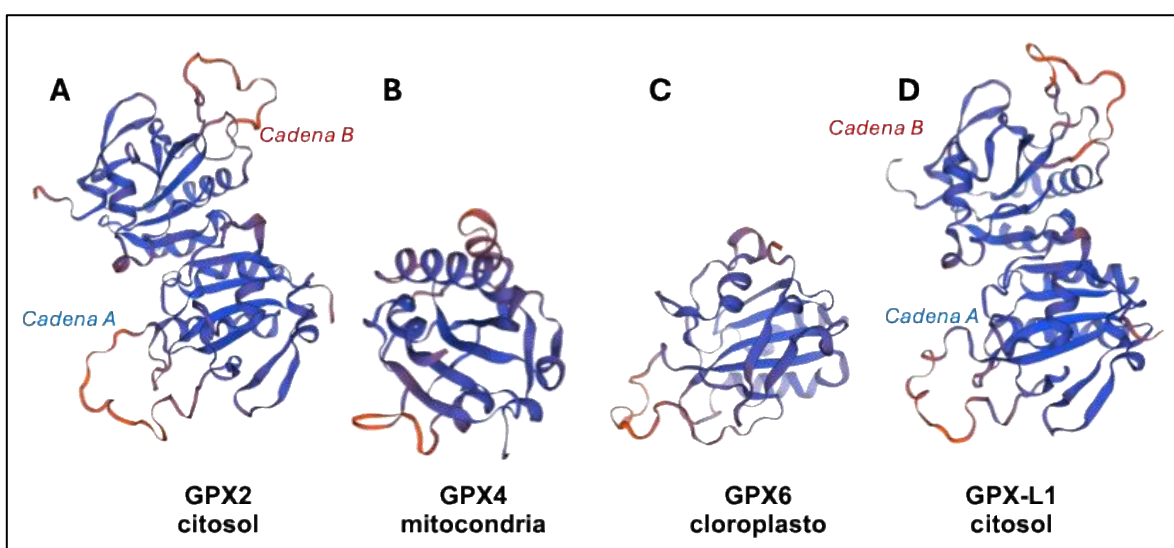


Ilustración 15. Modelos de las estructuras tridimensionales de las GPX de *Prosopis* potencialmente involucradas en la respuesta homeostática vegetal. Las regiones de color azul corresponden a zonas con un plegamiento sustentado con geometrías locales permitidos y las de color naranja presentan tensiones moderadas o leves.

Las estructuras tridimensionales de los cuatro modelos de GPX comparten el mismo plegamiento. Su topología corresponde a un plegamiento tipo tiorredoxina que es característico de las enzimas GPX solubles. Al explorar las cavidades de las GPX de *Prosopis* se identificaron el sitio activo y las cavidades extracatalíticas (Ilustración 18).

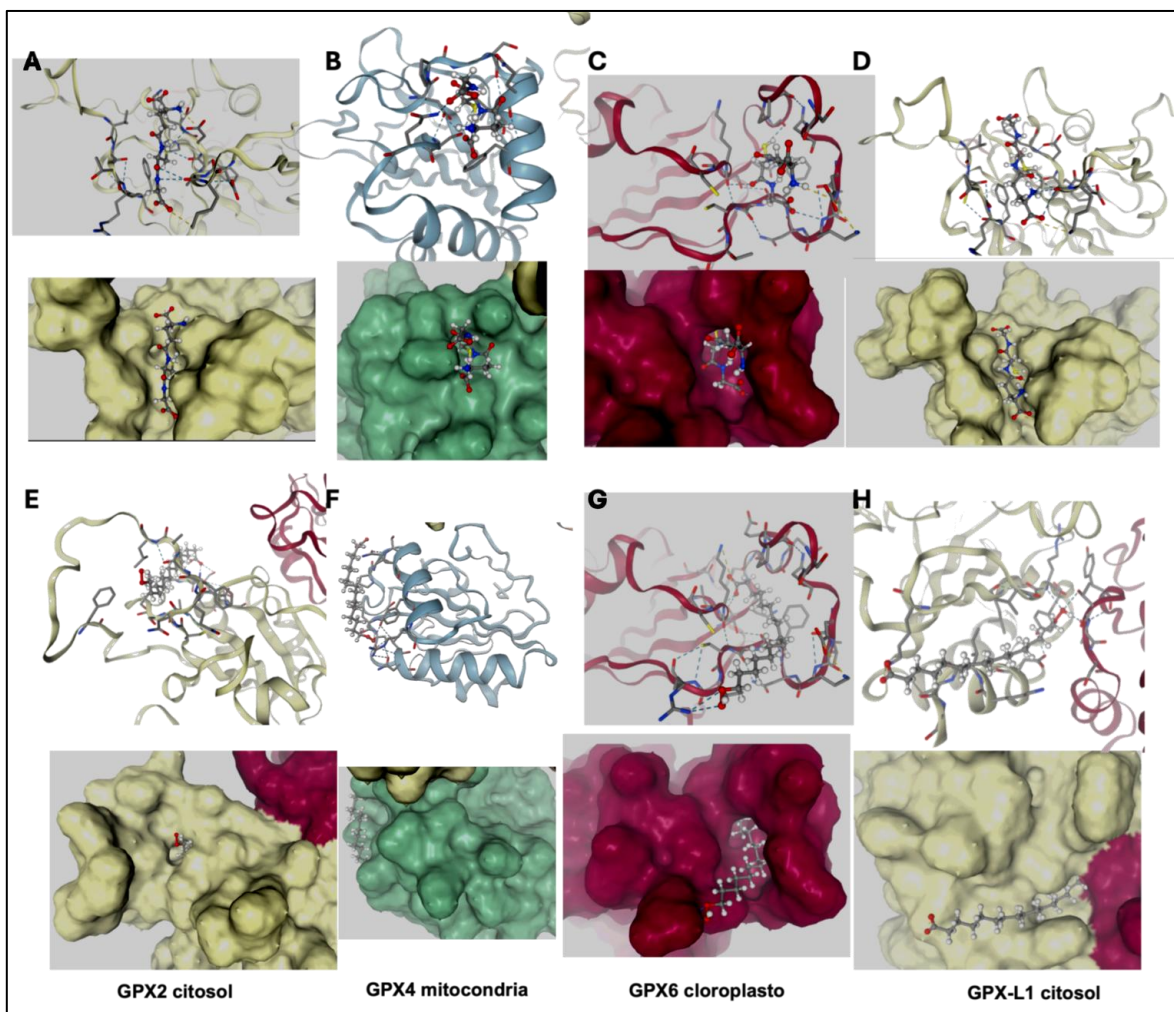


Ilustración 16 Modelos de unión de sustratos en las cavidades potencialmente catalíticas de GPX de *Prosopis*. Unión del GSH en A. GPX2; B. GPX4; C. GPX6 y D. GPX-L1. Unión del sustrato lauril- ω -peróxido en E. GPX2; F. GPX4; G. GPX6 y H. GPX-L1. Se muestra en representación de superficies como referencia y las imágenes debajo de cada panel son la misma orientación.

Se modeló el GSH y un lipoperóxido en el sitio activo para obtener información de su especificidad por los sustratos (Cuadro 6 e ilustración 18).

Tabla 7 Interacción de ligados con las GPX del género *Prosopis*.

Enzima	ΔG (kcal/mol)	Confianza HDOCK/score		
		GSH	Pal-peróxido	Thr-H
GPX2	-6.13 ± 0.23	-6.31 ± 0.30	0.7050	-193.53
GPX4	-6.05 ± 0.58	-7.03 ± 0.30	0.69	-191.19
GPX6	-6.74 ± 0.87	-6.81 ± 0.42	0.6726	-187.81

GPX-L1	-6.25± 0.29	-6.35 ± 0.11	0.6368	-178.07
--------	----------------	--------------	--------	---------

El parámetro de HDOCK de confianza por arriba de 0.70 es indicador de una alta probabilidad de interacción, mientras que un score con valores negativos es indicativo de una interacción energéticamente favorecida.

Se observa que en GPX2 tanto el GSH como el sustrato laurato- ω -peróxido se unen en el sitio activo de manera compatible con la reacción. Ambos sustratos parecen estar cercanos al complejo productivo ya que el tiol del GSH y el peróxido están cerca de la Cys catalítica. Aunque se observa algo similar para el caso de GPX-L1, con relación a la cercanía de los grupos funcionales susceptibles a ataque, los sustratos están acomodados de manera distinta. GPX2 y GPX-L1 tienen características similares y ambos modelos de unión de sustratos observados parecen ser compatibles con el mecanismo de reacción. Para el caso de GPX6, que también es similar a GPX2 y GPX-L1, excepto que es un monómero en lugar de un dímero, los dos sustratos parecen encontrarse más cercanos, casi traslapados en el sitio activo. Esto sugiere dos posibilidades, la primera es que los sustratos se tienen que acomodar en un paso subsecuente a la unión inicial o bien que el mecanismo de reacción sea distinto a GPX2 y GPX-L1, es decir sea un mecanismo ping-pong en lugar de un bi-bi secuencial. Un rasgo relevante es que en GPX6 es que la Cys catalítica se encuentra más expuesta al solvente que en el caso de GPX2 y GPX-L1, lo cual pudiera indicar una mayor reactividad o especificidad por sustratos, incluso a que sea específica por tiorredoxinas. En el caso de GPX4 el GSH se une en una posición distinta al resto de las GPX. Esto puede ser por las diferencias entre esta GPX que tiene una Cys en medio de una hélice α y un asa catalítica más corta. También es posible que GPX4 sea específica para tiorredoxinas y se trate de una peroxitiorredoxina (Asaf et al., 2020; Kou et al., 2022; Mohanta et al., 2024).

Con la intención de buscar información de la posible interacción de las GPX de *Prosopis* con tiorredoxinas se realizó una búsqueda en las bases de datos del PDB por tiorredoxinas que se sabe interaccionan con GPX. Se encontró una tiorredoxina

tipo H de álamo negro (*Populus trichocarpa*) con el código de identificación 3D21 e identificación Uniprot P85801. Esta secuencia se empleó para realizar una búsqueda por la herramienta BlastP del NCBI. Se encontraron 141 homólogos en *P. alba* y *P. cineraria*. Se seleccionó el homólogo con mayor identidad para generar un modelo de estructura tridimensional por homología en SwissModeler usando las el PDB de álamo negro como templado. El modelo generado presentó un Qmean de 0.83, que lo clasifica como un modelo adecuado para su uso (Ilustración 19).

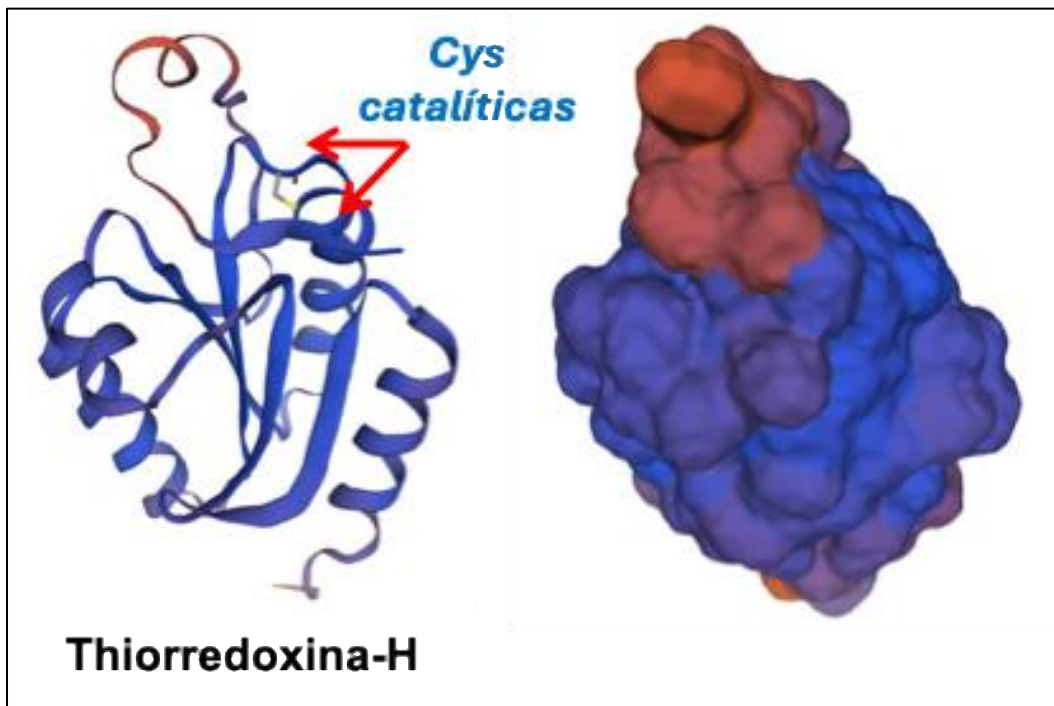


Ilustración 17. Modelo tridimensional de la tiorredoxina de *P. alba* un potencial sustrato de las GPX de *Prosopis*. Se muestra a la izquierda la representación en listones y a la derecha en superficie. El código de color indica la calidad del modelo de azul, mayor calidad a naranja, calidad adecuada.

Éste modelo se empleó para realizar un acoplamiento proteína-proteína con los modelos de GPX de *Prosopis* (Ilustración 19).

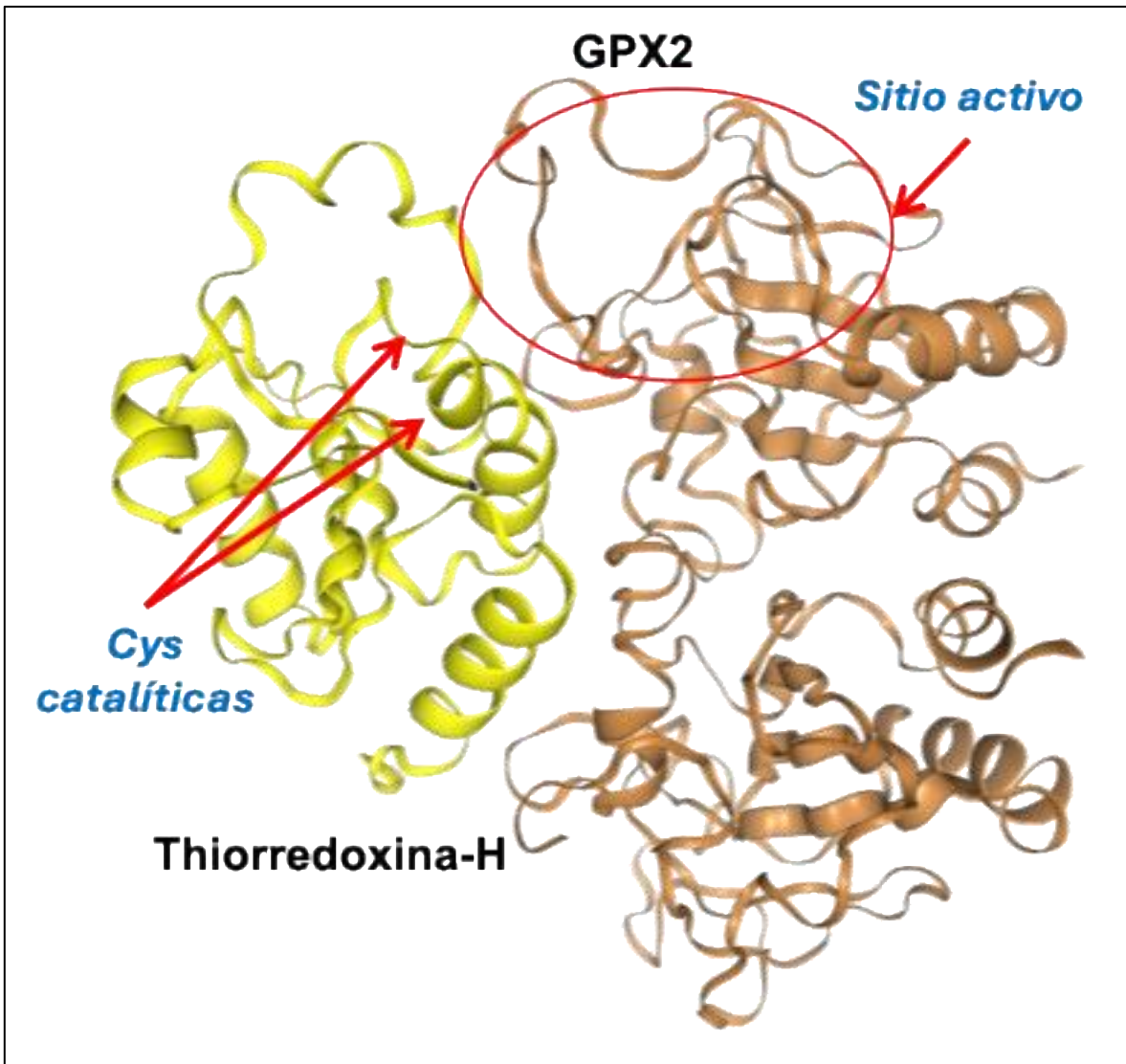


Ilustración 18. Modelo tridimensional de la interacción entre GPX2 y tiorredoxina-H de P. alba un potencial sustrato de las GPX de Prosopis. Se muestra la cercanía de los sitios activos de las dos enzimas.

7. CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación demuestran la relación estrecha entre la actividad de GPX y la respuesta adaptativa en los germinados de *P. glandulosa*, confirmando su papel en la resistencia homeostática vegetal. Los análisis bioquímicos, enzimáticos y morfológicos revelan patrones que respaldan la implicación de la GPX en la resistencia sistémica adquirida (SAR).

La exposición a quitosano en los germinados incrementó la expresión de proteínas de bajo peso molecular (21 kDa), observándose un aumento del 358% en la expresión relativa de proteínas que potencialmente sean GPX. Además, promovió un incremento del 9.5% en la actividad de la GPX en comparación con el control.

En cuanto a los aspectos morfológicos, el quitosano resultó en un aumento del 47.6% en la parte radicular y del 21.2% en la parte aérea, acompañados de un endurecimiento tisular, lo que sugiere una mejora en la salud y resistencia de las plantas.

Para el tratamiento hídrico-lumínico se observó una adaptación gradual, evidenciada por una reducción inicial de la actividad de la GPX (17.4% menor que el control). Este fenómeno fue acompañado por una disminución progresiva de los fenoles libres, un aumento en la proteína total y un desarrollo preferencial de las raíces, lo que sugiere una modulación activa mediada por la GPX.

El análisis bioinformático de las isoformas de GPX en el género *Prosopis* reveló hallazgos significativos. Mediante búsquedas en los genomas de *P. alba* y *P. cineraria*, se identificaron 16 secuencias de GPX con porcentajes de identidad entre 54.6% y 74.7%. Se clasificaron isoformas como GPX1, GPX2, GPX4, GPX6, GPX7, GPX8 y GPX-L1, cada una con potenciales funciones específicas en la respuesta a estrés.

El modelado estructural de cuatro isoformas seleccionadas (GPX2, GPX4, GPX6 y GPX-L1) mostró características estructurales comunes, con un plegamiento tipo tiorredoxina característico de enzimas GPX solubles. Cada isoforma presentó

particularidades interesantes en su sitio activo y mecanismo de unión a sustratos como el glutatión (GSH) y lipoperóxidos.

Un hallazgo destacable fue la potencial interacción de estas GPX con tiorredoxinas, específicamente identificando una tiorredoxina tipo H de *Populus trichocarpa* con 141 homólogos en *P. alba* y *P. cineraria*. Este descubrimiento abre nuevas perspectivas sobre los mecanismos moleculares de respuesta al estrés en plantas del género *Prosopis*.

Estas evidencias sugieren que las GPX juegan un papel fundamental en los mecanismos de adaptación y resistencia de *P. glandulosa*, con implicaciones significativas para comprender las estrategias de supervivencia en ambientes desafiantes.

Es necesario realizar estudios adicionales para caracterizar la dinámica temporal de la actividad de la GPX durante periodos prolongados de adaptación, especialmente bajo condiciones de estrés, para comprender mejor los mecanismos subyacentes a esta respuesta. Futuras investigaciones podrían enfocarse en la función específica de cada isoforma identificada y su rol en la respuesta adaptativa de plantas del género *Prosopis*.

8. REFERENCIAS

Agbemaflle, W., Wong, M. M., & Bassham, D. C. (2023). Transcriptional and post-translational regulation of plant autophagy. En *Journal of Experimental Botany* (Vol. 74, Número 19, pp. 6006–6022). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad211>

Alenazi, M. M., El-Ebidy, A. M., El-shehaby, O. A., Seleiman, M. F., Aldhuwaib, K. J., & Abdel-Aziz, H. M. M. (2024). Chitosan and Chitosan Nanoparticles Differentially Alleviate Salinity Stress in *Phaseolus vulgaris* L. *Plants*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/plants13030398>

Alonso- Vilela, S. M., Kraïem, H., Bouhaouala-Zahar, B., Bideaux, C., Aceves Lara, C. A., & Fillaudeau, L. (2020). A protocol for recombinant protein quantification by densitometry. *MicrobiologyOpen*, 9(6), 1175–1182. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1027>

Antonio Munive Hernández, J. (2017). MEZQUITE (*Prosopis laevigata*) COMO ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR COBRE TESIS Que para obtener el grado de.

Asaf, S., Khan, A. L., Khan, A., & Al-Harrasi, A. (2020). Unraveling the chloroplast genomes of two *Prosopis* species to identify its genomic information, comparative analyses and phylogenetic relationship. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9). <https://doi.org/10.3390/ijms21093280>

Ávalos- García Elena. Pérez-Urria Carril, A. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal, 2(3), 119–145.

Backer, R., Naidoo, S., & van den Berg, N. (2019). The NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES 1 (NPR1) and related family: Mechanistic insights in plant disease resistance. En *Frontiers in Plant*

Science (Vol. 10). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00102>

Balaguera-López, H. E., Salamanca-Gutiérrez, F. A., García, J. C., y Herrera-Arévalo, A. (2014). Aminoetoxi-vinil-glicina, ácido aminooxiacético, 1-metilciclopropeno, tiosulfato de plata, permanganato de potasio. *Ciencias Hortícolas*, 8(2).

Balfagón, D., Zandalinas, S. I., Mittler, R., & Gómez-Cadenas, A. (2020). High temperatures modify plant responses to abiotic stress conditions. En *Physiologia Plantarum* (Vol. 170, Número 3, pp. 335–344). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ppl.13151>

Batista-Roche, L. G., & Huerta-Ocampo, J. Á. (2021). Mezquite: una planta alergénica de relevancia clínica en México. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24.
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.390>

Bela, K., Riyazuddin, R., & Csiszár, J. (2022). Plant Glutathione Peroxidases: Non-Heme Peroxidases with Large Functional Flexibility as a Core Component of ROS-Processing Mechanisms and Signalling. En *Antioxidants* (Vol. 11, Número 8). MDPI.
<https://doi.org/10.3390/antiox11081624>

Belkis Peteira., Delgado Oramas. (2020). La resistencia inducida como alternativa para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. *Revista de Protección Vegetal*. <https://eqrcode.co/a/4lo53i>

Bhambhani, S., Kondhare, K. R., & Giri, A. P. (2021). Diversity in chemical structures and biological properties of plant alkaloids. En *Molecules* (Vol. 26, Número 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules26113374>

Bhuiyan, N. H., Selvaraj, G., Wei, Y., & King, J. (2009). Role of lignification in plant defense. *Plant Signaling and Behavior*, 4(2), 158–159.
<https://doi.org/10.4161/psb.4.2.7688>

Blanco-Labra, A., & Aguirre Mancilla, C. (2002). Proteínas Involucradas en los Mecanismos de Defensa de Plantas 1.

BMG-LABTECH. (2024). Ellman's assay for in-solution quantification of sulfhydryl groups. <https://www.bmglabtech.com/en/application-notes/ellmans-assay-for-in-solution-quantification-of-sulfhydryl-groups/>

Borràs- Vallverdú Bernat. (2018). INHIBICIÓN DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO EN PATATA UTILIZANDO EXTRACTOS DE PEREJIL [Universidad Pública de Navarra]. https://academic.e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/30288/TFM_DEFINITIVO.pdf

Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. En *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (Vol. 1830, Número 5, pp. 3289–3303). <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.11.020>

Buxbaum, N., Lieth, J. H., & Earles, M. (2022). Non-destructive Plant Biomass Monitoring With High Spatio-Temporal Resolution via Proximal RGB-D Imagery and End-to-End Deep Learning. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.758818>

Caarls, L., Pieterse, C. M. J., & Van Wees, S. C. M. (2015). How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling. *Frontiers in Plant Science*, 6(MAR). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00170>

CAB International. (2022). *Prosopis glandulosa* (honey mesquite). 2022. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.44439>

Calle Luna, J. G., Boronat García, M., Albaladejo Otón, M. D., Granero Fernández, E., Hernández Martínez, A. M., & Parra Pallarés, S. (2010). Evaluación de un método electroforético para el subfraccionamiento de las partículas plasmáticas de lipoproteínas de baja densidad. *Revista del Laboratorio Clínico*, 3(1), 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2009.07.005>

Camarena-Gutiérrez, G., & De La Torre-Almaráz, R. (2007). RESISTENCIA SISTÉMICA ADQUIRIDA EN PLANTAS: ESTADO ACTUAL. En *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* (Vol. 13, Número 2). <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v13n2/2007-4018-rcscfa-13-02-157.pdf>

Cano Sosa, J. del S. (Ed.). (2022). *Las plantas en la ciencia y nuestra vida: Inspírate, anímate y descúbrelas*. https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_6329ba4a963b4.pdf

Carmo-Silva, E., & Sharwood, R. E. (2023). Rubisco and its regulation-major advances to improve carbon assimilation and productivity. En *Journal of Experimental Botany* (Vol. 74, Número 2, pp. 507–509). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac475>

Carvajal, D. E., Loayza, A. P., Rios, R. S., Gianoli, E., & Squeo, F. A. (2017). Population variation in drought-resistance strategies in a desert shrub along an aridity gradient: Interplay between phenotypic plasticity and ecotypic differentiation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 29, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2017.10.001>

Chávez-Arias, C. C., Ramírez-Godoy, A., & Restrepo-Díaz, H. (2022). Influence of drought, high temperatures, and/or defense against arthropod herbivory on the production of secondary metabolites in maize plants. A review. *Current Plant Biology*, 32. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2022.100268>

Chen, J., Mohan, R., Zhang, Y., Li, M., Chen, H., Palmer, I. A., Chang, M., Qi, G., Spoel, S. H., Mengiste, T., Wang, D., Liu, F., & Fu, Z. Q. (2019). NPR1 promotes its own and target gene expression in plant defense by recruiting cdk8. *Plant Physiology*, 181(1), 289–304. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00124>

Chen, J., Yang, S., Fan, B., Zhu, C., & Chen, Z. (2022). The Mediator Complex: A Central Coordinator of Plant Adaptive Responses to

Environmental Stresses. En International Journal of Molecular Sciences (Vol. 23, Número 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23116170>

Chiu, T., Poucet, T., & Li, Y. (2022). The potential of plant proteins as antifungal agents for agricultural applications. En Synthetic and Systems Biotechnology (Vol. 7, Número 4, pp. 1075–1083). KeAi Communications Co. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2022.06.009>

Choudhary, A., Kumar, A., & Kaur, N. (2020). ROS and oxidative burst: Roots in plant development. En Plant Diversity (Vol. 42, Número 1, pp. 33–43). KeAi Publishing Communications Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2019.10.002>

Choudhary, D. K., Prakash, A., & Johri, B N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. En Indian J. Microbiol (Vol. 47).

Departamento de Fisiología, F. de M. U. (s/f). Homeostasis Propósito general.

dos Santos, C., & Franco, O. L. (2023). Pathogenesis-Related Proteins (PRs) with Enzyme Activity Activating Plant Defense Responses. En Plants (Vol. 12, Número 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants12112226>

Ebrahim, S., Usha, K., & Singh, B. (2011). Pathogenesis Related (PR) Proteins in Plant Defense Mechanism Pathogenesis-Related (PR) Proteins. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/9559896/1043-1054-libre.pdf?1390857132=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPathogenesis_Related_PR_Proteins_in_Plan.pdf&Expires=1708553997&Signature=L7XiJz0G5g1VzuyEVPeGbgfgzBQJmSNLbbh1IC5JRXil-kQdZ6XV1zVh84qIW8AAAt3H-zwEhq0oObJJZFDH7WSSGwE0OPbX8L4zeczPernB5Oshs2gmla3UtTcC0gpCV513mGHbO017AvFzInsidF3r7fYY8Gmj7k-5SqTWlpCqza4iEFFE7NzfVP1DVC5CwGxPMX14YDjvtV1VPbKkLUt6fvT5toFhaVY6ceEuSY9U29dEcooswL0KI69jK1Et53V~8VtFSq-

da4inUbC6cx3yf6LQSc-usiF-VUmD2o7l0i-OrulgJJRcXMf-
qms~itWBhjl1tL5wPqjQL0jelvzQ__&Key-Pair-
Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

Erb, T. J., & Zarzycki, J. (2018). A short history of RubisCO: the rise and fall (?) of Nature's predominant CO₂ fixing enzyme. En *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 49, pp. 100–107). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.017>

FAO. (2000). El género *Prosopis* "algarrobos" en América Latina y el Caribe. Distribución, bioecología, usos y manejo.

Francoz, E., Ranocha, P., Nguyen-Kim, H., Jamet, E., Burlat, V., & Dunand, C. (2015). Roles of cell wall peroxidases in plant development. En *Phytochemistry* (Vol. 112, Número 1, pp. 15–21). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.07.020>

García-García, J., & García-Arenal, F. (2003). PROTEÍNAS QUE DEFIENDEN LAS PLANTAS 1. En *Mundo Científico No* (Vol. 147). http://www.divulgacion.ccg.unam.mx/webfm_send/8584

Gremer, J. R., & Venable, D. L. (2014). Bet hedging in desert winter annual plants: Optimal germination strategies in a variable environment. *Ecology Letters*, 17(3), 380–387. <https://doi.org/10.1111/ele.12241>

Gutiérrez-Hernández, R., García, F., y Jiménez, L. (2007). Agronomía Mesoamericana. *Agronomía Mesoamericana*, 18(2), 163–170. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43718202>

Jain, D., & Khurana, J. P. (2018). Role of pathogenesis-related (PR) proteins in plant defense mechanism. En *Molecular Aspects of Plant-Pathogen Interaction* (pp. 265–28). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7371-7_12

Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). Capítulo XVI Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Etileno, Ácido Abscísico, Brasinoesteroides, Poliaminas, Ácido Salicílico y Ácido Jasmónico.

José, M. A., Calzada, E., Secretario, R., Homero, D. R., & González, S. (2016). Cambios En El Metabolismo De Los Fenilpropanoides En Plantas De Chile Tipo Mirasol Infectadas Por Fitoplasma. Centro de Investigación Regional Norte CentroCampo Experimental.

Klessig, D. F., Choi, H. W., & Dempsey, D. A. (2018). Systemic acquired resistance and salicylic acid: Past, present, and future. En *Molecular Plant-Microbe Interactions* (Vol. 31, Número 9, pp. 871–888). American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0067-CR>

Kou, X., Han, W., & Kang, J. (2022). Responses of root system architecture to water stress at multiple levels: A meta-analysis of trials under controlled conditions. En *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1085409>

Kumar, K., Debnath, P., Singh, S., & Kumar, N. (2023). An Overview of Plant Phenolics and Their Involvement in Abiotic Stress Tolerance. *Stresses*, 3(3), 570–585. <https://doi.org/10.3390/stresses3030040>

Landes Bioscience. (2006). Resistencia sistémica adquirida. *Plant Signaling & Behavior*, 1(4).

Li, W., Huai, X., Li, P., Raza, A., Mubarik, M. S., Habib, M., Faiz, S., Zhang, B., Pan, J., & Khan, R. S. A. (2021). Genome-wide characterization of glutathione peroxidase (GPX) gene family in rapeseed (*brassica napus* L.) revealed their role in multiple abiotic stress response and hormone signaling. *Antioxidants*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/antiox10091481>

Lifeder, & Lorena Blanco. (2023). *Prosopis Glandulosa*. <https://www.lifeder.com/prosopis-glandulosa/>

Lifeder. (2020). Peroxidasas: estructura, funciones y tipos. <https://www.lifeder.com/peroxidasas/>

Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., & Margis-Pinheiro, M. (2008). Glutathione peroxidase family - An evolutionary overview. *FEBS Journal*, 275(15), 3959–3970. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06542.x>

Marina, D., Avella, G., Christopher, A., Ortiz García, A., & Mendoza, C. (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. https://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

Martin, G. B., Bogdanove, A. J., & Sessa, G. (2003). Understanding the Functions of Plant Disease Resistance Proteins. En *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 54, pp. 23–61). <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.135035>

Martínez-Pacheco, J. (2017). Artículo Reseña R-PROTEINS AND PERCEPTION OF PATHOGENIC EFFECTORS IN THE FAMILY Solanaceae. En *Rev. Protección Veg* (Vol. 32, Número 1). <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v32n1/rpv01117.pdf>

Menéndez, E., Navarro, J., López, J., & Dalmau, A. (2020). Mecanismos de defensa en plantas. Proteínas relacionadas con la patogenicidad. *Revista de Investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu*, 7(2), 98–109. <https://doi.org/10.36955/RIULCB.2020v7n2.010>

Miao, Y., Lv, D., Wang, P., Wang, X.-C., Chen, J., Miao, C., & Song, C.-P. (2006). An Arabidopsis Glutathione Peroxidase Functions as Both a Redox Transducer and a Scavenger in Abscisic Acid and Drought Stress Responses. *The Plant Cell*, 18(10), 2749–2766. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.044230>

Mohanta, T. K., Mohanta, Y. K., Kaushik, P., & Kumar, J. (2024). Physiology, genomics, and evolutionary aspects of desert plants. En *Journal of*

Advanced Research (Vol. 58, pp. 63–78). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.04.019>

Montero, E. (2022). ¿Cuál es la diferencia entre la resistencia sistémica adquirida y la resistencia sistémica inducida? <https://simplyfaq.com/cual-es-la-diferencia-entre-la-resistencia-sistemica-adquirida-y-la-resistencia-sistemica-inducida/>

Moons, A. (2005). Regulatory and Functional Interactions of Plant Growth Regulators and Plant Glutathione S-Transferases (GSTs). En *Vitamins and Hormones* (Vol. 72, pp. 155–202). [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(05\)72005-7](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(05)72005-7)

Movahedi, A., Kadkhodaei, S., & Yang, L. (2024). Editorial: Transcriptional regulation and posttranslational modifications in plant growth and development under abiotic stresses. En *Frontiers in Plant Science* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1454335>

Mukhtar, M. S., Nishimura, M. T., y Dangl, J. (2009). NPR1 in Plant Defense, its not over til its turned over. *137*(5), 804–806.

Nianiou-Obeidat, I., Madesis, P., Kissoudis, C., Voulgari, G., Chronopoulou, E., Tsaftaris, A., & Labrou, N. E. (2017). Plant glutathione transferase-mediated stress tolerance: functions and biotechnological applications. En *Plant Cell Reports* (Vol. 36, Número 6, pp. 791–805). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2139-7>

Olate, E., Jiménez-Gómez, J. M., Holuigue, L., & Salinas, J. (2018). NPR1 mediates a novel regulatory pathway in cold acclimation by interacting with HSFA1 factors. *Nature Plants*, *4*(10), 811–823. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0254-2>

Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., & Dwivedi, U. N. (2017). A Comprehensive Review on Function and Application of Plant Peroxidases. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, *06*(01). <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000308>

Passera, C. B. (2000). Fisiología de *Prosopis* spp. 53 MULTEQUINA, 9(2), 53–80.

Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. En *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>

Prywes, N., Phillips, N. R., Tuck, O. T., Valentin-Alvarado, L. E., & Savage, D. F. (2023). Annual Review of Biochemistry Rubisco Function, Evolution, and Engineering. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-040320>

Rai, S., Singh, P. K., Mankotia, S., Swain, J., & Satbhai, S. B. (2021). Iron homeostasis in plants and its crosstalk with copper, zinc, and manganese. En *Plant Stress* (Vol. 1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100008>

Rankenberg, T., Geldhof, B., van Veen, H., Holsteens, K., Van de Poel, B., & Sasidharan, R. (2021). Age-Dependent Abiotic Stress Resilience in Plants. En *Trends in Plant Science* (Vol. 26, Número 7, pp. 692–705). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.12.016>

Rasheed, A., Li, H., Tahir, M. M., Mahmood, A., Nawaz, M., Shah, A. N., Aslam, M. T., Negm, S., Moustafa, M., Hassan, M. U., & Wu, Z. (2022). The role of nanoparticles in plant biochemical, physiological, and molecular responses under drought stress: A review. En *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.976179>

Reyes-Morales, Michel, M. R., Gallegos-Infante, González-Laredo, R. F., Aguilar-Zárate, & Rocha-Guzmán, N. E. (2023). Inhibición de enzimas digestivas por acción de fitoquímicos: una revisión Inhibition of digestive enzymes by the action of phytochemicals: a review. *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*. https://riiit.com.mx/apps/site/files_v2450/enzimas_dig_dgo._1_riiit_div_en_e-feb_2023.pdf

Roberts, M. J., Long, S. P., Tieszen, L. L., & Beadle, C. L. (1985). Measurement Of Plant Biomass And Net Primary Production. En Techniques In Bioproductivity And Photosynthesis (Pp. 1–19). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-031999-5.50011-X>

Ruiz Espinoza, H., Reyes-Pérez, J., Rivero-Herrada, M., García-Bustamante, L., Beltrán-Morales, A., Ruiz-Espinoza, H., Quito Km, A., Santo Domingo Quevedo, vía., y Ríos, L. (2021). Aplicación de quitosano incrementa la emergencia, crecimiento y rendimiento del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de invernadero. <http://biotecnia.unison.mx>

Saiz Rodríguez. (2015). Importante de glutatión, peroxidasas y tiorredoxinas en la leguminosa.

Saleh, L., & Plieth, C. (2009). Fingerprinting antioxidative activities in plants. *Plant Methods*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/1746-4811-5-2>

Šamec, D., Karalija, E., Šola, I., Vujčić Bok, V., & Salopek-Sondi, B. (2021). The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure. En *Plants* (Vol. 10, Número 1, pp. 1–24). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants10010118>

Sánchez Mónica. (2020). Mezquite dulce (*Prosopis glandulosa*). <https://www.jardineriaon.com/prosopis-glandulosa.html>

ScienceDirect. (2005). Topic: Pathogenesis-Related Protein. *Plant Pathology* (Fifth Edition). <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/pathogenesis-related-protein>

ScienceDirect. (2010). Phenylalanine Ammonia-Lyase. <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/phenylalanine-ammonia-lyase>

Siegel, B. Z. (1993). Plant peroxidases-an organismic perspective. En *Plant Growth Regulation* (Vol. 12).

Sosa Pérez, G. (s/f). TECNOLOGÍAS PARA EL MANEJO INTEGRAL DE BOSQUES.

Tamaoki, D., Seo, S., Yamada, S., Kano, A., Miyamoto, A., Shishido, H., Miyoshi, S., Taniguchi, S., Akimitsu, K., & Gomi, K. (2013). Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice. *Plant Signaling and Behavior*, 8(6). <https://doi.org/10.4161/psb.24260>

Thermo Scientific™. (2011). *Procedure for Quantitating Sulfhydryl Groups Using a Cysteine Standard*. www.thermoscientific.com/pierce

Vázquez de Aldana, B. R., González Rodríguez, B., Álvarez Pascua, A., & García Criado, B. (2012). Efecto del estrés hídrico sobre fenoles. *Reunion Científica de la SEEP*. <https://academica-e.unavarra.es/xmlui/bitstream/handle/2454/27820/V%C3%A1zquezEfecto.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

Wenig, M., Ghirardo, A., Sales, J. H., Pabst, E. S., Breitenbach, H. H., Antritter, F., Weber, B., Lange, B., Lenk, M., Cameron, R. K., Schnitzler, J. P., & Vlot, A. C. (2019). Systemic acquired resistance networks amplify airborne defense cues. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11798-2>

Zhang, X. C., Wang, Z., Zhang, X., Le, M. H., Sun, J., Xu, D., Cheng, J., & Stacey, G. (2012). Evolutionary dynamics of protein domain architecture in plants. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-6>

Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. En *Natural Product Communications* (Vol. 17, Número 1). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>

Zribi, I., Ghorbel, M., & Brini, F. (2021). Pathogenesis Related Proteins (PRs): From Cellular Mechanisms to Plant Defense. *Current protein & peptide science*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33390143/>