

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



**RESPUESTA DE DEFENSA ESTRUCTURAL Y BIOQUÍMICA DEL EXTRACTO DE
Heliopsis longipes SOBRE EL PATOSISTEMA: TOMATE – *Fusarium oxysporum*
f. sp. *lycopersici***

Por:

HORTENCIA PEREZ DELGADO

T E S I S

Presentada Como Requisito Parcial Para

Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**

RESPUESTA DE DEFENSA ESTRUCTURAL Y BIOQUÍMICA DEL EXTRACTO DE
Heliopsis longipes SOBRE EL PATOSISTEMA: TOMATE– *Fusarium oxysporum* f.
sp. lycopersici

Presentada Por:

HORTENCIA PEREZ DELGADO

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada Por:

Presidente del Jurado



Dr. Alberto Flores Olivas

Sinodal

Sinodal



Dr. Adalberto Benavides Mendoza




M.C. Susana González Morales

Coordinador de la División de Agronomía



Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Saltillo, Coahuila, México



Coordinación
División de Agronomía

Junio de 2011

Agradecimientos

A Dios Por darme la dicha de vivir, por iluminar mi camino, por todas y cada una de las cosas que hasta hoy me ha dado, además de su infinita bondad y amor por permitirme cumplir uno de los objetivos que me había trazado.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, porque me abrió las puertas, y me ha formado como profesionalista.

Al Dr. Alberto Flores Olivas, por brindarme un poco de su valioso tiempo, paciencia por las asesorías, consejos, comentarios y correcciones acertadas de este trabajo y por ser un ejemplo a seguir.

A mis sinodales:

Al Dr. Adalberto Benavides Mendosa, por el tiempo disponible para la revisión de este trabajo.

A la M.C. Susana González, por su colaboración y apoyo en la realización de esta tesis, por su paciencia y por el tiempo que me dedico. Le agradezco por la confianza y amistad que me ha brindado, deseo contar siempre con su apreciada amistad.

A la QFB. Blanca Mares Fermín, por su apoyo técnico en el desarrollo de esta tesis.

A la M.C. Francisca Ramírez Godínez, por otorgar el permiso para hacer uso de las instalaciones del laboratorio de citogenética.

A la T. Norma Leticia Portos Gaona, por su ayuda en la preparación de muestras para microscopía óptica.

A mis Profesores del Departamento de Parasitología, A todos ustedes que con sus conocimientos me instruyeron en mi formación profesional y personal.

DEDICATORIAS

A mis padres:

Hugo Perez Carmona

Felicitas Delgado Torres

A quienes me dieron la vida, a dos grandes personas a las cuales amo, quienes sin esperar nada a cambio, me dieron todo. A quienes me guiaron por un camino de rectitud. A un par de corazones buenos con gratitud eterna, por su gran corazón y capacidad de entrega, pero sobre todo por enseñarme a ser responsable, Por ustedes he logrado un objetivo más en mi vida.

A mis hermanos:

Esperanza

Edith

Elizabeth

Ana Iricel

José Miguel

Por la alegría que le dan a mi vida, Quienes me han regalado momentos inolvidables gracias por demostrarme su cariño en todo momento por su gran apoyo moral por eso y más muchas gracias los amo.

A cada uno de mis buenos amigos y amigas, por su valiosa amistad que nunca me ha faltado y con quienes he compartido momentos muy gratos. A los cuales llevare en el corazón.

Y por último dedico este trabajo tan importante e inolvidable; a mí misma, por no dejarme vencer y por mi fortaleza ya que en ocasiones el principal obstáculo se encuentra en uno mismo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	2
Objetivos específicos	2
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Origen del Tomate	4
Importancia Económica y Distribución Geográfica	4
Posición Taxonómica	5
Plagas del Cultivo de Tomate	6
Enfermedades del Cultivo de Tomate	6
Marchitez Vascular del Tomate	7
Síntomas	7
Clasificación taxonómica y características morfológicas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	8
Manejo de la Enfermedad	9
Control cultural	9
Control químico	10
Variedades resistentes	10
Control biorracional	10
Control biológico	11
Alternativas de Manejo de Enfermedades	12
Inducción de Resistencia en Plantas	13
Resistencia Inducida (ISR Y SAR)	14
Resistencia sistémica inducida (ISR)	15
Resistencia sistémica adquirida (SAR)	16
Defensa Estructural y Bioquímica	18
Defensa estructural	18
Las barreras estructurales	20
Estructuras celulares de defensa	22
Córtex	23
La Médula	23

Haces vasculares	24
Parénquima.....	24
Engrosamiento de paredes	24
Papilas de callosas.....	26
Defensa metabólica o (bioquímica).....	26
Proteínas PR.....	27
Proteínas protectoras	27
Endohidrolasas	29
Tioninas	29
Proteínas relacionadas a taumatina	30
Fenilalanina amonio liasa (<i>PAL</i>).....	30
Fitoalexinas	31
Compuestos fenólicos	31
Peroxidasas	32
β -1,3-glucanasas.....	32
Sustancias Utilizadas para Inducir Resistencia en Plantas	33
Quitosán.....	33
BHTBenzotiazole	34
Ácido salicílico.....	35
Ácido jasmónico	37
Actividad Antimicrobial e Inducción de Resistencia en Plantas con el uso de Extractos Botánicos.....	38
<i>Heliopsis longipes</i>	41
Clasificación Taxonomica	41
MATERIALES Y MÉTODOS	44
Localización del experimento.....	44
Cultivo Fúngico y Condiciones de Crecimiento	44
Prueba de patogenicidad <i>in vivo</i>	45
Estudio Histopatológico	46
Deshidratación	46
Inclusión en parafina	46
Seccionamiento (cortes en el micrótopo).....	46
Tinción	47

Extracción de Enzimas	47
Determinación de la Actividad PAL	48
Actividad Quitinasa	48
Actividad β -1,3 Glucanasa	48
Actividad Peroxidasa	49
Determinación de Proteínas Totales	49
Determinación de Compuestos Fenólicos	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
Cambios Estructurales	51
Cambios Bioquímicos	58
CONCLUSIONES	71
LITERATURA CITADA	72
APÉNDICE	92

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1: Familias de Proteínas Relacionadas a Patogénesis (PRP), (Halim <i>et al.</i> , 2004).....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Imágenes histológicas de raíz de tomate tomadas en el muestreo del segundo día después de la aplicación del extracto de <i>H. longipes</i> y el control positivo.....	52
Figura 2: Imágenes histológicas de tallo de tomate tomadas en el muestreo del segundo día después de la aplicación del extracto de <i>H. longipes</i> y el control positivo.....	52
Figura 3: Imágenes histológicas de raíz de tomate tomadas en el muestreo del cuarto día después de la inoculación con FOL, y la aplicación del extracto de <i>H. longipes</i> y el control positivo.....	53
Figura 4: Imágenes histológicas de tallo de tomate tomadas en el muestreo del cuarto día después de la inoculación con FOL, y la aplicación del extracto de <i>H. longipes</i> y el control positivo.....	53
Figura 5: Área de lumen de los tratamientos en raíz y tallo. TA, H y C+ son muestreos al segundo día después de la aplicación del extracto, TA*, F*, H*, H+FOL*, C+* y C+FOL* son muestreos al cuarto día después de la inoculación. La barra de variación se refiere a la desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).....	54
Figura 6: Grosor de la pared celular del xilema en raíz y tallo. La barra de variación se refiere a la desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).....	55
Figura 7: Efecto de la aplicación con los diferentes tratamientos, sobre el aumento de córtex y medula en raíz. La barra de variación se refiere a la desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).....	56
Figura 8: Efecto de la aplicación con los diferentes tratamientos, sobre el aumento de córtex y reducción de medula en tallo. La barra de variación se refiere a la	

desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).....	57
Figura 9: Cinética enzimática de actividad específica β -1,3- glucanasa en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	59
Figura 10: Cinética enzimática de actividad específica β -1,3- glucanasa en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	60
Figura 11: Cinética enzimática de la actividad específica de fenilalanina aminio liasa (PAL) en hojas de Tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	61
Figura 12: Cinética enzimática de la actividad específica de fenilalanina aminio liasa (PAL) en raíz de Tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar...	62
Figura 13: Cinética de actividad específica quitinasa en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	63
Figura 14: Cinética de actividad específica quitinasa en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	64
Figura 15: Cinética de máxima expresión de fenoles totales en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	65
Figura 16: Cinética de máxima expresión de fenoles totales en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	66
Figura 17: Cinética de actividad específica peroxidasa en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	67
Figura 18: Cinética de actividad específica peroxidasa en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	68
Figura 19: Cinética de expresión de proteínas totales en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	69
Figura 20: Cinética de expresión de proteínas totales en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.....	70

INTRODUCCIÓN

El tomate *Lycopersicum esculentum* Mill es una hortaliza con importancia a nivel nacional e internacional debido a su alta demanda, con mercado para consumo en fresco o industrializado (Rodríguez, 2006). La FAO en sus registros ubica a china como el principal país productor de jitomate con 35 millones de toneladas. México ocupa el décimo lugar con producción de 3 millones de toneladas anuales (FAOSTAT, 2006) El tomate es la principal hortaliza cultivada en todo el mundo tanto a cielo abierto como en invernadero (Flores *et al.*, 2007).

El tomate es una de las especies hortícolas más importantes de nuestro país debido al valor de su producción y a la demanda de mano de obra que genera. Es el principal producto hortícola de exportación, ya que representa el 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas y el 16% del valor total de las exportaciones agropecuarias (Flores *et al.*, 2007).

En México el 80% de la producción de tomate se realiza a cielo abierto, lo que expone al cultivo a una diversidad de patógenos que se encuentran en el suelo y que podrían mermar la producción (Echavarría y Castro, 2002). La Marchitez Vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* que ha evolucionado a razas 1, 2 y 3 (Tello *et al.*, 1988), destaca como una de las principales limitantes debido a su potencial destructivo. Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo causando importantes pérdidas en el cultivo de tomate (Cai *et al.*, 2003). Las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad llegan a ser del 60% del rendimiento, además de mermar la calidad de los frutos en variedades susceptibles (Ascencio *et al.*, 2008; Agrios, 2001). El primer reporte de *F. f. sp. lycopersici* raza 3 en México se realizó en 1996 a partir de unas plantas de tomate colectadas en Sinaloa (Valenzuela *et al.*, 1996).

Una nueva forma de hacer agricultura, vinculada con la producción de alimentos sanos y orientados al mercado de exportación ha venido ganando importancia en la agricultura mundial desde los años 80; esta es la agricultura orgánica, ecológica o biológica, la cual se define como un sistema de producción que utiliza insumos naturales a través de prácticas especiales, como composta, abonos verdes, control

biológico, extractos a base de plantas, asociación y rotación de cultivos entre otros más, este tipo de agricultura excluye insumos de síntesis química (Gómez *et al.*, 2006).

Existen numerosos reportes relacionados con los mecanismos de resistencia de plantas a patógenos. Ellos indican diversas estrategias desarrolladas por la planta que consisten en defensa física o estructural y defensa química. La defensa química involucra la producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana. Una de las principales rutas de biosíntesis de Metabolitos Secundarios, es la de los fenilpropanoides; a través de ella se sintetizan compuestos con diversas funciones en plantas. Los compuestos fenólicos se forman en esta ruta metabólica y una de las funciones que desempeñan es la de proteger a las plantas contra hongos, bacterias y virus (Vermerris y Nicholson, 2006; Vincenzo *et al.*, 2006).

Por lo anterior descrito, en el presente estudio se pretende establecer si el uso del extracto crudo de *Heliopsis longipes* ofrece ventajas importantes en la inducción de resistencia sobre el Patosistema: Tomate – *F. oxysporum f. sp. lycopersici*. Por esta razón se planteó la presente investigación con los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar cambios estructurales y bioquímicos en tomate inoculado con *F.oxysporum f. sp. lycopersici* con la aplicación del extracto crudo de *H. longipes*.

Objetivos específicos

- 1) Analizar cambios histológicos como respuesta a la aplicación del extracto crudo de *H. longipes* en el patosistema tomate-*F. oxysporum f. sp. lycopersici*.
- 2) Evaluar compuestos bioquímicos relacionados a la resistencia sistémica en plantas como respuesta a la aplicación del extracto crudo de *H. longipes* en el patosistema tomate-*F.oxysporum f. sp. lycopersici*.

Hipótesis

La aplicación del extracto de *H. longipes* en plantas de tomate infectadas con *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* provoca la expresión de cambios estructurales y bioquímicos relacionados con la resistencia en plantas.

Palabras clave: *Heliopsis longipes*, Compuestos fenólicos, Glucanasa, Peroxidasas, Quitinasas, PAL.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del Tomate

El tomate *Lycopersicon esculentum* Mill es una planta nativa de América tropical, cuyo origen se localiza en la región de los andes (Chile, Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú y México), e introducido a Europa en el siglo XVI; al principio, fue cultivado como planta de ornato. A partir de 1900, se extendió el cultivo como alimento humano y actualmente ocupa un lugar importante entre las hortalizas en el mundo. Además es una importante materia prima para la industria de transformación (FAO, 2002).

Importancia Económica y Distribución Geográfica

El tomate cultivado es considerado como una de las hortalizas de mayor importancia en muchos países del mundo, por el gran número de productos que se obtienen. Mundialmente ocupa el segundo lugar en importancia entre las hortalizas debido a su nivel de producción, la cual es superada solamente por el cultivo de la papa (SAGARPA, 2005). En México, el tomate cultivado está considerado como la segunda especie hortícola más importante, debido a la superficie sembrada, y como la hortaliza de mayor importancia por sus niveles de producción (SAGARPA, 2005). Los principales países productores son: Estados Unidos, Canadá, Grecia, Italia, México, Turquía, Egipto, India y España (Jiménez, 2003). La producción anual mundial creció 9.5% en los últimos cuarenta años, siendo la hortaliza más cultivada. A nivel nacional se siembran alrededor de 81,000 ha donde se obtienen cerca de 2 millones de ton, siendo los principales estados productores: Sinaloa, Baja California, San Luis Potosí, Sonora, Nayarit, Morelos y Michoacán; y a menor escala: Jalisco, Guanajuato, Tamaulipas, Hidalgo y Puebla (Jiménez, 2003).

El tomate tiene gran importancia mundial por su variedad de usos; consumo en fresco, como ingrediente en jugos, pastas y bebidas, por su valor nutritivo y su alto valor comercial por unidad de superficie cultivada (FAO, 2002).

La producción mundial de tomate es, aproximadamente, de 36, 000,000 ton por año, cultivadas en 1, 8000,000 ha. El área cultivada comprende un 30% del total de las hortalizas. Esta situación justifica el desarrollo de grandes esfuerzos para resolver los problemas que limitan su producción (FAO, 2002).

Posición Taxonómica

Recientemente, se ha propuesto un cambio en la nomenclatura del genero *Lycopersicon esculentum* Mill. Pasa a denominarse *Solanum lycopersicon* L. (Peralta y col., 2005).

Reino.... Metaphyta

División....Magnoliophyta

Clase....Magnoliopsida

Orden....Solanales

Familia....Solanaceae

Genero....*Solanum*

Especie....*lycopersicon*

Plagas del Cultivo de Tomate

Dentro de las plagas más importantes se encuentran: gusano cortador (*Agrotis spp*), grillo (*Acheta domesticus* y *gryllus bimaculatu*), hormiga (*Solenopsis*), pulgones (*Myzus persicae*), araña roja (*Tetranychus urticae*), gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), falso medidor (*Trichoplusia ni*), gusano de cuerno (*Manduca sexta*), entre otras. Algunos insectos pueden ser transmisores de virus, por lo que los frutos atacados maduran disperejos. En el lugar del picado se endurece la carne del fruto (Van Haeff, 1995).

Enfermedades del Cultivo de Tomate

Las enfermedades de las plantas son importantes para el hombre debido a que perjudican a las plantas y sus productos. Los marchitamientos vasculares son enfermedades destructivas productivas producidas por diversos agentes etiológicos y se encuentran ampliamente distribuidos en poblaciones y cultivos de un sin número de especies de plantas (Agrios, 2002).

El cultivo del tomate se ve mermado por enfermedades ocasionadas por hongos, bacterias, nematodos y virus. Dentro de las enfermedades fungosas, sobresalen los hongos que ocasionan marchitez en las plantas; tales como: *Verticillium*, *Fusarium*, *Alternaría solani*, *Phytophthora infestans*, entre otros (Steiner y Doudoroff, 1977; Fravel, 1988; Schippers *et al.*, 1987; Weller, 1988).

Existen diferentes tipos de enfermedades en este cultivo siendo las más importantes las de origen patológico (Mendoza, 1996). La más importante en la actualidad por su impacto y distribución es el marchitamiento vascular o fusariosis (*Fusarium oxysporum f sp. lycopersici*) Snyder and Hansen (*Fol*) (Ramírez, 1998).

Marchitez Vascular del Tomate

El ciclo de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. Se inicia con la presencia del inoculo en el suelo o residuos de cosecha del inoculo constituido por hifas, esporas o clamidosporas que germinan cuando son activadas por los exudados producidos en las raíces fibrosas del tomate; los tubos germinativos del hongo penetran la epidermis de las raíces directamente o por heridas, pasan a la corteza o a la endodermis, y una vez dentro del hospedante se mueven por colonización de los vasos del xilema produciendo la oclusión del sistema vascular de la planta. Su diseminación en el campo se produce a través de material de propagación infectado, fragmentos de plantas enfermas y movimientos de suelo infestado con clamidosporas de *F. oxysporum* las cuales pueden sobrevivir en este por más de 10 años (Haglund y Kraft, 20001).

La tasa de velocidad de la infección depende de factores como el tiempo de la infección inicial, la virulencia y condiciones climáticas. Dependiendo de la tasa de velocidad de infección, el hongo puede ocasionar pudrición radicular y muerte, incluso en plantas muy jóvenes (Agrios, 20002).

Esta enfermedad es más agresiva en climas cálidos y suelos con textura arenosa (González, 1974); sin embargo, fuertes afecciones en cultivares susceptibles se han reportado bajo condiciones de invernadero. Los daños se presentan con mayor severidad cuando las plantas son sometidas a un periodo de estrés hídrico, principalmente en la etapa de floración y fructificación (González, 1974; Ramírez, 1998). Los síntomas más notables de *F.oxysporum f.sp. lycopersici* ocurren al inicio de la floración, poco después de la formación de los primeros frutos (Beckman, 1987; Mendoza, 1993; Ramírez, 1998).

Síntomas.- Los síntomas inician con un amarillamiento en las hojas más viejas, extendiéndose a toda la planta y ocasionando una clorosis que a veces se presenta en las hojas de un solo lado de la planta, y en ocasiones solo en la mitad de

estas (Cárdenas, 2000). Las hojas afectadas se marchitan y mueren, aunque pueden permanecer adheridas al tallo. Si se realiza un corte transversal del tallo, se observa una necrosis vascular de color café en forma de anillo, la cual se extiende hacia la parte apical de la planta de acuerdo con la severidad de la enfermedad, marchitando y matando a las plántulas o plantas adultas (Sánchez, 1998). Las plantas más viejas pueden marchitarse y morir repentinamente; sin embargo, comúnmente muestran achaparramiento, epinastia, amarillamiento de las hojas inferiores, marchitez de las hojas y tallo jóvenes, defoliación, necrosis marginal de hojas y finalmente la muerte de la planta (Sanchez, 1998). Cuando las raíces y los tallos son colonizados, los síntomas se muestran como una pudrición necrótica, particularmente sobre las raíces laterales más pequeñas; lo cual acelera el marchitamiento del follaje. Después que la planta muere, el hongo fructifica sobre la superficie del tallo bajo condiciones de ambiente húmedo (Angulo, 1996; Valdez, 1999).

Clasificación taxonómica y Características Morfológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

F. oxysporum pertenece a la clase Sordariomycetes, Orden hipocreales, Familia Nectriaceae (Nelson *et al.*, 1993).

F. oxysporum es un hongo imperfecto, que aparentemente ha perdido el estado perfecto o sexual. Estos se reproducen por medio de conidias (una espora asexual formada en el extremo de una hifa). El hongo sobrevive por largos periodos en el suelo en forma de clamidosporas. El micelio es generalmente aéreo, abundante, algodonoso, con diferentes coloraciones como blancas, durazno, salmón, pero usualmente con un tinte purpura o violeta más intenso.

El hongo se caracteriza por producir tres clases de esporas, una de ellas son las microconidias, que son esporas unicelulares, septadas, hialinas, de forma variable, formadas sobre fialides laterales o sobre conidióforos poco ramificados. Las

microconidias tienen entre 5-12 micras de largo x 2.5-3.5 micras de ancho (Nelson, 1981). Las macroconidias son de pared delgada, fusiformes, largas y moderadamente curvas en forma de hoz, poseen de tres a cinco septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada. Tiene un tamaño de 27-60 x 3-5 micras (Nelson, 1981).

Las clamidosporas son globosas, de doble pared gruesa, se encuentran solitarias o en pares, formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y las conidias. Con esta estructura el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en ausencia de plantas hospedantes. Su tamaño varía de 5-15 micras de diámetro (Summerell *et al*, 2002; Barrera y Gómez, 1995; Nelson, 1981).

Esta especie se caracteriza por producir distintas formas especiales, las cuales no se pueden diferenciar por su morfología o por las características culturales de las colonias, sin embargo, son fisiológicamente diferentes por su capacidad de parasitar y ocasionar enfermedades en plantas hospedantes y sus exudados radicales satisfacen los requerimientos nutricionales del hongo y por lo tanto, puede desarrollarse solo en este tipo de plantas (Nelson, 1981; Gordon y Martyn, 1997).

Manejo de la Enfermedad

Control cultural.- En suelos arenosos evitar encharcamientos para impedir el traslado de nematodos ya que las heridas que generan éstos en las raíces facilitan el ingreso de la enfermedad. También las plantas enfermas deben eliminarse lo más pronto posible a efectos de reducir el inoculo (Gonzales, 2006).

Teniendo en cuenta que este patógeno es más severo en condiciones de suelos ácidos, se recomienda la aplicación de cal agrícola o cal hidratada para aumentar el pH. Medios o sustratos de crecimiento que poseen un pH alto tienden a mantener niveles más altos de nutrientes, mayores poblaciones de microorganismos (hongos, bacterias y actinomicetos) y menor severidad de marchitamiento por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. La severidad de la enfermedad se ha reducido cuando

se han aplicado fertilizantes nitrogenados con base en nitratos, y ha aumentado con fertilizantes nitrogenados con base en amonio. El riego con aguas salinas y la fertilización con sulfato de amonio predisponen la planta al ataque por el hongo (FAO, 2003).

Es de vital importancia para el control de la enfermedad seleccionar muy bien el semillero y sembrar plántulas sanas en campo. (FAO, 2003.)

Control químico.- El uso de agroquímicos como el bromuro de metilo, metam sodio y metam potasio han sido utilizados como estrategias para el control de fitopatógenos por su amplio espectro contra patógenos del suelo (Ohr *et al.*, 1996) estos productos son empleados en las principales zonas productoras de jitomate para el control de *Fusarium oxysporum*.

Varietades resistentes.- Gonzales en el 2006, afirma que la utilización de variedades resistentes es la medida más adecuada para el manejo de *F. oxysporum*. En el mercado existen variedades con resistencia a las razas 1 y 2 y en menor proporción a la raza 3. Báez

Control biorracional.- Marcos en 1996, menciona que el uso de extractos vegetales acuosos de *C. ambrosioides* y de *N. Glauca* son muy efectivos para el control de *F. oxysporum* inclusive sobre el tratamiento químico Metalaxil.

Garduño en el 2009 obtuvo como resultado que 12 especies vegetales mostraron actividad antifúngica ante *F. oxysporum*. El extracto hexánico con *C. ambrosioides* (por su actividad fungicida), los extractos metanólicos con *S. purpurea* y *P. guayaba*, así como los extractos acuosos con *L. esculenta* y *G. ulmifolia* inhibieron el crecimiento micelial con un porcentaje superior al 50%. También, los polvos de *B. crassifolia* disminuyeron el porcentaje de germinación y esporulación. Todas las especies presentaron actividad antifúngica en forma de extracto metanólicos. La alta diversidad química de las especies vegetales analizadas, afectó *et al*, 2010 mencionan que patrones o portainjertos pueden ser usados como una

alternativa viable de control de patógenos radiculares y en este caso especial sobre la marchitez causada por *F. oxysporum*.

Diferencialmente el desarrollo del hongo, ya sea por los compuestos individuales o por sinergismo de algunos de ellos.

Rodríguez., 2002 demuestran que realizando una inmersión de raíces de plantas en solución del extracto *Citrus paradisi* más la aplicación semanal al suelo logra reducir la marchitez en un 85%, seguido por la aplicación combinada al suelo y al follaje con un 64% de reducción. La aplicación del extracto de *C. paradisi* al follaje o al suelo ocasionan una reducción del 42% comparado con el testigo. Los resultados indican la posibilidad de controlar patógenos del suelo con el uso del extracto de semilla de *C. paradisi*.

Control biológico.- La siembra de semillas pregerminadas con suspensiones del hongo *Trichoderma koningii*, c y de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* al suelo de los semilleros, posibilitan un adecuado control de *Fusarium oxysporum* (FAO, 2003).

La pre inoculación de plantas de tomate siete días antes del trasplante con *Penicillium oxalicum* reduce la severidad de la enfermedad. La aplicación de las bacterias *Serratia plymuthica* y *Pseudomonas* sp. A las semillas, también ha permitido una disminución de la incidencia y severidad de la marchitez por *Fusarium oxysporum*. (FAO, 2003).

Mojica *et al* 2009 encontraron que de 64 cepas de *B. thuringiensis* probadas solo ocho cepas mostraron un efecto inhibitorio contra *F. oxysporum*. De estas solo cinco inhibieron más del 30% del crecimiento y una reducción en la tasa de crecimiento de 0,52 a 0,10 cm/ día.

Alternativas de Manejo de Enfermedades

En la agricultura moderna, se ha hecho a un lado la sostenibilidad de la productividad agrícola. El uso de agroquímicos ha permitido obtener incrementos substanciales en la producción; no obstante, sus efectos adversos están impactando de manera significativa la sustentabilidad de la agricultura. La práctica del monocultivo y la contaminación por el uso indiscriminado de agroquímicos han reducido la biodiversidad de los agroecosistemas, causando la inestabilidad de los mismos, la cual se manifiesta, entre otros efectos nocivos, en una mayor incidencia de plagas y enfermedades en los cultivos. Esto y los problemas de seguridad y salud pública inherentes a la fabricación y uso de agroquímicos han conducido a la búsqueda y establecimiento de alternativas de manejo de plagas y enfermedades. Así, surge el interés por el control ecológico que puede definirse como: “cualquier forma de control que reduce la incidencia o severidad de la enfermedad, o incrementa la producción del cultivo, aun cuando no haya aparentemente un efecto significativo en la reducción de la enfermedad o inóculo, y su impacto nocivo en el ambiente sea mínimo o nulo” (Zavaleta-Mejía, 1994).

Para que el manejo de las enfermedades de nuestros cultivos sea ambientalmente sano y racional se podrá lograr primero, aceptando que nuestro objetivo principal no debe de ser el de eliminar al patógeno responsable de la enfermedad sino más bien que a pesar de su presencia logremos obtener rendimientos económicamente redituables para el agricultor; y segundo, entendiendo más acerca de la naturaleza de la enfermedad y de la fisiología de la planta.

El uso de variedades resistentes; fechas de siembra; la solarización y acolchado (arropamiento) del suelo mediante el uso de plásticos degradables; la rotación y asociación de cultivos, preferentemente al utilizar plantas con propiedades antagonistas; la incorporación al suelo de residuos de plantas que durante su descomposición liberan compuestos nocivos a los fitopatógenos con origen en el suelo; la incorporación al suelo de materia orgánica que favorece la actividad

antagónica de la biota habitante del suelo; la aplicación de organismos antagonistas; la aplicación de cubiertas epidermales (antitranspirantes) para proteger a los cultivos de algunas enfermedades foliares; y la fitomineraloterapia, son alternativas ecológicas cuya eficacia ha sido probada desde el punto de vista práctico y económico.

Inducción de Resistencia en Plantas

Una de las alternativas utilizadas en la protección de las plantas es el método de la inducción de resistencia. Este método está basado no en la supresión directa del patógeno como ocurre con la aplicación de plaguicidas, si no, que se basa en la estimulación de mecanismos naturales de defensa en los tejidos de las plantas. La inducción de resistencia es frecuentemente referida como: inmunización, sensibilidad, vacunación, inmunidad adquirida y algunas veces como protección cruzada. En principio todos estos términos denotan algún fenómeno que es una activación artificial de los mecanismos de defensa de las plantas en el curso de su ontogénesis. Se conocen dos tipos de inducción de resistencia: local y sistémica; la resistencia inducida local se desarrolla dentro de un área limitado de tejidos de la planta, por ejemplo en el sitio de inducción. La inducción de resistencia sistémica se desarrolla en los tejidos de la planta más allá del sitio de inducción (Ozeretskoyanskaya 1995).

Algunos supuestos de la inducción de resistencia discutidas por Sequeira citado por Mishaghi (1982), son las siguientes:

1.- La inducción de resistencia depende de factores ambientales como luz y temperatura.

2.- La inducción de resistencia no es inmediata y requiere de un intervalo de tiempo entre la inoculación inicial y el cambio.

3.- En algunos sistemas planta-patógeno la inducción de resistencia es sistémica, esto es que se disemina a toda la planta desde el sitio de inoculación inicial.

4.- A la resistencia inducida le falta especificidad con respecto a lo que induce y al cambio.

5.- En algunos casos la protección adquirida (resistencia) no ha sido duradera, por ejemplo, la resistencia sistémica inducida por inoculaciones de TMV en variedades de tabaco que son hipersensibles al virus, duro cerca de 20 días.

6.-La persistencia de la protección sistémica inducida por hongos depende de la sobrevivencia del inóculo inicial.

Resistencia Inducida (ISR Y SAR)

La resistencia inducida es un “estado fisiológico” de incremento de la capacidad defensiva de la planta producida como respuesta a estímulos medioambientales específicos, por medio de los cuales las defensas innatas de esta son potencializadas en contra de diversos patógenos.

La RSI fue descubierta a comienzos del siglo pasado, en 1901, con los ensayos de "inmunización" realizados separadamente por Ray y Beauverie (Beauverie 1901). La RSA fue descrita por primera vez por Ross en 1961 en estudios de resistencia inducida al TMV en el tabaco. Ambos RSI y RSA son mecanismos naturales de defensa, considerados términos sinónimos para un importante grupo de investigadores en este campo. No obstante, otros científicos consideran que la RSI ocurre cuando los mecanismos de defensa en la planta son estimulados y actúan para resistir la infección causada por el patógeno. Esta activación de RSI se da por la proximidad de microorganismos estrechamente relacionados o en asocio con el tejido de la planta. Mientras que, en el caso de la RSA en el momento en que se da una infección localizada y la mediación activa de un inductor hace que las células del hospedante enciendan el ciclo de SAM (adenosin-metionina) por una cadena de genes que desencadenan uno o varios mecanismos de defensa contra ese patógeno en particular o inespecífico, contra otros potenciales agresores. La inducción de RSA produce una señal sistémica, entendiéndose la protección espacial de diferentes órganos de la misma planta, en un amplio espectro y duración, donde la HR y varias familias de genes de PR son inducidos como mecanismos asociados, determinantes de la

respuesta de defensa (Ryals *et al.*, 1996). La RSA es dependiente de la vía del ácido salicílico y la RSI depende de la vía del etileno y del ácido jasmónico (Walters *et al.*, 2007). La RSA resulta de la aplicación exógena de diferentes sustancias activadoras, tales como: el ácido salicílico (AS) sus derivados y sus análogos funcionales como el BTH, el ácido nicotínico derivado del 2,6-dicloroisonicotínico ácido, el acibenzolar-S-metil comercializado como Actigard™ o BION™, el cual fue el primer químico sintético desarrollado que funciona estrictamente como activador de RSA (Ruess *et al.*, 1996).

Resistencia sistémica inducida (ISR).- Otro tipo de resistencia sistémica inducida se desarrolla a partir de la colonización de las raíces de la planta por microorganismos de la rizosfera, particularmente rizobacterias. Este tipo de resistencia es conocida como *resistencia sistémica inducida* (ISR) y se caracteriza por estar mediada por vías metabólicas sensibles al ácido jasmonico y al etileno y ser independiente de la expresión de los genes PR y del ácido salicílico (Pieterse y Van Loon 1999).

La IRS está basada en una rápida e intensa respuesta de la planta a una subsecuente infección, que resulta de una rápida expansión de genes de defensa. Específicamente, el promedio e intensidad de necrosis de células de papa y la producción de fitoalexinas en respuesta a la infección con *Phytophthora infestans* son esencialmente altas en tubérculos de papa inducidos sistémicamente por promotores biogénicos comparados con el control (Ozeretskovskaya *et al* 1986).

Las bacterias PGPR mejor caracterizada son las cepas de varias especies de *Pseudomonas* que no causan daños visibles en el sistema de raíces de las plantas. RSI no causa la acumulación de proteínas relacionadas a la patogénesis ni ácido salicílico, sino que se utilizan las vías reguladas por el ácido jasmonico y el etileno (Valland y Goodman, 2004).

Las interacciones entre plantas y patógenos puede conducir a una infección con éxito (respuesta compatible) o resistencia (respuesta incompatibles). En las interacciones incompatibles, la infección por virus, bacterias u hongos que provocan

una serie de respuestas localizadas en y alrededor de las células huésped infectadas. Estas respuestas incluyen una explosión oxidativa que puede conducir a la muerte celular (Kombrink y Schmelzer, 2001). Por lo tanto, el patógeno puede ser "atrapado" en las células muertas y parece ser impedida la propagación de la localización de la infección inicial. Además las respuestas locales en las células circundantes incluyen cambios en la composición de las células de la pared que pueden inhibir la penetración por el patógeno, y la síntesis *de novo* de compuestos antimicrobianos como fitoalexinas (Kuc, 1995; Hammerschmidt, 1999)

Las fitoalexinas son principalmente una característica de la respuesta local, las proteínas PR se producen tanto a nivel local y sistémica. Originalmente, las proteínas PR se detectaron y se definen como ausentes en las plantas sanas, pero se acumula en grandes cantidades después de la infección (Van Loon y van Kammen, 1970).

Resistencia sistémica adquirida (SAR).- Se ha observado que el primer patógeno infectante, "inmuniza" a la planta contra infecciones posteriores por patógenos homólogos, aun cuando la planta no lleve genes determinantes de la resistencia específica del cultivar. Obviamente, el primer patógeno infectante, "indujo" la expresión de reacciones de resistencia contra subsecuentes infecciones de patógenos, independientemente si son virus, hongos o bacterias. Esta capacidad de las células para repeler los ataques subsecuentes, se dispersa a través de toda la planta. A esta respuesta se le llama resistencia sistémica adquirida (RSA) (Moffat, 1992).

Dos características de RSA son: (1) es efectiva contra un amplio espectro de diferentes patógenos y (2) es a largo plazo. El espectro de patógenos puede variar dependiendo de la planta tratada (Moffat, 1992). La fuerza y estabilidad de la resistencia inducida durante varias semanas pueden ser influenciadas por factores como las condiciones climáticas y la nutrición. La observación de que RSA se dispersa en la planta principalmente en dirección apical, y se mueve hacia yemas injertadas, sugiere fuertemente que las señales que establecen RSA son traslocadas a través de la planta.

Un requerimiento esencial para la resistencia sistémica adquirida es que la primera infección por un patógeno cause una lesión necrótica. La necrosis inducida puede ser el resultado de la muerte celular programada después del reconocimiento del patógeno en una interacción incompatible-donde se produjo una respuesta hipersensitiva (RH)- o de la muerte celular causada por la acción del patógeno en una interacción compatible. La secuencia de eventos que permiten la respuesta sistémica comienza localmente; es decir, en las células adyacentes a la respuesta hipersensitiva se observa el engrosamiento de las paredes celulares por incorporación de proteínas estructurales o lignina, deposición de calosa y la inducción de la síntesis de fitoalexinas.

En las células más distantes o sea las partes no infectadas de la planta, las primeras reacciones de defensa tipo RSA son la síntesis de proteínas relacionadas a la protogenesis llamadas PR, las enzimas β -1,3 glucanasas, endohidrolasas, quitinasas, inhibidores de enzimas como la taumatina, inhibidores de amilasa y proteínicas. Los genes que son inducidos en las infecciones primarias por el patógeno, se expresan localmente y también sistémicamente en la planta por lo tanto son llamados genes RSA. Otros genes que también gobiernan las reacciones de defensa no son expresados sistémicamente (Sha y Klessig, 1996).

Se identificaron las señales intracelulares y sustancias reguladoras involucradas en la activación de un gen llamado *pin* que codifica el inhibidor de proteínas. Entre las señales de activación o sustancias reguladoras se encontraron al etileno; ácido jasmonico y el metil éster de ácido jasmonico que es volátil y es liberado de la membrana plasmática por enzimas lipasas; ácido abscisico; y sistemina que es un polipeptido de 18 aminoácidos (Farmer y Ryan, 1990). Todas estas sustancias pueden ser mensajeros secundarios dentro de una cadena de transducción de señales que efectúan la activación de las reacciones de defensa, o están involucradas en la transducción de señales de manera desconocida.

Defensa Estructural y Bioquímica

El ataque de patógenos es una condición desfavorable que generalmente activa una serie de mecanismos de defensa cuyo fin es detener, aminorar o contrarrestar la infección. Las plantas pueden poseer *mecanismos constitutivos* de defensa que proveen, de forma pasiva, resistencia contra patógenos. Los mecanismos de resistencia constitutiva o "preformada" se pueden dividir en mecanismos de defensa *estructurales constitutivos*, como por ejemplo la presencia de capas gruesas de cutícula, presencia de tricomas, deposición de ceras, entre otros; y mecanismos de defensa *químicos constitutivos*, tales como la acumulación de compuestos tóxicos en las células vegetales.

A diferencia de la defensa constitutiva, los mecanismos inducidos de defensa, también llamados como *resistencia inducida*, se activan solamente como una respuesta al ataque de un patógeno (*Collinge et al. 1994*). La resistencia inducida es un mecanismo activo de defensa que involucra cambios claros en el metabolismo provocados por la expresión diferencial de genes. Por lo tanto, para que ocurra la inducción de la defensa, es necesaria la mediación de sistemas de reconocimiento específico, mediante los cuales la planta reconoce la presencia del patógeno (*Hutcheson 1998*).

Defensa estructural

La primera línea de defensa de las plantas ante el ataque de los patógenos es su superficie, la cual estos últimos deben penetrar para causar infección. Algunas defensas estructurales se encuentran ya en las plantas incluso antes de que el patógeno entre en contacto con ellas. Esas estructuras incluyen la cantidad y la calidad de la cera y de la cutícula que cubren a las células epidérmicas, la estructura de las paredes celulares de estas últimas, el tamaño, localización y forma de los estomas y lenticelas y, por último, la presencia en la planta de tejidos protegidos por paredes celulares gruesas que obstaculizan el avance del patógeno.

Las ceras de las hojas y de la superficie de los frutos forman una superficie repelente al agua que impide que sobre los tejidos se forme una película de agua en la cual los patógenos pudieran depositarse y germinar (hongos) o bien reproducirse (bacterias). De hecho, una cubierta gruesa de estructuras pilosas sobre la superficie de los órganos de una planta, puede también ejercer un efecto semejante al mencionado y con ello disminuir la infección.

El grosor de la cutícula aumenta la resistencia a las infecciones en las enfermedades en las cuales el patógeno penetra en su hospedante sólo mediante penetración directa. Sin embargo, el grosor de la cutícula no siempre está relacionado con el factor resistencia, y muchas variedades vegetales que presentan una cutícula de grosor considerable son fácilmente invadidas por patógenos que penetran en forma directa.

El grosor y dureza de la pared externa de las células epidérmicas, al parecer son factores importantes en la resistencia de algunas plantas ante el ataque de ciertos patógenos.

Las paredes gruesas y firmes de las células epidérmicas hace que la penetración directa de los hongos patógenos sea difícil o imposible. Las plantas con ese tipo de pared celular con frecuencia son resistentes, pero en caso de que el patógeno llegue más allá de la epidermis de esas plantas a través de una herida, sus tejidos internos son fácilmente invadidos por el patógeno. Muchas de las bacterias y hongos patógenos entran en las plantas sólo a través de sus estomas. Aun cuando la mayoría de ellos penetran en las plantas a través de sus estomas cerrados, algunos de ellos como la roya del tallo del trigo, pueden penetrar en las plantas sólo cuando sus estomas están abiertos. Debido a esto, algunas variedades de trigo (en las que los estomas se abren al atardecer), son resistentes debido a que los tubos germinativos de las esporas que germinan durante la noche desecan el rocío, lo cual hace que éste se evapore antes de que los estomas se abran. El tipo de estructura de los estomas, por ejemplo, la presencia de un orificio bastante estrecho y de amplias células oclusivas pronunciadas, puede conferir también una cierta resistencia a ciertas variedades contra el ataque de algunos patógenos.

El grosor y la dureza de la pared celular de los tejidos que son invadidos varía y pueden en ocasiones dificultar de manera notable el avance del patógeno. En particular, la presencia de haces o de amplias zonas de células esclerenquimatosas, como los que se encuentran en los tallos de muchos cereales, detiene la propagación de patógenos tales como las royas del tallo.

De la misma forma, el xilema, el parénquima limítrofe y las células esclerenquimatosas de las nervaduras de la hoja bloquean eficazmente la propagación de algunas bacterias, hongos y nematodos que producen las distintas manchas foliares "angulares" debido a que su avance es sólo en las zonas comprendidas entre las nervaduras de la hoja y no a través de ellas.

Aunque algunos patógenos se ven imposibilitados de entrar e invadir a las plantas debido a que éstas presentan estructuras de defensa internas o superficiales preformadas, la mayoría de ellos logran penetrar en sus hospedantes y producir diversos grados de infección. Sin embargo, incluso después de que el patógeno ha penetrado las estructuras de defensa preformadas, las plantas muestran varios grados de resistencia que consisten en la formación de uno o más tipos de estructuras que tienen más o menos una cierta efectividad para contrarrestar las invasiones posteriores de los patógenos sobre ellas. Algunas de las estructuras de defensa formadas incluyen a los tejidos que impiden el avance del patógeno (hacia el interior de la planta), por lo que se les denomina estructuras histológicas de defensa; otras comprenden las paredes de las células invadidas y se les denomina estructuras celulares de defensa; todavía otras incluyen al citoplasma de las células atacadas y al proceso se le denomina reacción de defensa citoplásmica. Por último, la muerte de las células invadidas puede proteger a la planta de otras invasiones, por lo que se le denomina al proceso reacción necrótica o reacciones de hipersensibilidad (Agrios, 2005).

Las barreras estructurales.-En muchas plantas se han observado de manera contundente que las paredes celulares se lignifican después de la infección por hongos, bacterias, virus y nematodos. Esta lignificación de las paredes celulares es uno de los mecanismos importantes de resistencia (Carver *et al.*, 1994; Mauch-maní

y Slusarenko, 1996; Morschbacher *et al.*, 1990). La lignina se forma por polimerización y deshidratación de precursores producidos en la vía metabólica de fenilpropanoides (Vance *et al.*, 1980). El primer paso en esta vía es la desaminación de fenilalanina a ácido cinámico catalizado por la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL). PAL suministra los precursores de lignina y para varios productos secundarios derivados de fenilpropanoides involucrados en la resistencia. Son ejemplos las fitoalexinas furanocumarina y isoflavonoides en perejil y leguminosas, respectivamente, así como al ácido salicílico (AS) (Ward *et al.*, 1991).

Aunque se sabe poco de su papel en RSA, la lignificación puede contribuir a la resistencia de diferentes maneras. La incorporación de lignina en la pared celular la fortalece mecánicamente y la hace más resistente a la degradación por enzimas secretadas por un invasor. Fortificar la pared celular puede aumentar la resistencia de varias maneras. Para los biotrofos extracelulares como *Pseudomonas syringae* sellar la pared puede impedir el lixivio de contenidos del citoplasma, reduciendo la disponibilidad de nutrientes para los patógenos. Para los necrotrofos como *Botrytis cinerea* que hidroliza la pared celular durante el crecimiento de la hifa, se retrasa la dilución de toxinas y enzimas en las células sensibles. Un tipo de fortificación de la pared celular que ocurre rápidamente en respuesta a la invasión de hongos es la formación de papilas que son heterogéneas en composición y se considera que bloquean físicamente la penetración del hongo. Las papilas de hojas de trigo inoculadas con *Botrytis cinerea* son altamente resistentes a la degradación *in vitro* por varias especies de hongos (Ride, 1980). En mono y dicotiledóneas es bien conocida la formación de aposiciones (papilas) en el sitio de intento de penetración como un medio para restringir la penetración de hongos en las células de la epidermis (Aist, 1976).

Después de la infección, la enzima peroxidasa también puede fortalecer la pared celular realizando uniones cruzadas de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (Bradley *et al.*, 1992). Todas estas alteraciones en la estructura de la pared celular después de la infección puede contribuir a la resistencia, ya sea deteniendo el ingreso del patógeno directamente o disminuyendo el proceso de penetración,

permitiendo que la planta active después los mecanismos de defensa. Se ha propuesto que la polimerización de los precursores de lignina por radicales libres en el espacio intracelular también puede permitir la lignificación de estructuras del patógeno. Hammerschmidt y Kuc., (1982) demostraron que el micelio de *Colletotrichum lagenarium* y *Cladosporium cucumerinum* se lignifica *in vitro* en presencia de alcohol coniferilo H_2O_2 y una preparación cruda de peroxidasa de plantas inmunizadas.

Estructuras celulares de defensa

Las estructuras celulares de defensa incluyen cambios morfológicos en la pared celular o cambios derivados de ella cuando la célula es invadida por el patógeno. Sin embargo, la efectividad de estas estructuras como mecanismos de defensa es limitada. Tres tipos principales de estas estructuras se han observado en las enfermedades de las plantas: a) La capa externa de la pared celular de las células parenquimatosas que entra en contacto con grupos de bacterias incompatibles se hincha, y este hinchamiento va acompañado de la producción de material fibrilar amorfo que rodea y atrapa a las bacterias y evita que se multipliquen; b) engrosamiento de las paredes celulares en respuesta a algunos virus y hongos patógenos, como es el caso de la respuesta de una lesión local a las infecciones virales y la respuesta del pepino al hongo de la sarna, *Cladosporium cucumerinum*. El material de engrosamiento parece ser de naturaleza celulósica, pero suele estar saturado de sustancias fenólicas que aumentan aún más su resistencia a la penetración; c) depósitos de calosa, papilas, en la superficie interna de las paredes celulares en respuesta a la invasión por hongos patógenos. Al parecer las células producen estas papilas al cabo de algunos minutos después de haber sido lesionadas y al cabo de 2 a 3 horas después de haber sido inoculadas con los microorganismos. Aunque la función principal de las papilas al parecer es reparar el daño celular, a veces en particular si las papilas están presentes antes de la inoculación parecen evitar también que el patógeno entre subsecuentemente en la

célula. En algunos casos, las puntas de las hifas de los hongos que penetran una pared celular y crecen hacia el lumen celular son rodeadas por materiales celulósicos (de calosa) que después se saturan de sustancias fenólicas y forman una vaina o en torno a la hifa (Devoto, 2002).

Córtex.-La corteza (córtex), el sistema fundamental forma una zona bien diferenciada, está situada entre la epidermis y el cilindro vascular o central. Presenta parénquima clorofiliano, grandes espacios intercelulares. La parte periférica presenta colénquima (Dicotiledónea) o esclerénquima (Monocotiledónea) o fibras formando anillos o bandas.

Los tallos de Gimnospermas y Angiospermas carecen generalmente de una endodermis (capa más interna de la corteza) no está diferenciada y puede contener abundantes granos de almidón se conoce entonces como vaina amilífera. Esta vaina en las Gimnospermas por lo general no se encuentra.

La corteza presenta un parénquima a menudo clorofilico. Los espacios intercelulares son prominentes, pero no tanto como en la corteza primaria de la raíz.

En muchas Angiospermas acuáticas, la corteza se desarrolla como un parénquima con un sistema de grandes espacios intercelulares.

La parte periférica de la corteza generalmente presenta un colénquima dispuesto en cordones o en una capa más o menos continua. Es menos frecuente encontrar esclerénquima como tejido de sostén primario en la región externa de la corteza del tallo Gonzales *et al.*, (2007).

La Médula.- Es el tejido parenquimático colocado en el centro del tallo y rodeado de tejido vascular. Sus células en ocasiones contienen cloroplastos y es frecuente que tengan leucoplastos que forman almidón; además, pueden depositarse tanino y cristales, y contener células de sostén como fibras o escleridas. Su origen es del meristemo fundamental (Gonzales *et al.*, 2007).

Haces vasculares.- Los tejidos vasculares primarios se forman a partir del procámbium. En el tallo de las plantas vasculares el xilema y el floema primarios se presentan asociados formando cordones denominados haces vasculares. Tanto el xilema como el floema constan de dos partes que se desarrollan una después de otra: proto y metaxilema, y proto y metafloema.

El protoxilema está formado por traqueidas anilladas o espiraladas que eventualmente se estiran y destruyen. El metaxilema es más complejo, puede tener vasos reticulados y punteados y fibras; es el único tejido conductor de las plantas que no poseen crecimiento secundario.

El metafloema tiene elementos cribosos con células acompañantes, además de células parenquimáticas. En las plantas sin crecimiento secundario, es el único floema de los órganos adultos (Gonzales *et al.*, 2007).

Parénquima.- Es el tejido representativo del sistema fundamental, constituye el relleno en órganos con tejidos primarios como raíces, tallos, hojas frutos carnosos y semillas. En tallos raíces y peciolo forma la corteza y la medula en hojas es el mesofilo; en frutos es la parte carnosa de ellos; en la semilla es el endospermo. Además, se le encuentra en el xilema y floema primarios y secundarios, así como en la felodermis de la peridermis. Su origen es a partir del meristemo fundamental; en el parénquima del xilema y floema secundario es a partir del cambium vascular; en la felodermis su origen es a partir del felógeno. Los órganos con gran cantidad de parénquima son de consistencia blanda (Gonzales *et al.*, 2007).

Engrosamiento de paredes.- La respuesta de defensa empieza localmente, es decir en las células adyacentes a la respuesta hipersensitiva se observa el engrosamiento de las paredes celulares por incorporación de proteínas estructurales o lignina. La lignina también se deposita alrededor de toda la pared celular de la planta, en interacciones incompatibles, favoreciendo la resistencia de la planta.

Después de la infección, la enzima peroxidasa también puede fortalecer la pared celular realizando uniones cruzadas de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (*Bradley et al., 1992*). Todas estas alteraciones en la estructura de la pared celular después de la infección puede contribuir a la resistencia, ya sea deteniendo el ingreso del patógeno directamente o disminuyendo el proceso de penetración, permitiendo que la planta active después los mecanismos de defensa. Se ha propuesto que la polimerización de los precursores de lignina por radicales libres en el espacio intracelular también pueden permitir la lignificación de estructuras del patógeno. *Hammerschmidt* y *Kuc*, (1982) demostraron que el micelio de *Colletotrichum lagenarium* y *Cladosporium cucumerinum* se lignifica *in vitro* en presencia de alcohol coniferilo, H₂O₂ y una preparación cruda de peroxidasa de plantas inmunizadas.

La lignificación puede ser una característica constitutiva en algunas especies pero también puede ocurrir como un proceso de refuerzo de los tejidos cuando están sujetos a daño físico. La lignificación también se manifiesta durante la defensa a patógenos. La acumulación de lignina en grandes cantidades puede ocurrir de forma localizada en los tejidos atacados por patógenos. La lignina se produce por la unión enzimática de unidades de fenilpropanoides formando largos polímeros que confieren impermeabilidad y resistencia mecánica; además, la lignina es resistente a la degradación producida por muchos patógenos (*Nicholson y Hammerschmidt 1992*).

La síntesis de lignina, al igual que la síntesis de ciertas fitoalexinas, se deriva del metabolismo de los fenilpropanoides en donde la enzima PAL juega un importante papel regulador.

Otro tipo de engrosamiento de la pared celular es cuando la celulosa interacciona con otras moléculas de celulosa a través de puentes de hidrogeno para formar la fibrilla elemental, micro y macrofibrillas. Las hemicelulosas interaccionan a través de puentes de hidrogeno con la celulosa. Las pectinas forman enlaces covalentes entre ellas. La extensina forma enlace covalente con otras extensinas y con las pectinas. Como resultado de todas estas interacciones tenemos una pared

que está formada por una malla de extensina que atrapa a las fibras de celulosa y todo esto suspendido en un gel hidrofílico de pectinas y hemicelulosa.

Papilas de callosas.- Otro mecanismo estructural de defensa es la formación de papilas. La papila es una estructura de resistencia que se produce por modificaciones de las células de la epidermis. Las papilas están compuestas principalmente de calosa (b-1,3-glucano) y se asocian a la resistencia porque evitan la penetración de los hongos (Skalamera *et al.* 1997). Depósitos de calosa en la cara interna de la pared celular de la planta, donde se produce la penetración del hongo, formándose una protuberancia. Está compuesta principalmente por calosa, pero puede presentar otras sustancias como lignina, compuestos fenólicos o sílice.

La calosa es un polímero de 1-3-glucano que es poco habitual. La calosa además de aparecer en las papilas puede depositarse de forma más generalizada por toda la pared, pero sólo en aquellas células que el hongo intenta infectar. Las células con calosa son más resistentes.

Defensa metabólica o (bioquímica)

Aun cuando las características estructurales proporcionen a las plantas varios grados de defensa contra el ataque de los patógenos, cada vez se hace más evidente que la resistencia de una planta al ataque de un patógeno no estriba tanto en las barreras estructurales sino en las sustancias que producen sus células antes o después de haber producido la infección. Esto lo apoya el hecho que un determinado patógeno no infectará a ciertas variedades de planta aunque éstas no presenten o formen algún tipo de barrera estructural. Un caso semejante se presenta en las variedades resistentes, en las que la velocidad de desarrollo de la enfermedad decae, y en el último de los casos se anula por completo, aún en ausencia de defensas estructurales. Además, la mayoría de los patógenos que penetran en forma natural en las plantas no hospedantes o los que son inoculados artificialmente en

plantas de ese grupo, no producen infección aun cuando al parecer no exista alguna estructura visible que les impida hacerlo. Todos estos ejemplos sugieren que los mecanismos de defensa son de naturaleza química más que estructural, y que a ellos se debe la resistencia a la infección causada por ciertos patógenos que muestran algunas plantas (Agris, 2005).

Proteínas PR.- Cuando un patógeno de origen fúngico invade el tejido de la planta, algunas proteínas nuevas aparecen y se acumulan en el tejido infectado. Estas proteínas son llamadas proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR), ya que aparecen durante la patogénesis (Vidhyasekaran, 2004, 2007). Estas proteínas no solo son inducidas por el ataque de hongos, sino también en el ataque de virus, bacterias, insectos y nematodos. Algunos reguladores de crecimiento como etileno, ácido indolacético y ácido absicico, inducen la formación de proteínas PR (Grilloet al., 1995; Clarke *et al.*, 1998; Wilkinson *et al.*, 2005). Los elicitores, toxinas y enzimas de los patógenos inducen la producción de proteínas PR (Halim *et al.*, 2004).

Proteínas protectoras.- Las proteínas protectoras pueden ser divididas en dos grandes grupos basados en sus patrones de expresión, aunque hay una considerable sobreposición entre ellas. El primer grupo de proteínas puede ser descrito como constitutivo o tejido-específico, y su expresión no está relacionada a la infección o daño, aunque pueden estar restringidos a órganos, tejidos o tipos de células específicos. Éstos están particularmente diseminados en semillas y otros tejidos de almacenamiento donde su presencia podría estar confiriendo resistencia al daño o infección en pre- y post-cosecha. Sin embargo, también podrían estar en algunos tejidos vegetativos, en gomas y látex.

Las proteínas protectoras constitutivas/tejido-específicas más ampliamente estudiadas son los inhibidores de enzimas hidrolíticas, principalmente de proteasas y amilasas. Estos inhibidores, los cuales están frecuentemente presentes en altas cantidades, actúan como proteínas de reserva (Richardson, 1991). Los inhibidores

de enzimas de plantas están clasificados en familias, basados en la secuencia de aminoácidos, estructura y sus especificidades (Cuadro 1). En el caso de los inhibidores de proteasas, los mejor estudiados han sido los de serín proteasas como tripsina, quimotripsina y subtilisina. Estos incluyen los inhibidores más ampliamente estudiados como son los Bowman- Birk y Kunitz, los cuales constituyen los principales componentes en semillas y leguminosas como la soya. Sin embargo, también se han caracterizado inhibidores de otra clase mecanística de proteasas, como carboxipeptidasas y cisteín proteasas. Estas últimas llamadas cistatinas, han sido analizadas en mayor detalle en arroz y son de particular interés en relación a la protección contra invertebrados plaga. Los inhibidores de α -amilasa han sido también caracterizados, aunque estos pueden ser altamente específicos para enzimas de una particular fuente (por ejemplo, algunos tipos de insectos, bacterias, hongos, plantas, mamíferos o aves). En algunos casos, tales proteínas son bifuncionales, inhibiendo tanto proteasas como α -amilasas. Por ejemplo, en semillas de trigo y cebada se encontró un inhibidor de α -amilasa y tripsina de la superfamilia de los cereales (llamados proteínas CM) (García-Olmedo y *col.*, 1992), un inhibidor bifuncional del mismo tipo está presente en ragi (Shivaraj y Pattabiraman, 1981) y en maíz el inhibidor de 12 kDa mostró tener ambas funciones (Blanco-Labra y *col.*, 1995).

Cuadro 1: Familias de Proteínas Relacionadas a Patogénesis (PRP), (Halim *et al.*, 2004).

Familias de Proteínas Relacionadas a Patogénesis (PRP)			
Familia	Miembro/tipo	Característica	Referencia
PR-1	RP-1a de tabaco	Actividad anti fúngica	Antoniw et al 1980
PR-2	RP - 2 de tabaco	β -1,3 glucanasa	Antoniw et al 1980
PR-3	P e Q de tabaco	Quitinasa	Van Loon
PR-4	R de tabaco	Actividad anti fúngica	Van Loon
RP-5	S de tabaco	Actividad anti fúngica	Van Loon
PR-6	Inhibidor I de tomate	Inhibidor de proteasa	Green e Ryan (1982)
PR-7	P69 de tomate	Endoproteasa	Vera e Conejero (1988)
PR-8	Quitinasa de pepino	Actividad de quitinasa e lisozima	Métraux et al (1988)
PR-9	Peroxidasa de tabaco	Actividad de peroxidasa	Lagrimini et al (1987)
PR-10	RP1 de salsa	Similar a ribonucleasa	Somssich et al (1986)
PR-11	Quitinasa V de tabaco	Actividades de quitinasa e Quitinasa	Melchers et al (1994)
PR-12	Rs AFP3 de rábano	Defensiva	Terras et al (1992)
PR-13	THI 21 de <i>Arabidopsis</i>	Tionina	Epple et al (1995)
PR-14	LTP4 de cevada	Proteína transferidora de lípidos	García Olmedo et al (1995)
PR-15	OxOa (germin) de cevada	Oxalato oxidase	Zhang et al (1995)
PR-16	OxOa (germin) de cevada	Similar a Oxalato oxidasa	Wei et al 1998
PR-17	OxO LP de cevada	Desconocida	Okushima et al (2000)

Endohidrolasas.- Dos de los principales grupos de las proteínas PR, fueron descubiertas en la infección en tabaco por el virus del mosaico del tabaco (VMT), son las β -1,3-glucanasas (grupo 2 de las proteínas PR) y endoquitinasa (grupo 3 de las proteínas PR) (Linthorst y *col.*, 1990). Ya que los b-glucanos y la quitina están presentes en la pared celular de muchos hongos patógenos (Bowles, 1990), no es sorprendente que ambos grupos de endohidrolasas hayan mostrado propiedades antifúngicas. Ambos tipos de endohidrolasas existen en dos formas: - isoformas extracelulares ácidas (proteínas PR clásicas) y las isoformas vacuolares básicas (Neuhaus y *col.*, 1991).

Tioninas.- Las Tioninas fueron primeramente purificadas de la harina del germen de trigo en la década de los 40's y fueron llamadas purotioninas (Balls y *col.*,

1942). Aunque inicialmente se pensó que eran lipoproteínas debido a su presencia en los extractos de éter de petróleo, posteriormente se identificaron en extractos de soluciones salinas. Se han purificado proteínas relacionadas de otros cereales (cebada, centeno, avena) mostrando que todas son ricas en cisteína (Mr 5000) y residuos básicos (García-Olmedo *y col.*, 1989).

Proteínas relacionadas a taumatina.- Las proteínas relacionadas a taumatina (PR-5) de tabaco, son inducidas por infección con el VMT (Vigers *y col.*, 1992). Dos isoformas tienen 97% de identidad a nivel de secuencia de aminoácidos, cada una consta de 226 residuos incluyendo la péptida señal de 25 residuos (Payne *y col.*, 1988). Estas proteínas contienen seis cisteínas, las cuales por comparación con taumatina (aproximadamente un 65% de identidad), se predice que forman ocho puentes disulfuro (De Vos *y col.*, 1985).

Fenilalanina amonio liasa (PAL).- Los patógenos que atacan a las plantas al parecer inducen alteraciones en la síntesis de enzimas de ésta, que pueden dar lugar al desarrollo de varios grados de resistencia en torno a los sitios de infección. Una enzima que por lo regular exhibe una mayor actividad o una nueva síntesis, mucho mayor, en los tejidos enfermos es la fenilalanina amonio liasa (PAL), que es una enzima clave en la producción de la molécula básica que se utiliza para la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos, entre ellos las fitoalexinas y la lignina. La resistencia de las plantas ante un patógeno va a depender de la velocidad y el grado de la síntesis de una o varias enzimas que inducen los patógenos u organismos similares no patogénicos sobre la planta. Este tipo de defensa quizá se encuentra relacionado al producido por las cantidades incrementadas de los compuestos fenólicos comunes, fitoalexinas y otros compuestos, en cuyo caso se requieren otras enzimas para la síntesis de fitoalexinas, aunque existe la posibilidad de que los dos mecanismos funcionen por separado.

De acuerdo con diversos estudios en otros modelos planta-patógeno, enzimas involucradas en la vía fenilpropanoide, como la fenilalanina amonio liasa (PAL),

participan de manera determinante en la generación de compuestos fenólicos y estructuras de defensa y es probable que su regulación coordinada durante el evento de la interacción contra microorganismos patógenos sea clave en la activación de los mecanismos de defensa vegetales. La PAL es la enzima que, al catalizar la primera reacción de la ruta fenilpropanoide, se ha encontrado que puede regular la generación de los diferentes metabolitos obtenidos por esta vía biosintética y ha sido relacionada, por ello, con mecanismos de defensa que se activan en otros modelos (Petersen, 1999).

Fitoalexinas.- Las fitoalexinas se definieron originalmente como metabolitos secundarios de bajo peso molecular, con propiedades antimicrobianas y que se producen y acumulan en plantas expuestas a microorganismos (Paxton 1981). Estos compuestos normalmente se encuentran en niveles basales muy bajos en las plantas sanas pero su acumulación se incrementa dramáticamente después del ataque de un patógeno. Las fitoalexinas se acumulan en grandes cantidades tanto en el sitio de penetración como en las células y tejidos adyacentes a las células que reaccionan con la HR (Hammerschmidt 1999). Entre las fitoalexinas más estudiadas se encuentran aquellas derivadas del metabolismo de los fenil propanoides que tienen como base el aminoácido fenilalanina.

La producción de fitoalexinas se ha correlacionado con la resistencia a patógenos y se asocia con la inducción de una serie de genes que codifican para enzimas específicas responsables de su síntesis.

Entre ellas la fenilalanina amonio liasa (PAL), la chalcona sintasa (CHS) y la chalcona isomerasa (CHI). La síntesis de *novo* de estas enzimas, como respuesta a la infección se ha demostrado anteriormente (Cuypers et al. 1988). Sin embargo, una evidencia del papel de las fitoalexinas en mecanismos de defensa se obtuvo cuando se demostró la capacidad de ciertos fitopatógenos, como el hongo *Nectria haematococca* (*Fusarium solani*) de detoxificar las fitoalexinas (VanEtten et al. 1995).

Compuestos fenólicos.- Con frecuencia se ha observado que ciertos compuestos fenólicos "comunes" que son tóxicos para los patógenos, se producen y

acumulan a un ritmo mucho mayor después de haberse producido una infección en una variedad resistente que en una susceptible. Algunos ejemplos de esos compuestos son el ácido clorogénico, el ácido caféico y escopoletina, etc. Aun cuando alguno de esos compuestos fenólicos comunes llegue a alcanzar concentraciones que pudieran ser tóxicas para el patógeno, debe tenerse en cuenta que algunos de ellos aparecen concurrentemente en los mismos tejidos enfermos y que el efecto tóxico combinado de todos los fenoles fungitóxicos presentes (más que el de cada uno de ellos por separado), es posiblemente el responsable de la inhibición de las infecciones en las variedades resistentes (*Agrios, 2005*).

Peroxidasas.- Las peroxidasas están ampliamente distribuidas entre las plantas superiores, parte de su importancia se debe a que catalizan la oxidación de varios fenoles donadores de electrones en presencia de peróxido de hidrógeno, generando radicales libres que reaccionan entre sí y producen dímeros. La peroxidasa de rábano es una enzima muy efectiva para oxidaciones orgánicas e inorgánicas pero su utilización está limitada a una sola fuente comercial, que tiene un alto costo y en ocasiones tiene limitada capacidad para reconocer nuevos sustratos. Algunas de las funciones fisiológicas de las peroxidasas en las plantas son: su participación en la biosíntesis del etileno, la defensa contra infecciones, en la curación de heridas y en la lignificación de la pared celular (*McInnis et al., 2006*).

β -1,3-glucanasas.- Las β -1,3-glucanasas son proteínas ampliamente distribuidas en plantas implicadas en muchos procesos metabólicos como estrés, infección y procesos de desarrollo. Debido a su capacidad para hidrolizar β -1,3-glucanos, componentes esenciales de la pared celular de hongos y bacterias, han sido designadas como proteínas relacionadas a la patogénesis perteneciente a la familia 2 (PR-2). Las β 1,3-glucanasas desempeñan su función de protección a través de dos mecanismos: 1) Por medio de la hidrólisis del enlace β -1,3/1,6-glucano presente en las paredes celulares de los patógenos. Este hecho hace al patógeno más susceptible a la lisis y posiblemente a otras respuestas de defensa de la planta;

y 2) se sugiere que las β -1,3-glucanasas desempeñan un papel defensivo indirecto a través del cual los oligosacáridos de β -1,3/1,6-glucano, que se desprenden de las paredes del patógeno inducen una amplia gama de respuestas de defensa de la planta. A la fecha se han descrito varias β -1,3-glucanasas de plantas como alergénicas, las cuales han sido reconocidas por los anticuerpos tipo de personas con síndrome látex-fruta polen. Estas enzimas también han sido reconocidas como alérgenos implicados en el asma ocupacional. A nivel de secuencia primaria y pese a provenir de diferentes especies, entre estas proteínas se presenta una alta homología. Así mismo, los epítomos lineales que han sido recientemente reportados para la β -1,3-glucanasas de plátano, están muy conservados (Peumans *et al.*, 2000).

Sustancias Utilizadas para Inducir Resistencia en Plantas

Quitosán

El quitosán es un polisacárido de cadena lineal poco frecuente en la naturaleza y que se obtiene mediante la desacetilación extensiva de la quitina un homopolímero β -1,4 enlazado de la N-acetil-D-glucosamina, presente en el exoesqueleto de los crustáceos, moluscos, en la cutícula de los insectos y como constituyente de las paredes celulares de muchos tipos de hongos. La quitina es el segundo polisacárido en abundancia. La quitina es estructuralmente similar a la celulosa en cuanto a su naturaleza de polisacárido. El método más utilizado para la obtención de quitosán es mediante tratamiento químico que consiste en la desacetilación alcalina de la quitina, y en un medio ácido se produce una fuerte hidrólisis de la cadena de la quitina (Peniche, 2001).

La actividad antimicrobiana del quitosán contra varias bacterias y hongos es bien conocida, y ha sido reportada por numerosos autores. Esta propiedad es debida a la naturaleza policatiónica del quitosán, facilitando su aplicación en una gran variedad de campos, incluyendo bromatología, agricultura, medicina, farmacia y textiles. Han sido propuestos diferentes mecanismos para explicar la inhibición

microbiana por el quitosán, pero el mecanismo exacto es desconocido. El más aceptado explica la interacción de la carga positiva del quitosán con la carga negativa en la superficie de las células de muchos hongos y bacterias, el cual causa alteraciones extensivas en la superficie celular y altera la permeabilidad celular. Esto causa la filtración de sustancias intracelulares, igual que de electrolitos, proteínas, aminoácidos, glucosa y lactato deshidrogenasa. Como resultado el quitosán inhibe el metabolismo normal de los microorganismos y finalmente lleva a la muerte éstas células (Lim y Hudson, 2003).

BHTBenzotiazole

El S-metil benzo [1, 2,3] tiadiazol-7-carbotioato (BTH) suministra protección frente a diversas enfermedades en una amplia gama de cultivos (Colson-Hanks *et al.*, 2000; Colson-Hanks y Deverall, 2000; Maxson-Stein *et al.*, 2002; Agostiniet *al.*, 2003).

Son numerosos los estudios realizados en una gran variedad de cultivos que muestran que BTH resulta efectivo frente a distintos patógenos, pero también se sabe que hay que tener en cuenta muchos aspectos que varían en función del tipo de cultivo, el número de tratamientos a efectuar, el momento de aplicación de los mismos, la cantidad de producto en cada aplicación y la combinación con otros productos como pesticidas. Por ejemplo, en cultivos de monocotiledóneas como trigo (Gorlach *et al.*, 1996; Stadnik y Buchenauer, 1999a; Stadnik y Buchenauer, 1999b) se ha demostrado que la aplicación de BTH crea resistencia frente a mildiu si se aplica una sola vez al final de la formación del tallo (Morris *et al.*, 1998), mientras que en cultivos de dicotiledóneas como pimiento y tomate para crear resistencia frente a manchas bacterianas causadas por *Pseudomonas syringae* pv. tomato y *Xhantomonas. Axonopodis* pv. *vesicatoria* deben realizarse aplicaciones cada 7-10 días (Louws *et al.*, 2001). También se han realizado ensayos en otras solanáceas como tomate y tabaco (Csinos *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2003), leguminosas como haba o soja (Dann y Deverall, 1995; Dann y Deverall, 1996) y frutales como manzanos y perales (Ishii *et al.*, 1999; Maxson-Stein *et al.*, 2002).

Entre los factores positivos relacionados con el empleo de este tipo de descompuestos, se podrían destacar que: A) evitan los problemas relacionados con la aparición de resistencias a los patógenos inducidas por los pesticidas clásicos; B) pueden sustituir a los numerosos pesticidas que actualmente son de retirada obligatoria, al no ser compatibles medioambientalmente; C) reducen los riesgos para la salud que pueden presentar los pesticidas químicos; D) pueden ser efectivos contra enfermedades producidas por virus y patógenos de suelo frente a los cuales los tratamientos químicos no son eficaces; E) no hay necesidad de introducir genes foráneos en las plantas, y por tanto, se evita el rechazo social que provocan las plantas transgénicas.

Ácido salicílico

El funcionamiento del ácido salicílico (AS) es relativamente sencillo, es el mensajero interno natural de las plantas. Lo que significa que cuando una planta es atacada por una enfermedad o plaga, ella genera AS para advertirle al resto de la planta que está siendo afectada y que suba sus defensas (compuestos presentados arriba). Teniendo esto en mente, se sabe por qué el AS aplicado externamente tiene el efecto de activador de resistencia. La desventaja del AS es que su vida dentro de la planta es muy corta, siendo inmovilizada en las paredes celulares, por lo cual se vuelve necesaria la aplicación rutinaria durante toda la vida del cultivo para poder mantener altos niveles de resistencia. La ventaja de su fijación rápida es que si se sobre dosifica, el daño no es permanente y se repone rápidamente en 7 a 10 días máximo. El AS es altamente móvil dentro de la planta, por eso puede proteger hasta partes no cubiertas en la aplicación foliar o aplicarlo por el sistema de riego para ser absorbido por el sistema radicular EDA, 2008.

Los patógenos incompatibles ya sean hongos, virus o bacterias, provocan la acumulación de ácido salicílico (AS) y de ácido benzoico (AB) y sus respectivos glucósidos conjugados, formándose altas concentraciones en la vecindad del sitio de infección. Niveles elevados de AS también pueden inhibir la expresión de genes que

son inducidos por heridas bloqueando la biosíntesis de ácido jasmonico (Farmer *et al.*, 1994).

El AS se sintetiza por la vía del metabolismo fenilpropanoide desde acido cinámico y acido benzoico. Se acumula intracelularmente en un receptor específico o se une a la enzima catalasa. Normalmente la catalasa protege a la planta contra el estrés oxidativo ejercido por las especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, esta actividad de la catalasa es bloqueada por la unión del ácido salicílico (Chen *et al.*, 1993). Así que, alterando la cantidad de ácido salicílico dentro de la célula, se puede regular el nivel de las especies reactivas de oxígeno como el peróxido de hidrogeno. Si solamente una pequeña cantidad de ácido salicílico está presente en la célula, y poco unido a la catalasa, su actividad permanece alta, manteniendo el nivel de especies reactivas de oxígeno bajo. Cuando los niveles de ácido salicílico son altos y la actividad de la catalasa baja, el nivel de las especies reactivas de oxígeno permanecen altas liberando la síntesis de proteínas-PR. La síntesis de proteínas-PR también puede inducirse artificialmente inyectando peróxido de hidrogeno en las hojas de las plantas.

El estallido oxidativo que sucede después de la infección por el patógeno puede tener su efecto óptimo, cuando aumenta la síntesis del ácido salicílico y la actividad de la catalasa es baja, permitiendo que la expresión de las proteínas-PR dispare la actividad de las especies reactivas de oxígeno.

RSA también puede ser liberada rociando o inyectando a las plantas ácido salicílico, o por tratamiento con peróxido de hidrógeno, metil-2,6-ácido dicloroisonicotínico (INA), o venzo (1, 2, 3) thiadiazol-7-ácido carbotionico (BTH) (Ward *et al.*, 1991). Estos químicos no funcionan como antibióticos, más bien parecen inducir en plantas la expresión de la misma respuesta de resistencia y el mismo conjunto de genes que cuando son inducidos por un patógeno. Esto sugiere que INA y BTH son activadores de RSA, mientras que el H₂O₂ y el ácido salicílico son metabolitos presentes en la planta que están involucrados directamente en el establecimiento de RSA. Por ejemplo se demostró que una infección por el virus del

mosaico del tabaco (TMV) también como el tratamiento con ácido salicílico o INA libera la síntesis del mismo conjunto de 13 proteínas-PR diferentes. Esto demostró que INA es traslocado en un día desde las hojas jóvenes superiores hacia las raíces, liberando la síntesis de quitinasa, es decir una reacción de defensa contra infecciones de hongos y bacterias (Ward *et al.*, 1991).

Ácido jasmónico

Los jasmonatos son fitohormonas lipídicas, derivados oxigenados de los ácidos grasos linoleico y linolénico, principalmente, que actúan como moléculas señalizadoras de la respuesta de las plantas a numerosas situaciones de estrés y participan en diversos procesos de desarrollo. Entre las situaciones de estrés que regulan están las heridas (mecánicas o bióticas), la exposición a ozono, sequía y el ataque por patógenos y plagas. Entre los procesos de desarrollo en los que participan los jasmonatos están el crecimiento de la raíz, la tuberización, la maduración de frutos, senescencia, desarrollo del polen y enrollamiento de zarcillos (Penninckx *et al.*, 1996; Creelman y Mullet, 1997; McConn *et al.*, 1997; Pieterse *et al.*, 1998; Reymond y Farmer, 1998; Staswick *et al.*, 1998; Overmyer *et al.*, 2000; Berger, 2002; Rao *et al.*, 2002; Turner *et al.*, 2002; Farmer *et al.*, 2003; Rojo *et al.*, 2003).

La ruta de biosíntesis de los jasmonatos (ruta de los octadecanoides) ha sido extensamente estudiada y se dispone de mucha información acerca del tipo de enzimas implicados en cada paso y de la localización sub celular de los mismos (Mueller, 1997; Berger, 2002; Turner *et al.*, 2002). Sin embargo, a pesar de la importancia de los jasmonatos como moléculas señalizadoras, el conocimiento actual de los mecanismos moleculares de transmisión de señales mediadas por jasmonatos es muy limitado. Los pocos componentes de esta ruta de señalización descritos hasta el momento se han identificado principalmente gracias a escrutinios genéticos buscando plantas que, o bien mostrasen una respuesta constitutiva o aumentada a ácido jasmónico (JA), o bien exhibieran una sensibilidad reducida a JA, a derivados

como el metil-jasmónico (Me JA) o a análogos como la coronatina (Turner *et al.*, 2002).

Actividad Antimicrobial e Inducción de Resistencia en Plantas con el uso de Extractos Botánicos

Los productos naturales de origen vegetal han sido, en las últimas dos décadas, mayormente estudiados en su parte química, con énfasis en los metabolitos secundarios, los cuales están implicados en el control biológico contra patógenos o plagas, y en ciertos casos, activando procesos de defensa en la planta, brindando una protección preventiva (Kagale *et al.* 2004).

Los metabolitos secundarios, son sustancias de bajo peso molecular, no son comunes en todas las plantas y por el contrario, pueden ser una expresión de la individualidad química de un organismo. Los productos del proceso fundamental de la fotosíntesis proporcionan los intermediarios biosintéticos necesarios para dar lugar a la formación de los metabolitos secundarios, haciéndose evidente la interconexión entre productos del metabolismo primario con el secundario (Gil 2002).

Los compuestos fenólicos sencillos (hidroxibenzoicos o hidroxicinámicos), son metabolitos secundarios comunes en las plantas con propiedades fungicidas. Las cumarinas clasificadas como antifúngicas y antibacteriana. Los conjugados de fenilpropanoides con aminas, se incorporan a la pared celular vegetal para aumentar su rigidez e impedir la entrada de los patógenos. En cuanto a las fitoalexinas, estas son sintetizadas por las plantas, después de la infección y en actividad inhibitoria de microorganismos patógenos, se han identificado un grupo importante, por ejemplo, la pisatina, la cual es un flavonoide sintetizado por el guisante, *Pisum sativum*, como reacción a la infección por hongos, siendo esta la primera fitoalexina aislada y caracterizada (Gil., 2002).

Por otro lado, aquellas que hacen parte de la respuesta hipersensible, como es el caso de algunos compuestos pertenecientes a los grupos de los alcaloides, los

terpenoides y los fenilpropanoides, participan activamente matando directamente al microorganismo patógeno o restringiendo su invasión al resto de la planta. Al mismo tiempo, otros metabolitos secundarios contribuyen a destruir las especies reactivas de oxígeno que son tóxicas para la misma célula vegetal, las cuales se sintetizan durante las etapas tempranas de la respuesta de defensa. Es así, como algunos metabolitos secundarios constituyen una parte importante de la respuesta de la defensa de las plantas sometidas al ataque por patógenos (Sepúlveda *et al.* 2003).

En el caso del patosistema pepino-*Podosphaera xanthii*, causante del mildiú polvoriento, al ser tratado con un inductor exógeno, proveniente de las hojas de milsana (*Reynoutria sachalinensis*), se observó rápidamente la síntesis de una fitoalexina, C-glycosidil conocida como cucumarina, la cual se acumula en el sitio de penetración del hongo, jugando un papel importante en el bloqueo, colonización y supervivencia del patógeno. Se reportó que la lignificación de la pared celular y el aumento en actividad de las enzimas quitinasas, peroxidasas y β 1, 3 glucanasas (Fofana *et al.* 2005).

En la naturaleza existe una gama muy amplia de plantas que producen una diversidad de metabolitos secundarios tóxicos, tal características les permite a estas plantas actuar como antagonistas de patógenos bióticos y plagas. Su potencial antagonistas lo podemos explotar al rotarlas o asociarlas con los cultivos o al incorporar sus residuos al suelo. Otra forma de aprovechar dicho antagonismo es mediante la preparación de extractos o infusiones a partir de sus tejidos (García y Montes, 1992; Montes *et al.*, 1992, 1993, 1997; Fraire *et al.*, 1993; Campos *et al.*, 1994; Díaz; 1994; Medrano *et al.*, 1994; Díaz-Plaza, 1996; Verduzco, *et al.*, 1996). *Tagetes erecta* (“cempasúchil” o “flor de muerto”) es una de las plantas ampliamente reconocida como poseedora de propiedades fúngicas, nematocidas e insecticidas; sus propiedades antagonistas se deben a la presencia de compuestos terpenoides en sus tejidos. Zavaleta-Mejía y *col.*, en 1997 reportan que el rotar e incorporar los residuos de cempasúchil o al asociarlo con chile o jitomate, se tiene una reducción significativa en el agallamiento radical ocasionado por los nematodos *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*, en las hortalizas mencionadas. En pepino, Tun *et al.* En el 1997 mencionan haber controlado nematodos fitoparásitos con la

incorporación de cempazuchil. Por otro lado, en la asociación cenpazuchil-tomate se produjo una reducción significativa en el daño por el hongo *Alternaria solani* en el follaje y fruto del tomate (Rojas-Martínez *et al.*, 1994; Zavaleta-Mejía y Gómez, 1995).

Crotalaria longirostrata (chipilín).- En asociación con tomate o incorporando sus residuos al suelo, se obtuvo una reducción significativa en el agallamiento de raíces inducido por *M. incógnita* en tomate (Villar y Zavaleta-Mejía, 1990). Otras plantas con potencial para utilizarse como antagonista de fitopatógenos son las crucíferas (Brassicaceas); por ejemplo, Zavaleta-Mejía *et al.* (1990) señalan que con la incorporación de residuos de col o brócoli al suelo se obtuvieron reducciones significativas en el agallamiento inducido por *M. incognita* en jitomate. En cebolla también se redujo la incidencia y severidad de la pudrición blanca causada por *Sclerotium cepivorum* (Zavaleta-Mejía Rojas, 1990; Zavaleta-Mejía *et al.* 1990; Zavaleta-Mejía y Gómez, 1994).

Lippia graveolens.-El aceite esencial de hojas de orégano mexicano presenta fenoles timol y carvacol que son los principales componentes que le confieren poder antibacteriano y antifúngico (Obledo *et al.* 2004).

Cymbopogon citratus.- El aceite esencial obtenido desde hojas de zacate de limón que es rico en citral , myrceno, dipenteno, methylheptenona, ciertos alcoholes, y ácidos volátiles, presenta actividad antifungica, contra *Mycosphaerella fijiensis* en bioensayos realizados in vitro (Obledo *et al.*2004).

Hiba arborvitae.- (Cedro blanco) inhiben la germinación de esporas de *Botritis cinérea* (Hernández y Bautista 2007); y el crecimiento micelial *Sclerotiorum* aplicados a diferentes concentraciones (Zapata *et al.*, 2003).

Todos estos antecedentes dan una idea del gran potencial que tiene el uso de plantas antagonistas; sin embargo, para manipular de manera racional y eficaz a estas plantas es de fundamental importancia determinar qué factores y/o condiciones

favorecen la máxima expresión del antagonismo, así como los mecanismos responsables del control.

Heliopsis longipes

Clasificación Taxonomica

División:..... Magnoliophyta

Clase:.....Magnoliophyta

Orden:..... Asterales

Familia:.....Asteraceae

Tribu:.....Heliantheae

Género:.....*Heliopsis*

Especie:.....*longipes*

El género *Heliopsis* pertenece a la tribu *Heliantheae* de la familia Asteraceae. La mencionada tribu comprende cerca de 2,500 especies agrupadas en 189 géneros y está fraccionada en diez subtribus. *Heliopsis*, asociado *Zinnia*, *Philactis*, *Sanvitalia*, *Acmella*, *Podachaenium*, *Squamopappus*, *Spilanthes* y *Salmea*, conforma la sub tribu Zinniinae (Bremer 1994), cuyos miembros comparten, en su morfología, la presencia de capítulos solitarios, receptáculos cónicos o hemisféricos, flores liguladas pistiladas, fértiles y persistentes, flores del disco fértiles y aquenios del disco lateralmente comprimidos o angulados. La mayor diferencia que separa las especies de *Heliopsis* de las de otros géneros es la siguiente combinación de caracteres: la presencia de flores fértiles en el disco, flores liguladas persistentes y fértiles, corolas sésiles y persistentes, aquenios gruesos, 3 a 4-angulares y vilano ausente.

Heliopsis longipes se encuentra distribuida en México en la Sierra Gorda, en el centro del país en la región de colindancia de los estados de Guanajuato, San Luis Potosí y Querétaro, en este género sólo se han encontrado alcamidas alifáticas y

acetilénicas. Otro conjunto lo constituyen las amidas que presentan anillos homo o heterocíclicos. Este tipo de estructuras se observan en forma particularmente diversa en la familia Piperaceae e incluye varios alcaloides (Parmar *et al.*, 1997). Las alcanidas son consideradas compuestos bioactivos, esto es, una pequeña cantidad del compuesto evoca una respuesta notable en las células receptoras.

H. longipes fue la primera especie en la que se determinó la presencia de una alcanida olefínica (Acree *et al.*, 1945). Sin embargo, la planta cuya muestra de raíces fue sometida para su análisis en laboratorio resultó erróneamente identificada como *Erigeron affinis* y así, la amida aislada fue denominada afinina. El descubrimiento de la afinina, un compuesto insecticida, en esta especie despertó interés por su notoria actividad. La afinina es la alcanida mayoritaria en las raíces de esta planta y principal responsable de los efectos biológicos específicos observados, entre los que se pueden considerar la acción de anestésico local, el estímulo organoléptico, así como la actividad insecticida y bactericida. Por mucho tiempo se consideró a la afinina como único componente bioactivo en este tejido, cuyo extracto crudo se ha utilizado para el estudio de sus aplicaciones, mismas que recientemente se han extendido mostrando un potencial agronómico importante en el control biológico de bacterias y hongos fitopatógenos (Ramírez *et al.*, 2000).

El análisis fotoquímico más detallado de las raíces de *H. longipes* ha revelado la presencia de otros principios bioactivos y de propiedades antimicrobianas de algunas alcanidas individuales (Molia *et al.*, 1999).

Otras alcanidas presentes en *H. longipes* son: N-isobutil-decamida, N-isobutil- 2E-monoen-decamida, N-isobutil-6Z, 8E-dien-decamida, N-isobutil 2E, 6Z, 8E-trien-decamida, N-isobutil 2Z-en-8,10 diin- undecamida, N-(2-metilbutil) 2E, 6Z, 8E triendecamida, N-isobutil 2Z, 4E, dien-8, 10 diin undecamida, N-isobutil 2E-en-8,10 diin undecamida, N-isobutil 2E, 4E dien 8,10 diin undecamida, N-isobutil 2E, 4Z, 8Z, 10E, tetraen-dodecamida, 2E, 6Z, 8E-trien-decanoato de bornilo, N-(2-metilbutil)-2E, 4Z, 8Z, 10E, tetraen-dodecamida (García *et al.*, 2004).

Este producto "afinina" y el extracto crudo de *Heliopsis longipes* se evaluaron como fungicida de dos importantes hongos fitopatógenos que son *Sclerotium cepivorum* y *Sclerotium rolfsii*, mostrando actividad inhibitoria sobre estos dos

patógenos. Se obtuvo máxima inhibición a concentraciones de afinina de 75ug/ml. La acción de este producto es debida a una sustancia llamada alcanida que es la que se encuentra en mayor cantidad en las raíces de esta planta la cual su efecto de inhibición es hacia el contenido de ergosterol y sobre los ácidos grasos mayoritarios en el micelio del hongo. (Valdez y col. 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

La presente investigación se realizó en el departamento de parasitología, en el laboratorio de biotecnología molecular de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista a 7 Km al sur de la Ciudad de Saltillo, Coahuila.

Cultivo Fúngico y Condiciones de Crecimiento

Los aislados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raza 3 se realizaron a partir de raíces de plantas de tomate enfermas obtenidas en el área de Silao, Guanajuato, México. El aislamiento y purificación se realizó por la técnica de punta de hifa (Montiel *et al.*, 2005).

Los aislados con características morfológicas macroscópicas semejantes al género *Fusarium*, fueron seleccionados para su identificación a nivel de género, en base a sus características morfológicas como: macroconidias en forma de canoa, micelio, clamidiosporas y esporodoquios correspondientes a *Fusarium* sp de acuerdo con las claves de Nelson *et al.*, (1983). Los aislados seleccionados con características del género *Fusarium*, fueron sembrados inicialmente en PDA, cuando estuvo la caja totalmente invadida por el crecimiento, se agregaron 10 ml del líquido crioprotector (glicerol al 10% / leche descremada al 5%) y se raspó el micelio hasta que se desprendiera y se mezclara con el líquido. Posteriormente, se colocó esta mezcla en tubos Eppendorf de 1.5 ml estériles, y se almacenaron a -72°C (Henaó *et al.*, 2006).

Para llevar a cabo la identificación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se realizó la extracción de ADN de las cepas de *Fusarium*, se llevó a cabo utilizando la técnica de Lee *et al.* 2000. Para la identificación molecular por medio de PCR, se utilizaron los primers CNL12 (5'-CTGAACGCCTCTAAGTCAG-3') y CNS 1 (5'-GAGACAAGCATATGACTACTG-3') que codifican para la región intergénica

ribosomal (IGS) ubicada entre la subunidad pequeña y la subunidad grande. La temperatura de desnaturalización fue de 94°C por 1 min, seguida de la temperatura de anillamiento de 54°C por 1 min y la temperatura de extensión a 72°C por 2 min (Hyun *et al.*, 2001).

Prueba de patogenicidad *in vivo*

La prueba *in vivo* se llevó a cabo con plantas de tomate de 5 a 6 hojas verdaderas de la variedad Río Grande, sembradas en charolas con turba: perlita, a una proporción 1:1. La prueba se dividió en 6 tratamientos: testigo absoluto (TA), testigo infestado con *F.oxysporum f. sp. lycopersici Raza 3*, plantas asperjadas con el extracto de *H. longipes* (HL), plantas asperjadas con el extracto de *H. longipes* e inoculadas con FOL (HL+FOL), plantas asperjadas con el Control + (C+), plantas asperjadas con el Control + e inoculadas con FOL (C+ +FOL).

Se aplicó el extracto etanólico de *H. longipes* a una dosis de 300 ppm y el control comercial positivo a una dosis de 250 ml/Ha a las plantas de tomate por aspersión, cuatro días después, se inocularon las plantas de los tratamientos FOL, HL+FOL Y C++FOL, utilizando la técnica de inmersión de raíces en una solución de esporas de FOL DE 1×10^6 esporas/ml durante 15 minutos.

Se tomaron muestreos cada 12 horas, después de la aplicación del extracto de *H. longipes* y el Control positivo, hasta las 48 horas, posteriormente se tomaron muestreos al tercer día hasta el sexto día. Veinte días después de la inoculación, se tomaron los datos de incidencia y severidad (Escala de Diener, 2005).Escala de Diener, la cual consiste en lo siguiente: 0 planta muerta; 1 las hojas viejas muertas, las jóvenes crecimiento detenido; 2 las hojas viejas cloróticas, hojas jóvenes con crecimiento detenido; 3 hojas viejas tienen clorosis vascular, hojas jóvenes con crecimiento detenido; 4 los peciolo de las hojas con crecimiento detenido; 5 no hay síntomas visibles.

Estudio Histopatológico

Deshidratación

Para este estudio se utilizaron muestras de tallo y raíz de dos diferentes muestreos, el primero realizados tres días después de aplicar el extracto de *H. longipes* y el control positivo, y el segundo tres días después de la inoculación. El tejido de raíces y tallos fue deshidratado con una solución de alcohol etílico al 95% y posteriormente con un solvente cuyo componente principal es el xilol. Alcohol al 50%, 60%, 70%, 85%, 95% + eosina, alcohol absoluto 1 y 2, xilol-alcohol absoluto 3-1, 1-1, 1-3, xilol puro 1, xilol puro 2. El tejido cortado se sumergió por espacio de 2 horas en cada solución anterior.

Inclusión en parafina

Se colocaron los frascos cerrados con el material vegetal en la estufa a 35°C con xilol + parafina por 24 horas. Se cambió la temperatura a 45°C y se agregó más parafina a los frascos con el material vegetal, los frascos se cerraron y se incubaron por 24 horas, posteriormente se cambió la temperatura a 50°C y se hizo un cambio de parafina pura vaciando la parafina con xilol en otro frasco. Se cambió la temperatura a 60°C y se hizo otro cambio de parafina pura incubando por 24 horas. Se prepararon los moldes de aluminio de 9x12 cm, en donde el tejido y la parafina se solidificaron una vez que los tejidos tratados estuvieron dentro de la parafina con su etiqueta correspondiente.

Seccionamiento (cortes en el micrótopo)

Se removió cuidadosamente del bloque de parafina un pedazo que contuviera el tejido que se deseaba seccionar, con una navaja de un solo filo, se removió la

parafina en los cuatro lados del bloque donde quedó a la vista la muestra con el tejido.

Se colocó la platina con el tejido en el micrótopo. Se regularon las micras en el micrótopo las cuales fueron de 15 micras. La cinta de parafina obtenida con el tejido se montó en un portaobjetos utilizando el adhesivo de haupt y fijándolo con calor.

Tinción

Se utilizó la doble coloración de safranina-fast green. Posteriormente se secaron las muestras y se montaron con Bálsamo de Canadá. Las muestras se analizaron en un microscopio óptico (Carl Zeiss) con cámara integrada y con el programa Pixera Wiewfinder Pro, se observaron las muestras con los objetivos de 2.5x, 4x, 10x y 40x. Las mediciones de área total del lumen de xilema, área de córtex, medula y grosor de pared celular se midieron con el programa AxioVision LE Rel. 4.5.

Extracción de Enzimas

El material vegetal utilizado para la extracción de PAL, quitinasa, β - 1,3 glucanasa y peroxidasa fueron hojas y raíces de las plantas de tomate a diferentes tiempos de muestreo (0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5 y 6 días después de la aplicación del extracto de *H. longipes* y el Control positivo), de las cuales se tomaron 1 g y se congelaron a -78°C y posteriormente se maceraron en un mortero congelado. Se procedió a la extracción con una solución amortiguadora de acetato de sodio 0.1 mol L⁻¹ pH 5.2 para la determinación de las actividades: β - 1,3 glucanasa y quitinasa, para actividad PAL se utilizó como solución amortiguadora tetraborato de sodio 0.1 mol L⁻¹ y ácido bórico 0.1 mol L⁻¹ a pH 8.8. Para actividad peroxidasa se utilizó una solución amortiguadora de fosfato 0.05M a pH 6. Para todas las extracciones se usó 1 g de tejido por cada 2 ml de solución.

Determinación de la Actividad PAL

Se tomaron 150 μ l de L-Fenilalanina 1mg/ml (Sigma), se adicionaron 17 μ l de extracto enzimático y se incubó a 40° durante 30 minutos. La reacción se detuvo con 42 μ l de ácido clorhídrico 5 N. Las muestras se colocaron en baño de hielo y se adicionaron 833 μ l de agua destilada. Los valores de absorbancia se determinaron a una $\lambda=290$ nm. Una unidad de actividad enzimática se definió como la producción de 1 μ g de ácido transcinámico producido por segundo (Rodríguez, *et al.*, 2006). La curva patrón se llevó a cabo con varias concentraciones de ácido Transcinámico.

Actividad Quitinasa

Para este ensayo se adicionaron 500 μ l de solución amortiguadora de ácido cítrico 0.1 mol/l y fosfato de sodio 0.1 mol/l a pH 5.2 a 250 μ l de extracto enzimático y se le agregaron 250 μ l de quitina coloidal 0.5%. Se incubaron las muestras a 37°C durante 20 minutos con agitación continua. La reacción se detuvo al calentarla a ebullición por 5 minutos. Se determinó el incremento de azúcares reductores por la técnica de Somogyi-Nelson, se leyó la absorbancia a una $\lambda= 420$ nm. La actividad enzimática se expresó como la producción de 1 μ g/ml de glucosa por segundo (Rodríguez, *et al.*, 2006).

Actividad β -1,3 Glucanasa

A 200 μ l de sustrato laminarina 1mg/ml se le agregaron 100 μ l de solución amortiguadoras de acetato de sodio 0.1 mol/l a pH 5.2 y 100 μ l de extracto enzimático, las muestras se incubaron a 40°C durante 30 minutos. La actividad enzimática se determinó por la medición del nivel de producción de azúcares reductores y se expresó en términos de producción de 1 μ g/ml de glucosa por segundo (Rodríguez, *et al.*, 2006).

Actividad Peroxidasa

A 20 μl de extracto crudo se le agregaron 50 μl de rojo de fenol 0.2%, 50 μl de solución amortiguadora de citrato de sodio 50 mM a pH 4.2 y 10 μl de peróxido de hidrógeno 1 mM. La reacción se detuvo tres minutos después con 40 μl de hidróxido de sodio 2N. La absorbancia se leyó a una $\lambda = 610 \text{ nm}$. La actividad peroxidasa se tradujo como la producción de 1 mmol de rojo de fenol oxidado por segundo. Se utilizó el valor del coeficiente de extinción molar del rojo de fenol para calcular la cuantificación de peroxidasa, el cual es de $22,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Yedidia *et al.* 1999)

Determinación de Proteínas Totales

La concentración de proteínas se determinó según Bradford (1976). Los fragmentos de hojas y raíces (100 mg) se maceraron a -80°C . La extracción se realizó con solución amortiguadora de tris-HCl (0.01 mol/L a pH 7.0). El 0.1 mL de extracto se mezcló con 1 mL de reactivo de Bradford. Se evaluó la absorbancia a 595 nm. El contenido de proteínas se expresó en mg de proteínas por gr de masa fresca de tejido, La curva patrón fue a base de albúmina de suero bovino (BSA).

Determinación de Compuestos Fenólicos

Se pesaron 10 g del material fresco y posteriormente se congeló a -80°C , se pulverizó cada muestra, y se pusieron a macerar en metanol acuoso al 80% en un frasco ámbar a temperatura ambiente durante 24 horas en agitación. Se filtró la solución con papel filtro Whatman no. 1. Se evaporó la mayor cantidad del solvente de los extractos calentando a 40°C . El producto de la evaporación se congeló y se guardó hasta su uso.

El contenido de fenoles totales se determinó mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se tomaron 500 μl del extracto y se les agregaron 750 μl del reactivo de

Folin-Ciocalteu, se dejó reposar la mezcla durante cinco minutos, después de lo cual se agregaron 750 μ l de carbonato de sodio al 20 %. Se agitaron fuertemente para luego, dejar reposar durante 90 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo se midió la absorbancia a 760 nm (Gutiérrez *et al*, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cambios Estructurales

Para determinar el impacto en los cambios estructurales en tejidos de raíz y tallo de las plantas de tomate tratadas con el extracto *H. longipes*, se examinaron histológicamente por medio de Microscopía Óptica. En la figura 1, se pueden observar las imágenes de raíz en el muestreo del segundo día después de la aplicación del extracto de *H. longipes* en la cual se puede apreciar que el mayor incremento de córtex al igual que la disminución de la medula se observó en la plantas tratada con el control positivo, a diferencia del *H. longipes* el cual presento mayor área de medula. En la figura 2 en tallo se observa mayor incremento de córtex y reducción de medula en las plantas tratadas con el control positivo. En la figura 3 se puede apreciar en raíz en el muestreo del cuarto día aumento de córtex y reducción de medula en los tres tratamientos (FOL, HL y C+) a diferencia al muestreo al segundo día de la aplicación del *H. longipes* y el Control positivo. Pero se aprecia un mayor aumento de córtex y disminución de medula en las plantas tratadas con el control positivo. En la figura 4 se muestran las imágenes de tallo en el muestreo al cuarto día de la aplicación con FOL, en las que se aprecia aumento de córtex y una notable disminución de medula en las plantas que fueron tratadas con el control positivo, en cuanto a las plantas tratadas con *H. longipes* y FOL mostraron un área mayor de medula, esto puede atribuirse a que dichos productos inducen la producción de almidón u otras sustancias de reserva que como resultado genera un cambio en la proporción del córtex y médula, siendo esto una ventaja para la planta para protegerse de patógenos vasculares.

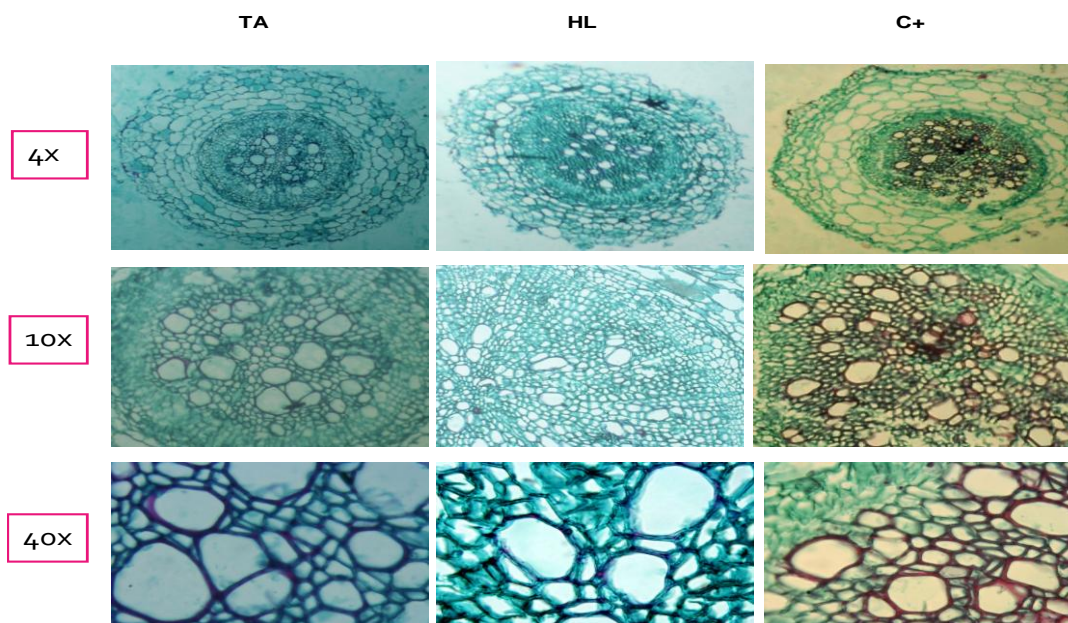


Figura1: Imágenes histológicas de raíz de tomate tomadas en el muestreo del segundo día después de la aplicación del extracto de *H. longipes* y el control positivo.

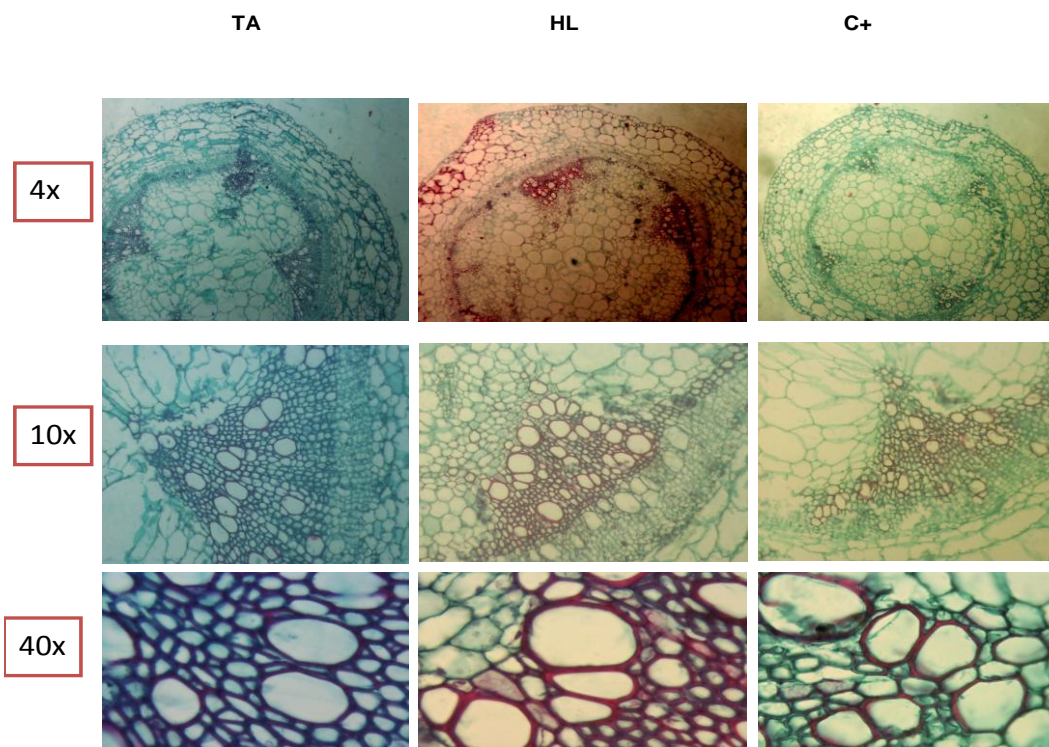


Figura 2: Imágenes histológicas de tallo de tomate tomadas en el muestreo del segundo día después de la aplicación del extracto de *H. longipes* y el control positivo.

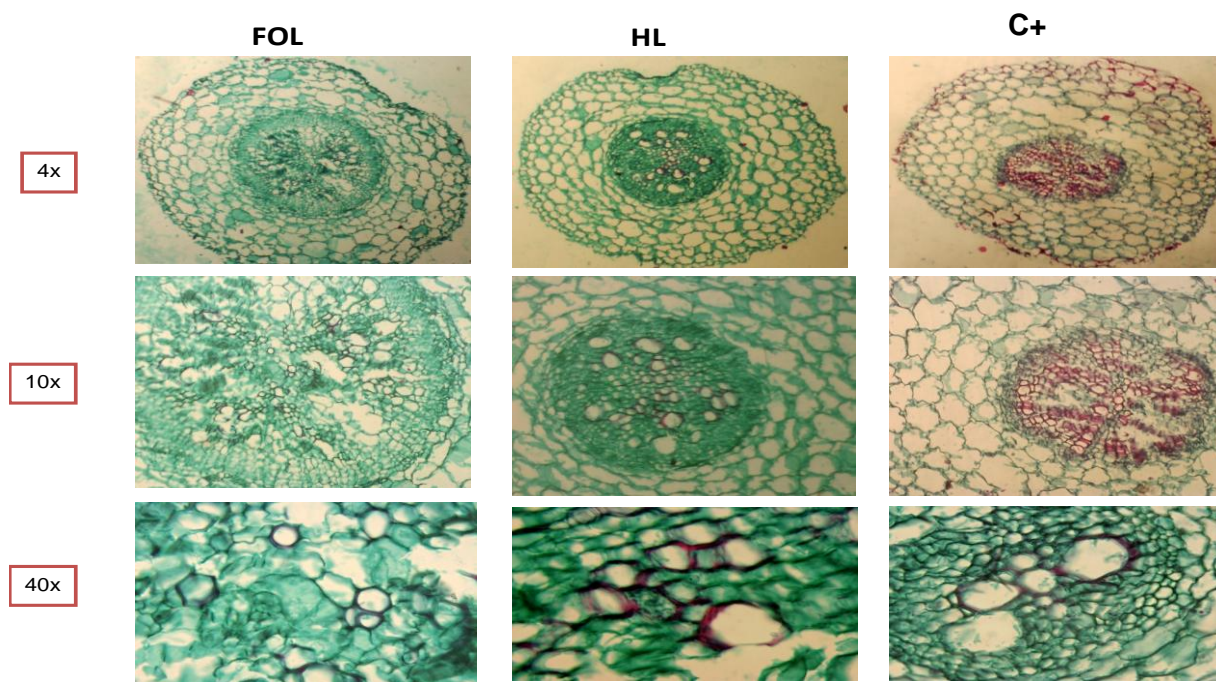


Figura 3: Imágenes histológicas de raíz de tomate tomadas en el muestreo del cuarto día después de la inoculación con FOL, y la aplicación del extracto de *H. longipes* y el control positivo.

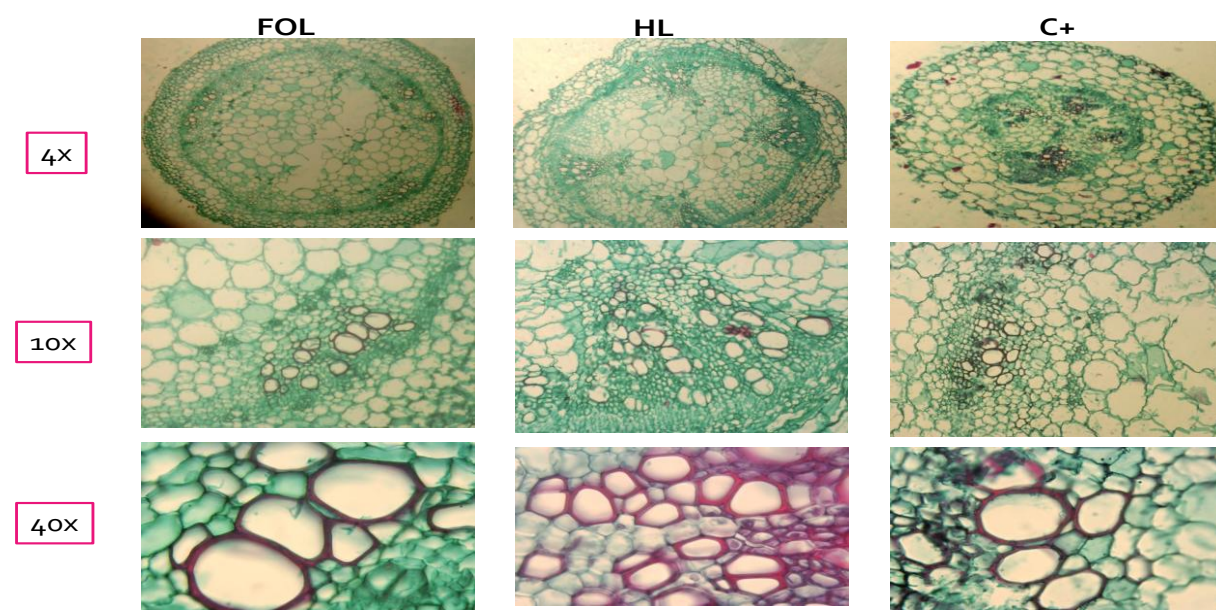


Figura 4: Imágenes histológicas de tallo de tomate tomadas en el muestreo del cuarto día después de la inoculación con FOL, y la aplicación del extracto de *H. longipes* y el control positivo.

Como se muestra en la figura 5, no hubo diferencia significativa entre tratamientos en cuanto al área del lumen del xilema.

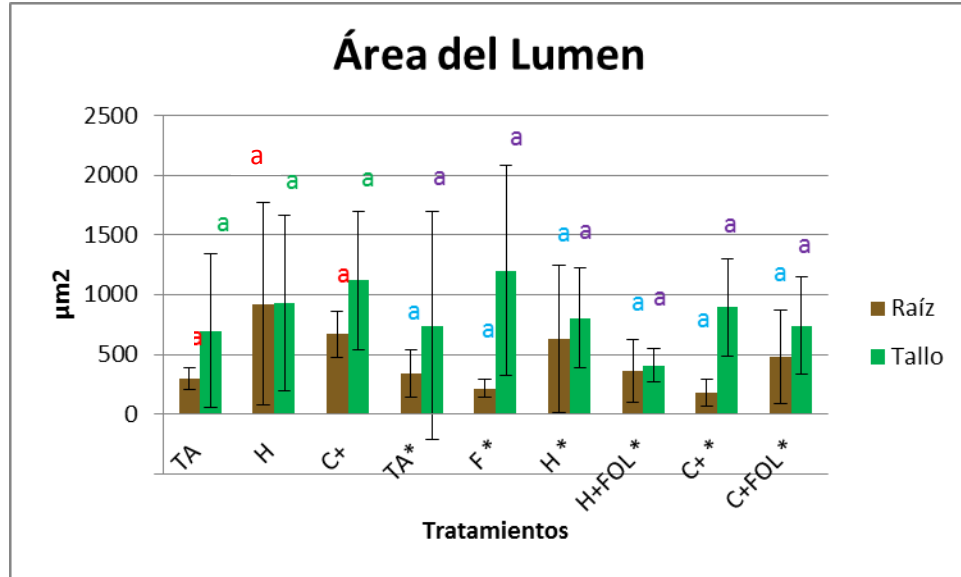


Figura 5: Área de lumen de los tratamientos en raíz y tallo. TA, H y C+ son muestreos al segundo día después de la aplicación del extracto, TA*, F*, H*, H+FOL*, C+* y C+FOL* son muestreos al cuarto día después de la inoculación. La barra de variación se refiere a la desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).

Como se observa en la figura 6, no hubo diferencia estadística en cuanto al grosor de pared celular del xilema entre los tratamientos aplicados en tallo y raíz.

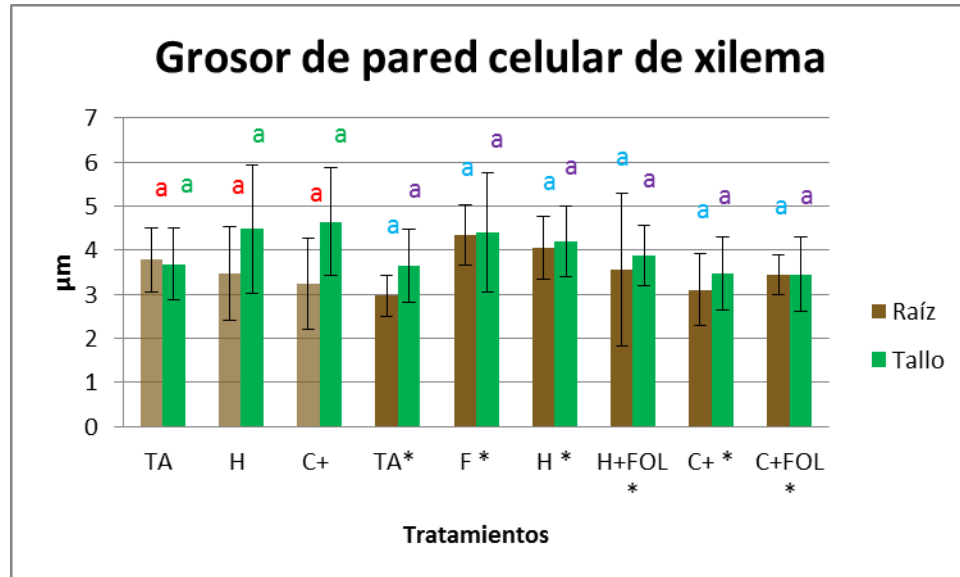


Figura 6: Grosor de la pared celular del xilema en raíz y tallo.

La barra de variación se refiere a la desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).

En la corteza (córtex), el sistema fundamental forma una zona bien diferenciada, está situada entre la epidermis y el cilindro vascular o central. El córtex presenta parénquima cortical con grandes espacios intercelulares. La parte periférica presenta colénquima (Dicotiledónea) o esclerénquima (Monocotiledónea) o fibras formando anillos o bandas, la corteza almacena hidratos de carbono complejos como el almidón.

La medula es la masa central parenquimática sin cloroplastos, con abundantes espacios intercelulares. Puede destruirse tempranamente y dejar el tallo hueco en el sector de los entrenudos. El sector de los nudos la conserva. Sus células están especializadas en acumulación de reservas, depósitos de cristales o taninos. En algunas especies, cuando presentan crecimiento secundario, se desarrolla un sector externo de la medula con células más pequeñas y de paredes más gruesas lignificadas.

En la figura 7 Se puede observar que en raíz no hubo diferencia significativa en el aumento de córtex en los tratamientos TA, H y C+, en cuanto a la medula se observó diferencia significativa entre el H con respecto a TA y C+, siendo H el que mayor área de médula presentó al segundo día. Al sexto día se registró diferencia significativa en el incremento de córtex respecto al testigo absoluto obteniéndose el mayor incremento con el tratamiento C+ de 217% (896987.81 μM^2), en cuanto al H presentó un aumento de 174%(773977.55 μM^2) respecto al testigo absoluto (282232 μM^2). Al igual en medula se presentó diferencia significativa en cuanto a disminución del área con el tratamiento C+ con una disminución del-98% (10901.24 μM^2) este tratamiento fue el que menor área presentó respecto al TA (625656.16 μM^2), el tratamiento de H, presentó una disminución de -78%(133911.5 μM^2) respecto al TA.

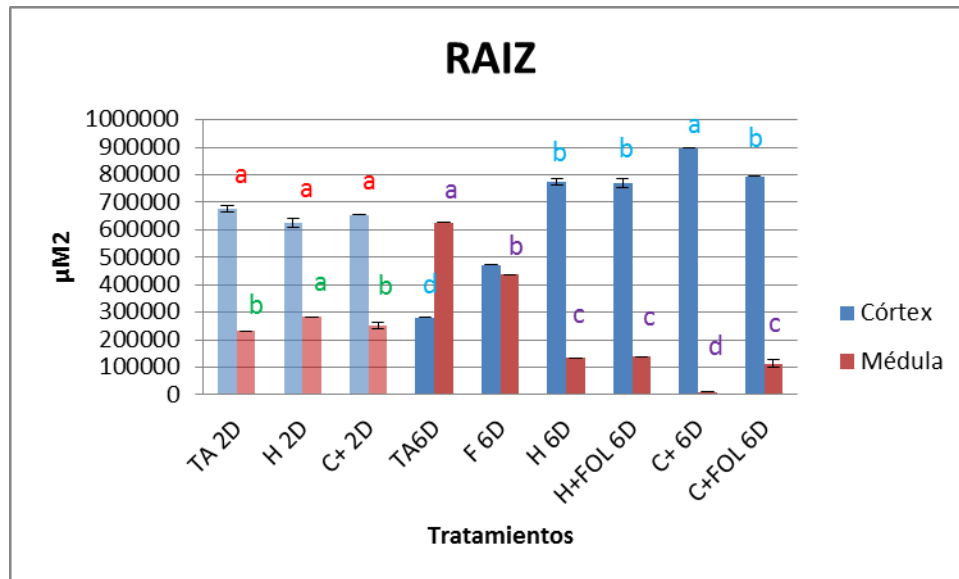


Figura 7: Efecto de la aplicación con los diferentes tratamientos, sobre el aumento de córtex y medula en raíz. La barra de variación se refiere a la desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).

En la figura 8 se muestra la diferencia que hubo entre tratamientos en tallo respecto a los cambios que se mostraron en medula y córtex, se presentó una diferencia significativa en el aumento de córtex en el muestreo del segundo día, el mayor incremento fue de 94%(115183.51 μM^2) con el tratamiento C+ respecto al testigo absoluto (59126.57 μM^2), con el H se presentó un aumento de 47%(87474.26 μM^2) respecto a TA. Al igual en medula se presentó diferencia significativa entre el TA, H y C+, obteniendo menor área de medula con el tratamiento C+ de -34% (105984.64 μM^2) y con H un área menor de -17%(133693.89 μM^2) con respecto al testigo absoluto (162041.58 μM^2) en el día 2. Al sexto día se presentó diferencia significativa entre los tratamientos respecto al incremento del córtex siendo el tratamiento HL+FOL en el que se registró mayor incremento el cual fue de 298%(141526.57 μM^2) respecto al testigo absoluto (35557.66 μM^2). Respecto a medula igual se presentó diferencia significativa en los diferentes tratamientos, en el que se registró menor área de igual manera fue en el tratamiento HL+FOL con -57% (79641.58 μM^2) respecto al testigo absoluto (185610.49 μM^2).

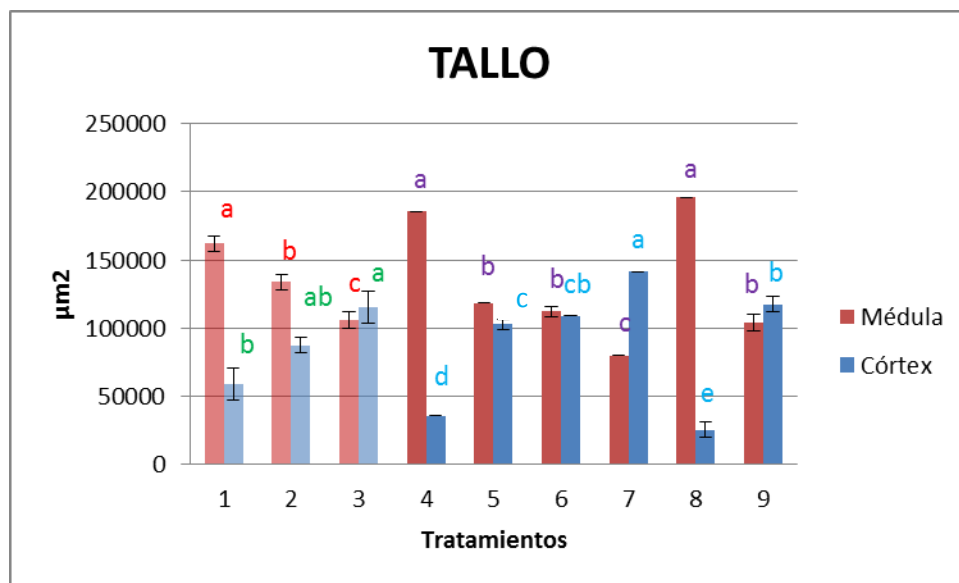


Figura 8: Efecto de la aplicación con los diferentes tratamientos, sobre el aumento de córtex y reducción de medula en tallo. La barra de variación se refiere a la desviación estándar, los valores con literales iguales no tienen diferencia significativa (prueba de media por tukey $\alpha \leq 0.05$, SAS 3.0).

Los resultados presentados en las muestras procesadas para determinar los cambios estructurales demuestran que en efecto hubo modificaciones en la proporción de córtex y medula tanto en tallo como en raíz, habiendo un cambio significativo en los tratamientos con el extracto de *H. longipes* y el Control positivo.

Yedidia *et al.*, (1998) realizó un estudio en el cual aplicó un hongo de biocontrol *Trichoderma harzianum* para inducir resistencia en pepino. Mediante un análisis de microscopía electrónica observaron que las plantas tratadas con *T. harzianum* reveló la penetración de *T. harzianum* en raíces, restringiendo principalmente a la epidermis y la corteza externa fortaleciendo las células epidérmicas y corticales.

El córtex y la medula forman parte del sistema fundamental de la planta, el incremento del córtex es favorable en la planta debido a que retarda la entrada del patógeno hacia los haces vasculares, ya que son estos los que se ven afectados siendo obstruidos por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, impidiendo la circulación de agua y nutrientes a través de ellos lo cual trae como consecuencia la marchitez vascular de la planta.

Cambios Bioquímicos

A continuación se muestran los resultados del segundo objetivo titulado "Evaluación de compuestos bioquímicos relacionados a la resistencia sistémica en plantas como respuesta a la aplicación del extracto crudo de *H. longipes* en el patosistema tomate-*F.oxysporum* f. sp. *lycopersici*."

En la figura 9 se muestra la actividad específica de la enzima β -1,3-glucanasa en hojas de tomate, dicha enzima es capaz de hidrolizar a los β -1,3-glucanos, componentes esenciales componentes de la pared celular de hongos y bacterias, esta enzima ha sido designada como proteína relacionada a la patogénesis perteneciente a la familia 2 (PR-2). La máxima actividad específica β -1,3- glucanasa en hojas se presentó a las 12 horas en el tratamiento con el extracto de *H. longipes* con un incremento de 534%(5.979 U/mg de proteína) con respecto al testigo absoluto (0.943 U/mg de proteína).

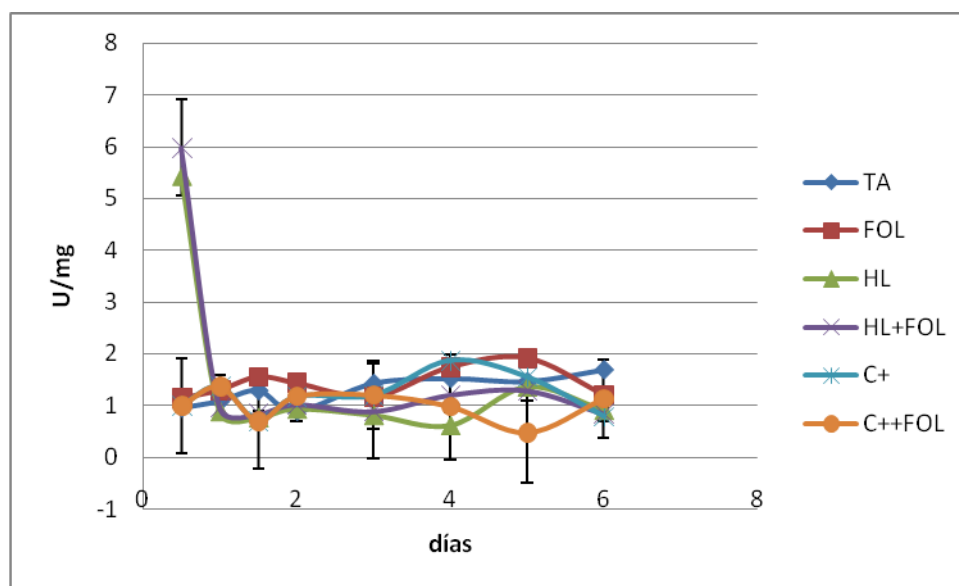


Figura 9: Cinética enzimática de actividad específica β -1,3- glucanasa en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar. Claves: TA (Testigo absoluto), FOL (Testigo inoculado con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*), HL (Tratamiento asperjado con el extracto de *H. longipes*), HL+FOL (Tratamiento asperjado con el extracto de *H. longipes* e inoculado con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*), C+ (Tratamiento asperjado con el Control positivo), C++FOL (Tratamiento asperjado con el Control positivo e inoculado con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*).

La actividad específica β -1,3- glucanasa en raíz se presenta en la figura 10, donde a las 12 horas se registró la mayor actividad específica en el tratamiento con el extracto de *H. longipes*, con un incremento de 612% (126.08 U/mg de proteína) con respecto al testigo absoluto (17.70 U/mg de proteína). De igual manera se presentó un incremento en el tratamiento inoculado con FOL, a diferencia del extracto de *H. longipes* dicho incremento se presentó al cuarto día (un día después de haber inoculado) con un aumento de 116% (40.5 U/mg de proteína) respecto al testigo absoluto (18.72 U/mg de proteína). Estos resultados pueden compararse los datos de Ardila *et al.*, (2005). Realizaron un experimento en el cual estudiaron la inducción diferencial de Polifenoxidasa y β -1,3- glucanasa en plantas de clavel (*Dianthus caryophyllus*) durante la infección por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Obtuvieron como resultados que la actividad específica β -1,3- glucanasa durante la infección con *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* se presentó a las 12 y 24 horas post-inoculación, con un aumento a las 12 h de 4.95% y a las 24 h de 7.16%.

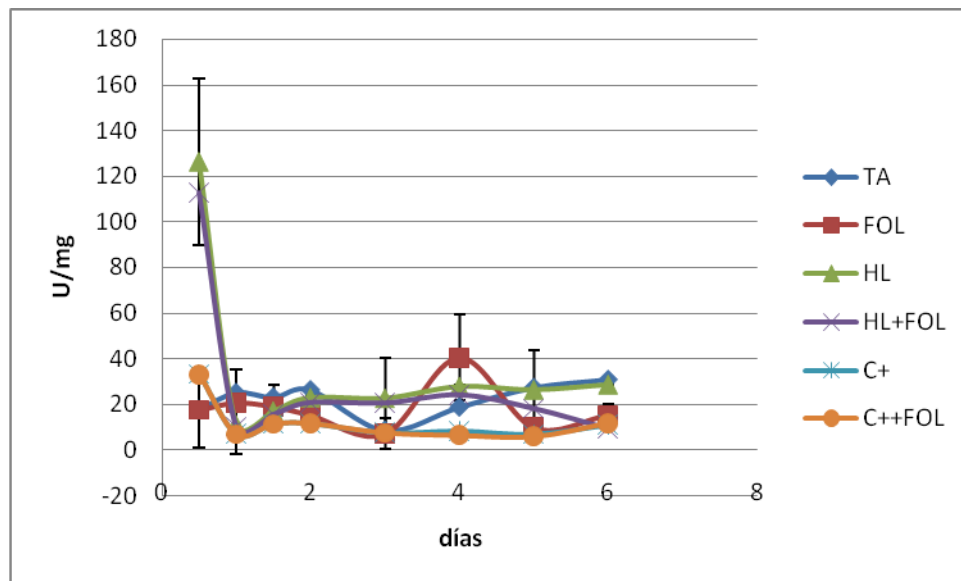


Figura 10: Cinética enzimática de actividad específica β -1,3- glucanasa en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

La actividad específica de la enzima Fenilalanina aminoriliasa (PAL) se muestra en la figura 11. En relación con los compuestos bioquímicos relacionados con la inducción de defensa en las plantas, esta enzima es clave en la producción de la molécula básica (cinamato) que se utiliza para la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos. La máxima actividad PAL en hojas se presentó a las 12 horas en el tratamiento con el extracto de *H. longipes* con un incremento de 591% (0.394 U/mg de proteína) con respecto al testigo absoluto (0.057 U/mg de proteína).

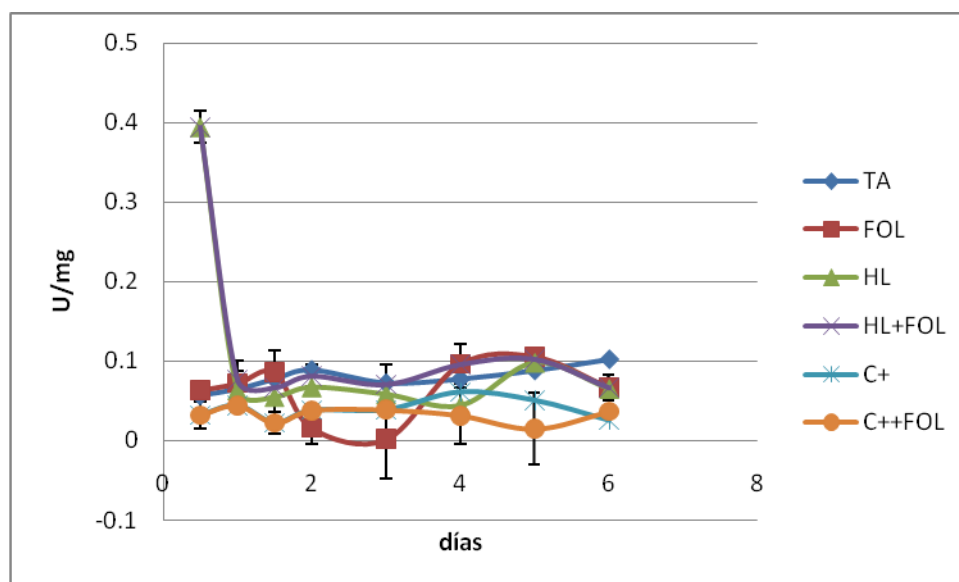


Figura 11: Cinética enzimática de la actividad específica de fenilalanina aminoliasa (PAL) en hojas de Tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

La máxima actividad PAL en raíz (figura 12) se presentó a las 12 horas en el tratamiento con el extracto de *H. longipes*, con un incremento de 503% (1.038 U/mg de proteína) con respecto al testigo absoluto (0.172 U/mg de proteína). Rodríguez *et al.*, (2006) evaluaron el efecto del quitosana en la inducción de la actividad de enzimas relacionadas con la defensa y protección de plántulas de arroz, contra *Phycolaria grisea sacc.* Donde obtuvo como resultado un incremento de 308% de la enzima fenilalanina amino liasa (PAL) y se presentó a las 72 horas, después de la inoculación fúngica.

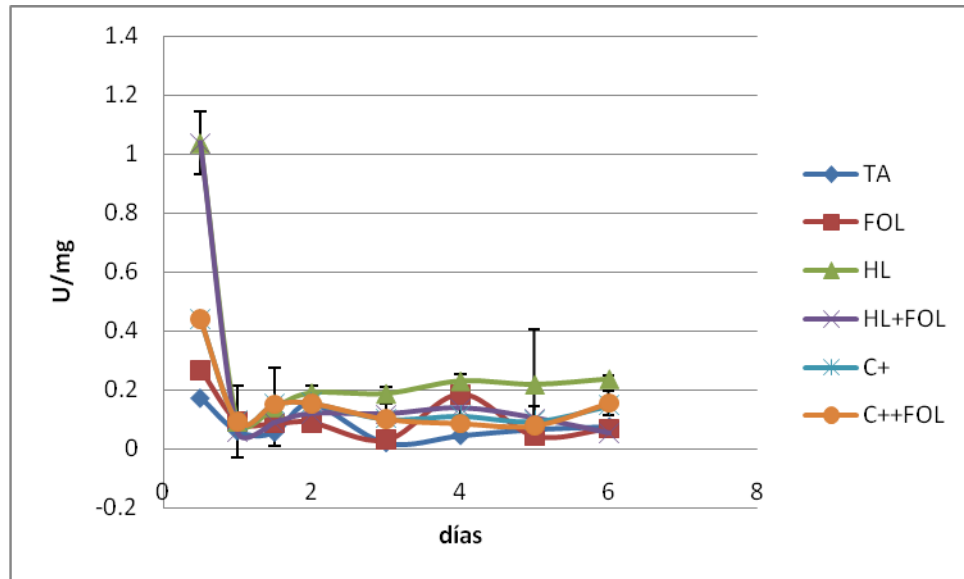


Figura 12: Cinética enzimática de la actividad específica de fenilalanina amino liasa (PAL) en raíz de Tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

La actividad específica de la enzima quitinasa se muestra en la figura 13. Esta es una enzima que degrada la quitina, un polisacárido de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) con enlaces β (1, 4), sobre los cuales actúan hidrolizándolos. En las plantas, actúan en la defensa y el desarrollo. La máxima actividad quitinasa en hoja se presentó a las 12 horas en el tratamiento con el extracto de *H. longipes*, mostrando un incremento de 650% (0.060 U/mg de proteína) con respecto al testigo absoluto (0.008 U/mg de proteína).

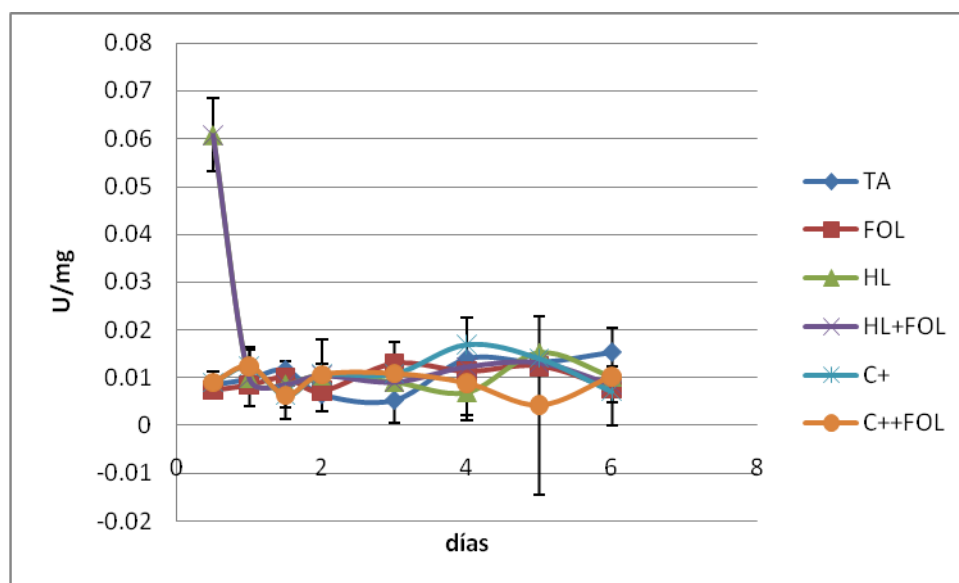


Figura 13: Cinética de actividad específica quitinasa en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

La máxima actividad quitinasa en raíz (figura 14) se presentó a las 16 horas en el tratamiento con el extracto de *H. longipes*, mostrando un incremento de 755% (0.522 U/mg de proteína) con respecto al testigo absoluto (0.061U/mg de proteína). De igual manera se presentó un incremento en el tratamiento inoculado con FOL, a diferencia del extracto de *H. longipes* dicho incremento se presentó al cuarto día (un día después de haber inoculado) con un aumento de 234% (0.341 U/mg de proteína) respecto al testigo absoluto (0.102 U/mg de proteína). Yedidia *et al.*, (1999) realizaron un experimento en plantas de pepino (*Cucumis sativus L.*) Infectándolas plantas con el agente de biocontrol *Trichoderma harzianum*. En el cual obtuvo como resultado, que la máxima actividad enzimática fue a las 72 horas en hoja y raíz alcanzando un aumento en raíz de 6.4 y en hoja 3.2 veces más en comparación con plantas no tratadas.

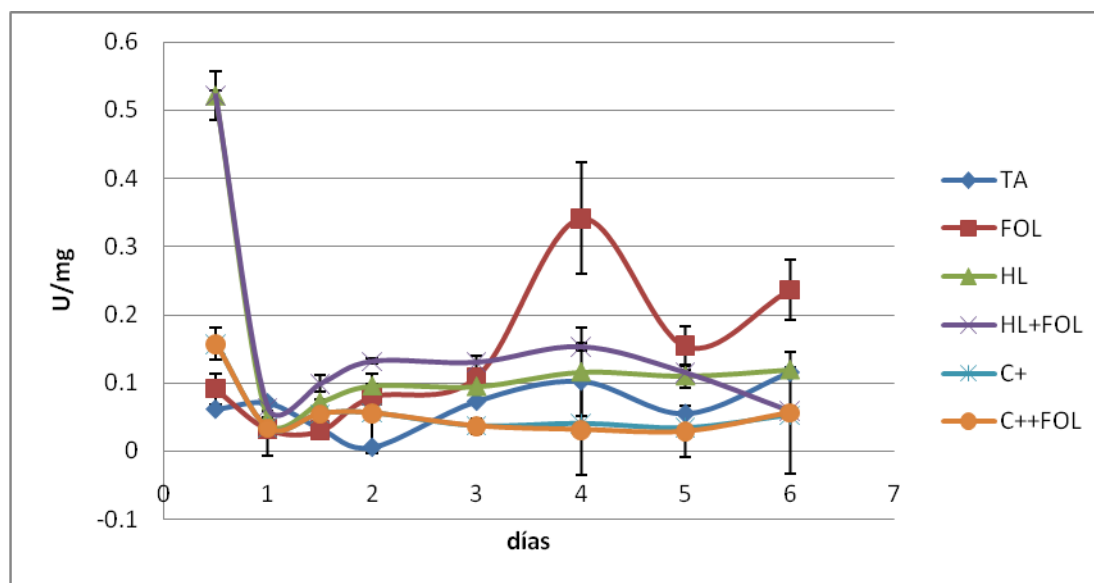


Figura 14: Cinética de actividad específica quitinasa en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

En la figura 15 se muestra la producción de compuestos fenólicos, estos tienen diversos roles en las plantas: muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos, otros proveen soporte mecánico a la planta. La máxima producción de fenoles totales en hojas fue con el tratamiento C++FOL a las 36 horas, con un aumento de 193%(7.978 mg de ácido gálico/g de PF), respecto al testigo absoluto (2.719 mg de ácido gálico/g de PF). De igual manera se presentó un incremento en el tratamiento inoculado con HL+ FOL, a diferencia de C++FOL dicho incremento se presentó al quinto día con un aumento de 210% (6.926 mg de ácido gálico/g de PF) respecto al testigo absoluto (2.059 mg de ácido gálico/g de PF).

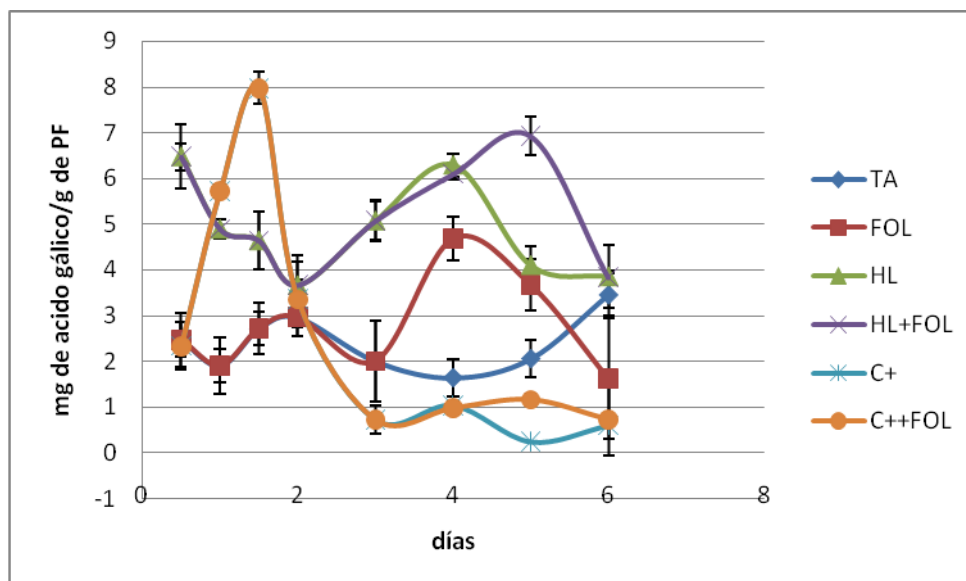


Figura 15: Cinética de máxima expresión de fenoles totales en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

La máxima expresión de fenoles totales en raíz (figura 16) fue con el tratamiento C++FOL al cuarto día, con un aumento de 687%(5.642 mg de ácido gálico/g de PF), respecto al testigo absoluto (0.716 mg de ácido gálico/g de PF).

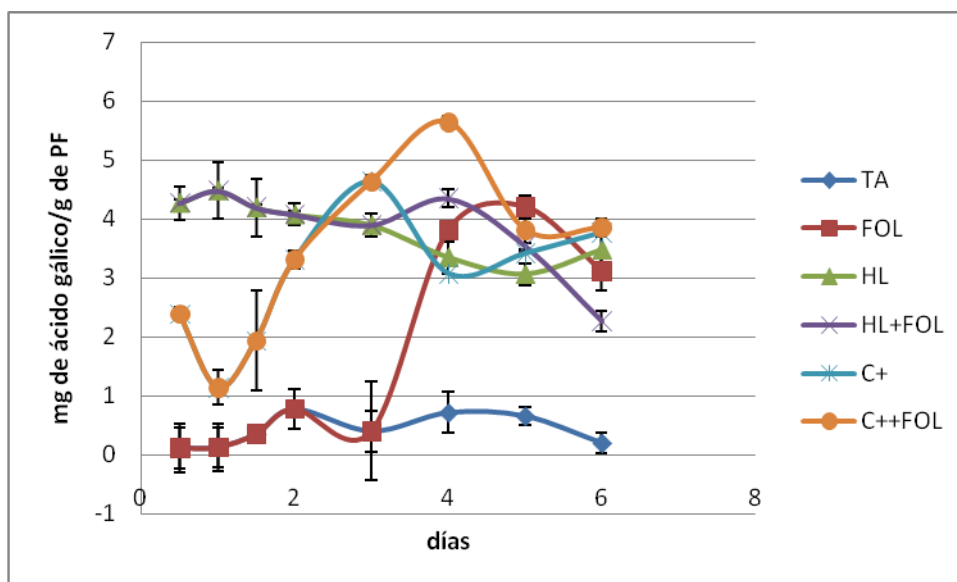


Figura 16: Cinética de máxima expresión de fenoles totales en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

Estos resultados obtenidos pueden compararse con los obtenidos por Gonzales, (2010) Quien realizó un estudio para observar el comportamiento de fenoles totales en plantas de tomate inoculando *Fusarium f sp. lycopersici*. Los resultados obtenidos fueron que en hojas y raíz se presentó un alto incremento de 16% en raíz y de 62.9% en hoja al 7mo día de la infección con *F. f sp. lycopersici*.

En la figura 17 se muestra la actividad específica de la enzima peroxidasa esta enzima pertenece a un grupo de enzimas que oxidan sustratos a expensas del peróxido de hidrógeno. En las plantas desempeñan un papel catalítico en el proceso de lignificación del xilema, expresándose también en la epidermis de los órganos aéreos. La máxima actividad peroxidasa en hoja fue al cuarto día, con el C+ con $1.60309E-06$ U/mg de proteína, cabe mencionar que en el testigo absoluto no se registró actividad peroxidasa.

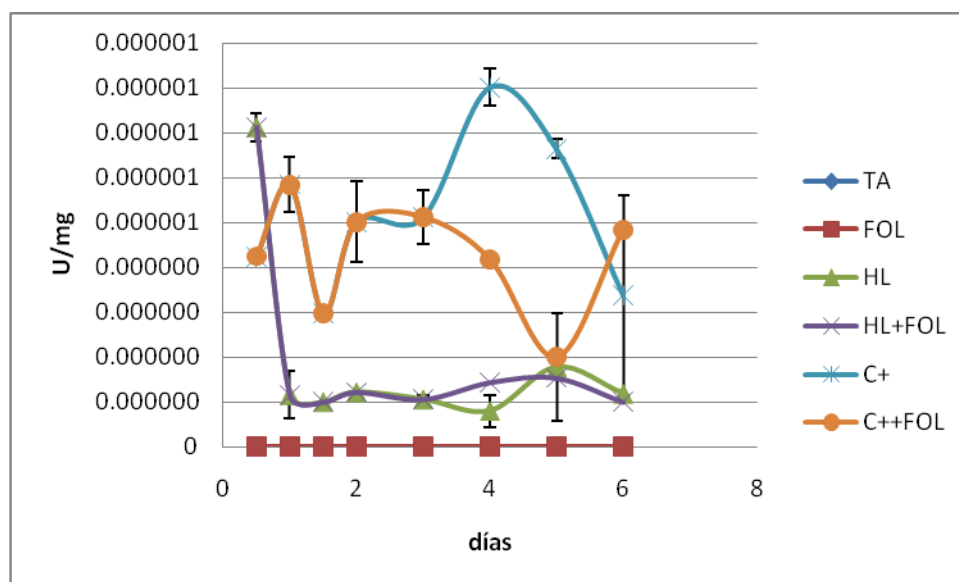


Figura 17: Cinética de actividad específica peroxidasa en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

La máxima actividad peroxidasa en raíz (figura 18) fue con el extracto de *H. longipes* las 12 horas, con un aumento del 120%(9.266 U/mg de proteína) respecto al testigo absoluto (4.196U/mg de proteína). De igual manera se presentó un incremento en el tratamiento inoculado con FOL, a diferencia de *H. longipes* dicho incremento se presentó al cuarto día con un aumento de 160% (5.694 U/mg de proteína) respecto al testigo absoluto (2.183 U/mg de proteína).

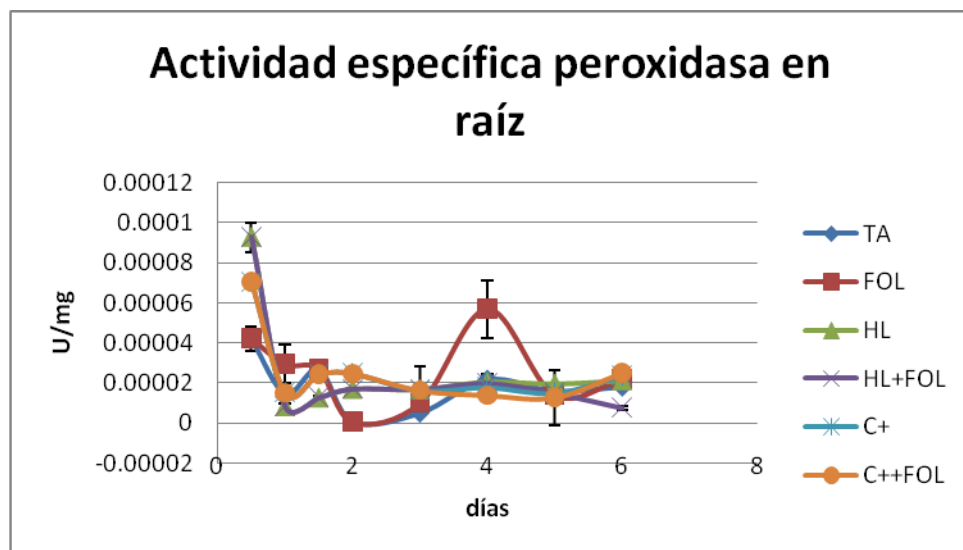


Figura 18: Cinética de actividad específica peroxidasa en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

Michel L., 1987, realizó análisis bioquímicos que revelaron que la inoculación con *Trichoderma* obtuvo mayor actividad peroxidasa dentro de las 48 y 72 h, respectivamente. Estos resultados fueron observados tanto para las raíces y las hojas de las plántulas tratadas, proporcionando evidencia de que *T. harzianum* puede inducir la activación de mecanismos de resistencia en plantas de pepino.

En la Figura 19 se muestra la máxima expresión de proteínas totales en hoja, con el tratamiento C++FOL al quinto día, con un aumento del 248% (3.622mg/g de tejido) respecto al testigo absoluto (1.039 mg/g de tejido). Seguido del tratamiento con HL con un aumento de 338% (2.930mg/g de tejido) respecto al testigo absoluto (0.668mg/g de tejido).

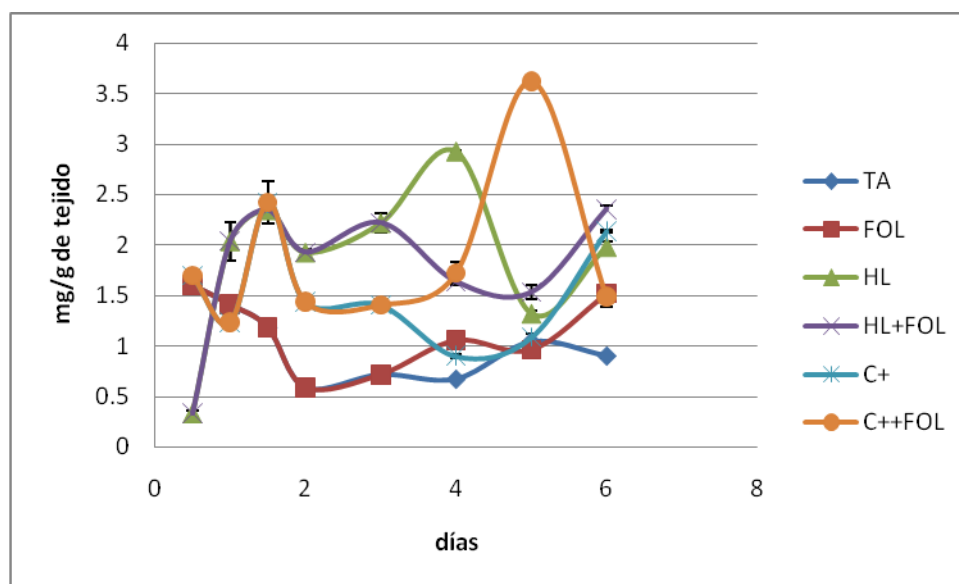


Figura 19: Cinética de expresión de proteínas totales en hojas de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

La máxima expresión de proteínas totales en raíz (figura 20), con el tratamiento FOL al tercer día, con (2.174mg/g de tejido) al igual que el testigo absoluto (2.174 mg/g de tejido). Seguido del C++FOL al cuarto día con un incremento del 137%(1.939mg/g de tejido) respecto al testigo absoluto (0.817mg/g de tejido). En cuanto al tratamiento con *H. longipes*, presentó a las 24 horas su mayor producción de proteínas con un aumento del 183% (1.629mg/g de tejido) respecto al testigo absoluto (0.574 mg/g de tejido).

El material genético de cualquier organismo (procarionte o eucarionte) está sometido a una serie de procesos cíclicos que aseguran la realización de sus dos funciones esenciales: la transmisión entre generaciones de la información genética con fidelidad y la expresión de ésa información genética con precisión para que pueda cumplir la misión para la que ha sido seleccionada. Por consiguiente, el ciclo del material genético comprende tres procesos: (1) replicación del material genético para su transmisión en copias idénticas a la descendencia, (2) transcripción del material genético que se transmite entre generaciones para sintetizar el material genético que asegura la expresión de la información en la célula y (3) traducción de la información genética de la forma de ácido nucleico a la forma de proteínas. La cuantificación de las proteínas totales son un reflejo de la expresión de los genes de un organismo en un tiempo y con una condición determinada.

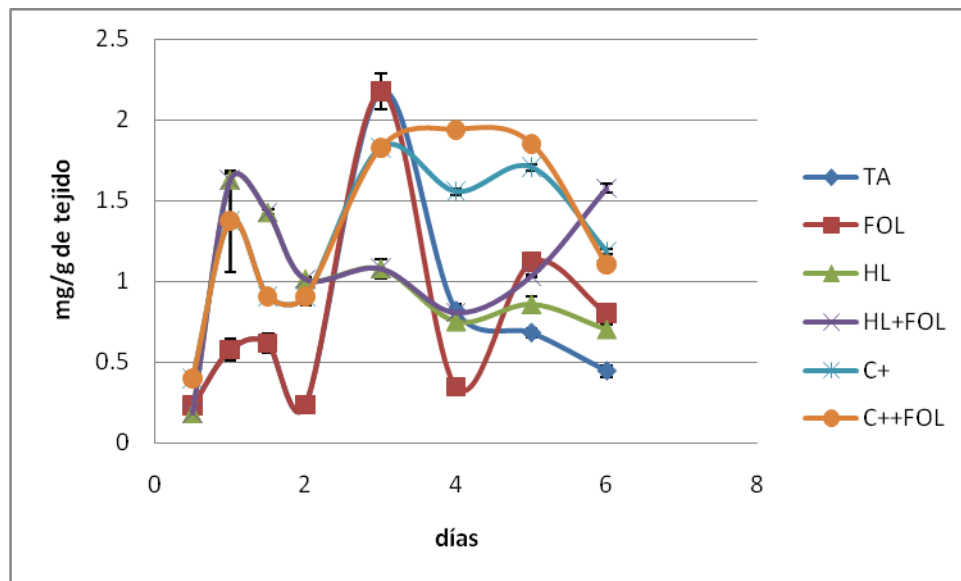


Figura 20: Cinética de expresión de proteínas totales en raíz de tomate. La barra de variación se refiere a la desviación estándar.

CONCLUSIONES

- La aplicación a plantas de tomate tratadas con *H. longipes* y el control positivo promovió cambios estructurales, los cuales fueron el aumento de córtex y la reducción de medula en tejidos de tallo y raíz, el tratamiento con el que más se notaron dichos cambios fue con el control positivo en los dos muestreos diferentes al segundo día después de la aplicación del extracto de *H. longipes* y C+ y al cuarto día después de la inoculación con FOL. La inoculación de plantas de tomate con FOL, HL, HL+FOL, C+ y C++FOL, provocan la inducción de enzimas relacionadas con los mecanismos de defensa de forma diferencial en cuanto a cantidad y tiempo.
- Considerando el resultado del estudio histológico de las plantas de tomate, indica que el tratamiento C+ fue el mejor obteniendo un mejor porcentaje de incremento de córtex y reducción de medula seguido por *H. longipes*.
- Con el uso del extracto de *H. longipes* se consiguen mejores resultados en cuanto a crecimiento y desarrollo de las plantas, por consecuencia un buen incremento de enzimas relacionadas al mecanismo de defensa en plantas.

LITERATURA CITADA

- Aida Tania Rodríguez Pedroso, Miguel Ángel Ramírez Arrebato, Regla María Cárdenas Travieso, Alejandra Falcon Rodríguez y Silvia Bautista Baños (2006). Efecto de la quitosana en la inducción de la actividad de enzimas relacionadas con la defensa y protección de plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.) contra *Pyricularia grisea* sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología* 24 (1) 1-7.
- Acencio-Alvarez, A.; A. López; F. Borrego; S. Rodríguez; A. Flores; F. Jiménez; A. Gómez 2008. Marchitez Vascular del jitomate: Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de fitopatología* 26 (2): 114-120.
- Agrios, George; 2002. *Fitopatología*. Segunda edición. Limusa. Grupo Noriega Editores. Mexico.425-431 pp.
- Agostini, J. P., BUSHONG, P. M., and Timmer, L. W. (2003). Greenhouse evaluation of products that induce host resistance for control of scab, melanose, and *Alternaria* brown spot of citrus. *Plant Disease*, 87, 69-74.
- AisT, J.R. 1976. Papillae and related wound plugs of plant cells. *Annual Review Phytopathology* 14: 145-63.
- Angulo, M.J.H. 1996. Efecto de razas de *fusarium oxisporum* F. sp. *lycopersicien* materiales silvestres de tomate. Tesis de licenciatura en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán.Sinaloa, Mexico.39 p.
- Andrews, J.H. 1992. Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology* 30:603-635.
- Aranda, S. y L. Fucikovsky. 1996. Evaluación del efecto de *Bacillus subtilis* en la producción del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología* 14: 166.
- Ardila, H. Blanca L. 2005. Polipenoxidasa y β - 1,3 glucanasa en clavel (*Dianthus caryophyllus*) durante la infección de fusarium oxysporum f. sp. dianthi RAZA 2.

- Departamento de química, facultad de ciencias, universidad N. de Colombia. Bogotá.
- Beckman, C. H. 1987. The Nature of the Wilt Diseases of Plants. The American phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 80 p.
- Báez Valdez Emma Paulina, Carrillo Fasio José Armando, Báez Sañudo Manuel, García Estrada Raymundo, Valdez Torres José Benigno y Contreras Martínez Rosalba. 2010. Resistant Rootstocks Utilization for *Fusarium* Control (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen race 3) in Tomato *Lycopersicon esculentum* Mill) under Shade Conditions. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Coordinación Culiacán, Sinaloa. Revista Mexicana de Fitopatología, 114/Volumen 28, Número 2.
- Baladrim, M. 1996. Comercial Utilization of Plant-Derived Saponins: An Overview of Medicinal, Pharmaceutical and Industrial Applications in Saponins used in Traditional and Modern Medicine, edited by G. R. Waller and K. Yamasaki. Plenum Press. NY USA and London England.
- Balls A. K., Hale W.S. and Harris T. H. (1942). A Crystalline protein obtained from a lipoprotein of wheat flour. *Cereal chemistry* 19, 279-288.
- Barrera J.A Gomez S. 1995. Determinación de razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthide* clavel en ocho fichas del grupo de Chía localizadas en la Sabana de Bogotá Ingeniero Agrónomo Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Bogotá, Colombia. 57 pp.
- Berger, S. Jasmonate-related mutants of Arabidopsis as tools for studying stress signaling. *Planta*. 2002, 214, 497-504.
- Beauverie J. 1901 Essais immunization des vegetaux contre les maladies cryptogamiques. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances del Academie des Sciences, Paris 133: 107-110.
- Bowles D.J. (1990). Defence-related proteins in higher plant. *Annual Review of Biochemistry* 59, 873-907.
- Blanco-Labra A., Chagolla-López A., Martínez-Gallardo N. and Valdés-Rodríguez S. (1995). Further characterization of the 12 kDa protease/alpha amylase inhibitor present in maize seeds. *Journal of Food Biochemistry* 19, 27-41.

- Bradley, D. J.; Kjellbom, P.; Lamb, C. J. 1992. Elicitor-induced and wound-induced induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein—a novel, rapid defense Cell 70: 21-30
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Bremer, K. 1994. *Asteraceae: cladistics & classification*. Timber Press. Portland. 752 pp.
- C. A. Clark, C. Chen, N. Ward-Rainey, and G. S. Pettis (1998) Diversity Within *Streptomyces ipomoeae* Based on Inhibitory Interactions, rep-PCR, and Plasmid Profiles. *The American Phytopathological Society.* 88 (11) 1179-1186.
- Cai, G., Gale, I.R., Scheider, R.W., Kistler, H. C., Davis, R. M., Elias, K.S. Miyao, E. M. 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* F. SP. *Licopersici* at a single site in California. *Phitopatologi* 93: 1014-1022.
- Calistru, C., McLean, M. and Berjak, P. 1997. *In vitro* studies on the potential for biological control of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* by *Trichoderma* species. *Mycopathologia* 139:115-121.
- Collinge D. B., Kragh K. M., Mikkelsen J. D., Nielsen K. K., Rasmussen U. and Vad K. (1994). Plant chitinases. *The plant Journal* 3, 31-40.
- Campos-A., J.E., M. del S. Vazquez-M. y R. Rodriguez-G. 1994. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento de *Rhizobium solani*, en laboratorio. pp. 47. *In: Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología*. Cuernavaca, Morelos, México.
- Cárdenas, 2000. Eficacia en el control químico de fusarium *Oxysporum* y *phytophthoracapsici* en los cultivos de tomate, chile y sandia. Tesis de Maestría de la facultad de Agronomía, de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, Mexico. 156 p.
- Carrillo F., J.A., J. Cruz O. y J. Ley F. 1991. Búsqueda de microorganismos antagonistas a *Alternaria carthami* Chow, causante del tizón foliar del cártamo. Pp.181. *In: Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitopatología*. Puebla, Puebla, México.

- Carver, T. L.W.; Zeyen, R. J.; Bushnell, W.R.; Robbins, M. P. 1994. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase and cinnamyl alcohol dehydrogenase increases quantitative susceptibility of barley to powdery mildew (*Erysiphe graminis* D. C.) Physiology Molecular Plant Pathology 44: 261-72.
- Casarrubias, U. y G. Frías A. 1992. Evaluación de eficacia de *Bacillus subtilis* Para el control de la marchitez del chile en condiciones de invernadero. pp. 165. In: Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Castillo F, Moreno C, Jaimes y, CotesA, Restrepo S. Gene expression of tomato plants treated with *Trichoderma koningii*. CD-ROM de Memorias (Presentaciones orales) 6LABS; 2007.
- Castrejón S., A. y R.M. González I. 1994. Posibilidad de control biológico de *Puccinia striiformis* f. sp. *hordien* cebada, bajo condiciones de campo. pp. 33. In: Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología. Cuernavaca, Morelos, México.
- Colson-hanks, E. S. and Deverall, B. J. (2000). Effect of 2,6 dichloroisonicotinic acid, its formulation materials and benzothiadiazole on systemic resistance to alternaria leaf spot in cotton. *Plant Pathology*, 49, 171-178.
- Corion, G., F. Ruiz-Belin y R. Alarcon-Mora. 1992. Control biológico de la roya del cafeto por *Verticillium lecanii* en México. pp. 194. In: M. Romero F. y A. Gómez B. (eds.). Memorias del VI Congreso Latinoamericano de Fitopatología. VI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología, Torremolinos, España.
- Castro A . A.E., E. Zavaleta-Mejía, I Cid del Prado V. y V. Zamudio G. 1990a. Rotación e incorporación de *Tapetes erecta* L. para el manejo de *Meloidogyne incognita* (Kofold y White) Chitwood en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Tecamachalco, Puebla. Revista Mexicana de Fitopatología 8:173-180.
- Che, I. 1987. Trichoderma-application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant. Creelman, R.A., Mullet, J.E. Oligosaccharins,

- brassinolides, jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell* .1997, 9, 1211- 1223.
- Csinos, A. S., pappu, H. R., Mcpherson, R. M., and Stephenson, M. G. (2001). Management of Tomato spotted wilt virus in flue-cured tobacco with acibenzolar-S-methyl and imidacloprid. *Plant Disease*, 85, 292-296.
- Dann, E. K. and Deverall, B. J. (1995). Effectiveness of systemic resistance in bean against foliar and soilborne pathogens as induced by biological and chemical means. *PlantPathology*, 44, 458-466.
- Dann, E. K. and Deverall, B. J. (1996). 2,6-dichloro-isonicotinic acid (INA) induces resistance in green beans to the rust pathogen, *Uromyces appendiculatus*, under field conditions. *Australasian Plant Pathology*, 25, 199-204.
- De Vos A. M., Hatada M., vander Wel H., Krabbendam H., Peerdeman A. F. and Kim S. H., (1985). Theedimensional structure of thaumatin I, an intensely sweet protein. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 82,1406.
- Devoto, A., Nieto-Rostro, M., Xie, D., Ellis, C., Harmston, R., Patrick, E., Davis, J., Sherratt, L., Coleman, M., Turner, J.G. COI1 links jasmonate signalling and fertility to the SCF ubiquitin-ligase complex in *Arabidopsis*. *Plant J* . 2002, 32, 457-466.
- Diener Andrew C. y Ausubel Frederick M (2005). Resistance To *Fusarium Oxysporum* 1, a Dominant *Arabidopsis* Disease-Resistance Gene, Is Not Race Specific. *Genetics* 171: 305–321
- Dora Marina Gutiérrez Avella, Christopher Alberto Ortiz García, Arturo Mendoza Cisneros.(2008) Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. Simposio de Metrología 2008 Santiago de Querétaro, México, 22 al 24 de Octubre SM2008-M220-1108-1
- Echavarria, P.H., Castro, A. 2002. Influence of different densities on the yield and quality of greenhouse-grown cucumber grafted on Shintoza (*Cucurbita maxima*. x*Cucurbita moschata*).In: Nishimura, S; H. Ezura: t. Matsuda, and a. Tazuke (eds.) Proq Of the 2nd International Symposium on Cucurbits. Tsukuba, Japan. Acta Hort. 588:63-67.

- EDA.2008.El uso del ácido salicílico y fosfonatos (fosfitos) para activación del sistema de resistencia adquirida de la planta.Entrenamiento y Desarrollo de Agricultores.Cuenta del Desafío del Milenio de Honduras.Mexico D. F. Pp 1-2.
- E. Perez, Yakelin Rdriguez, Maria de los A. Hernandez y Blanca M. de la Noval. (2003) dinámica de inducción de algunos sistemas de defensa en la interacción de HMA-Tomate (Licopersicom Mill) var. Amalia.Inducción de PR2, PR3 y Fenilalanina Amoniolisa en raíces de tomate. (INCA) La Habana Cuba.
- FAO.2002. Agroinformacion-El cultivo del tomate. 3 parte. Plagas y enfermedades del tomate. Países y producción. Factores climáticos y suelo.
- FAO.2002. Agroinformacion – el cultivo del tomate. 1parte. El origen del tomate. Taxonomía y morfología. Países y producción. Factores climáticos y suelo.
- FAO, 2003. Manejo Integrado de Enfermedades. Pag 54 y 55.
- FAOSTAT (En línea) Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y Alimentación (Consultado en Noviembre 2008). Disponible en internet:
- Farmer, E.E., Almeras, E., Krishnamurthy, V. Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory.*Curr.Opin. Plant Biol.* 2003, 6, 372-378.
- Farmer, E.E.; Ryan, C. A. 1990. Interplant communication: Airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:77137716.
- Flores, j.; Ojeda-Bustamante, W.; López, i.; Rojano, a.; Salazar, I.2007.requerimientos de riego para tomate de invernadero. *Terra latinoamericana*, 25:127-134.
- Garcia-Olmedo F. Carmona M.J., Lopez Fando J.J., Fernandez J. A., Castagnaro A., Molina A., Hernandez-Lucas C. and Carbonero p. (1992). Characterization and analysis of thionin genes.*In Plant Gene Research Series: Genes Involved in Plant Defense (T.Bollerand F. Meins. eds) pp.283-302. Springer- Verlag Wien.*
- Garcia –Olmedo F. Rodriguez-Palenzuela P., Hernandez-Lucas C., Carmona M.J., Lopez-Fando J., Fernandez J.A. and Carbonero P. (1989). The thionins a

- protein, family that includes purothionis, Visco toxins and crambis. Ox ford Surveys of *plant Molecular and cell Biology* 6, 31-60.
- Garduño Pizaña Claudia, 2009. Evaluación de polvos y extractos vegetales sobre el desarrollo de *Fusarium oxysporum* e identificación de compuestos volátiles. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec, Morelos. Pag. 56.
- García-Chávez A., Ramírez Chávez E., Molina-Torres J. 2004. El género *Heliopsis* (Heliantheae; Asteraceae) en México y las alcanidas presentes en sus raíces. *Acta Botánica Mexicana* 69: 115-131.
- Gil, P. 2002. Productos naturales. Universidad Pública de Navarra. España. 260 p.
- Gómez –Cruz M.A., R. Schwentesius, and L. Gómez-Tovar. 2006. Agricultura orgánica de México. Chapingo, México: Ciestaam.
- Gomez R., O., E. Zavaleta-Mejía, C.F. Viesca G. y O. Ortiz. 1992. Asociación de *Tagetes erecta* e incorporación de sus residuos, posible alternativa para el manejo de algunos problemas fitopatológicos en jitomate (*Lycopersicon esculentum*). pp. 201 *In: M. Romero F. y A. Gómez B. (eds.). Memorias VI Congreso Latinoamericano de Fitopatología. VI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología Torremolinos, España.*
- Gonzáles, G.R 1974. Estudio sobre marchitez del tomate causado por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, en el valle de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Chapingo, Edo. México.
- Gonzalez,E., A.; Cedillo P. E. y Diaz. G.L. 2007. Morfología y Anatomía de las Plantas con Flores.Ed. UACH.Edicion.1^{ra}. Texcoco. Mexico.Pp 59, 68, 70, 72, 75, 93 y 119.
- Gonzales Pablo, 2006. Enfermedades del Tomate. Facultad de Agronomía. Montevideo URUGUAY.
http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html.
- Gonzales Luis. A, 2010. Uso de injertos y contenido de fenoles solubles totales en genotipos de jitomate(*Lycopersicum esculentun Mill.*) resistentes y susceptibles a *F. oxysporum f. sp. lycopersici*
- Gordon T.R Martyn R. D.1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*.*Phytopathology* 35: 111-128 pp.

- Gorlach, J., Volrath, S., Knaufbeiter, G., Hengy, G., Beckhove, U., Kogel, K. H., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H., and Ryals, J. (1996). Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell*, 8, 629-643.
- Haglund, W.A.; Kraft, J. M. 2001. *Fusarium wilts...* En: Kraft, J.M.; Pfleger, F.L (ed.). Compendium of Pea Diseases and Pests. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA. 14-16-84pp.
- Halim VA, Bess A., Schocl D., Rosahl X. (2006) The role of salicylic acid and jasmonic acid in pathogen defense. *Plant Biol* 8: 307-313
- Hammerschmidt. 1.999 *b.Fitoalexinas: ¿qué hemos aprendido después de 60 años: Revisión Anual de Fitopatología* 37 285 -306.
- Henao I., Franco Correa M. and Marin G. (2006). Evaluación de métodos de conservación para *Aspergillus niger* con actividad enzimática amilolítica. *Universitas Scientiarum* 11 (2) 51-60.
- Hernández, J; Rodriguez, D; Sanabria, M; Blanco, G; Sanabria, N. 2006. Efecto del extracto etanólico de *Heliotropium indicum* L., *Lippia organoides* K.H.B.K. y *Phyllanthus niruri* L. En hijos de "Platano Harton" (*Musa AAB*) en el control de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en Yaracuy, Venezuela. XVII Reunión Internacional de Asociación para la Cooperación en las Pesquisas sobre Banano no Caribe na América Tropical. ACORBAT. Joinville, Santa Catalina, Brasil. 565-568 p.
- Hernandez. A, Bautista. S, Velásquez. M, 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícola. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Abril – junio, Año vol. 30, número 002. Sociedad Mexicana de filogenética, Chapingo México.
- Hutchinson S.W., 1998. Current concepts of active defense in plants. *Annual Review of Phytopathology* 36: 59-90.

- Hyun-Jung Kim, Yong-Keel Choi, y Byung-Re Min (2001) Variation of the Intergenic Spacer (IGS) Region of Ribosomal DNA among *Fusarium oxysporum* formae specialis. *The Journal of Microbiology* 39 (4): 265-272
- Ishii, H., Tomita, Y., Horio, T., Narusaka, Y., Nakazawa, Y., Nishimura, K., and Iwamoto, S. (1999). Induced resistance of acibenzolar-S-methyl (CGA 245704) to cucumber and Japanese pear diseases. *European Journal of Plant Pathology*, 105,77-85.
- Jiménez, D.F., 2003. Enfermedades del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Ed. Limusa. México, D.F. 102 p.
- Kagale, S.; Marimuthu, T.; Thayumanavan, B.; Nandakuman, R. and Samiyappan, R. 2004. Physiological and Molecular Plant Pathology. 65. 91-100 p.
- Kombrink, Schmelzer E. 2001. *La respuesta hipersensible y su papel en la resistencia a las enfermedades sistémicas y locales. European Journal of Plant Pathology* 107 69 -78.
- Kuc. 1995. Fitoalexinas, el metabolismo de la tensión, y resistencia a enfermedades en las plantas: Examen anual de Fitopatología 33 275 -297.
- Kuc, J. (2001). Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology*, 107,7-12.
- Lewis, J.H. y G.C. Papavizas. 1991. Biocontrol of plant diseases: The approach for tomorrow. *Crop Protection* 10:95-105.
- Lim, S. H. and Hudson, S. M. 2003. Review of Chitosan and Its Derivatives as Antimicrobial Agents and their Uses as Textile Chemicals, *J. Macromol. Sci. C43* (2), 223–269.
- Linthorst H.J.M., Melchers L.S., Mayer A., Van Rockel J. S.C., Carne lissen B. J .C. and Bol J.F. (1990). Analysis of gene families encoding acidic and basic B-1,3-glucanases of tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 87,8756-8760.
- López B., S. y A. Gonzalez M. 1990. Control biológico de *Phymatotrichum omnivorum* (Scheer) Duggar con *Bacillus subtilis*. pp. 105. *In: Memorias del XVII Congreso Nacional de Fitopatología*. Culiacán, Sinaloa, México.

- Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., Sahin, F., and Miller, S. A. (2001). Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Disease*, 85, 481-488.
- Mauch-maní, B.; Slusarenko, A. J. 1996. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica*. *Plant Cell* 8: 203-12.
- Maxson-Stein, K., HE, S. Y., Hammerschmidt, R., and Jones, A. L. (2002). Effect of treating apple trees with acibenzolar-S-methyl on fire blight and expression of pathogenesis related protein genes. *Plant Disease*, 86, 785-790.
- Mendoza, C. Z. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. 1° edición. Universidad autónoma Chapingo, México, 85 p.
- Mendoza, Z.C. 1993. Diagnóstico de Enfermedades Fungosas. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de parasitología Agrícola. Chapingo. Edo. De México. 111 p.
- Michereff, S.J., Da-Silveira, N.S.S., Reis, A. and Mariano, R.L.R 1995. Greenhouse screening of *Trichoderma* isolates for control of *Curvularia* leaf spot of yam. *Mycopathologia* 130:103-108.
- Misaghi, I.J 1982. Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions. New York, Plenum Press. 230 p.
- Moffat, A. S. 1992 Improving plant disease resistance. *Science* 257: 482-438.
- Mojica Marian V., Sandoval Coronado C.F., Pereyra Alférez B., Morales Ramos L.H., Gonzales Aguilar N.A. Hernández Luna C.E. Alvarado Gómez O.G. 2009. Control biológico de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) por *Bacillus thuringiensis*. *Revista Internacional de botánica experimental* Argentina. *FYTON* ISSN 0031 9457, 78: 105-110.
- Molina-Torres, J., A. García-Chávez y E. Ramírez-Chávez. 1999. Antimicrobial properties of natural alkaloids traditionally used in Mesoamerica: capsaicin and capsaicin. *Journal of Ethnopharmacology* 64: 241-248.
- Montiel González Lucero, González Flores Francisco, Sánchez García Bertha María, Guzmán Rivera Sergio, Gámez Vázquez Francisco Paúl, Acosta Gallegos Jorge Alberto, Rodríguez Guerra Raúl, Simpson Williamson June, Cabral Enciso

- Mariandrea and Mendoza Elos Mariano (2005). Especies de *Fusarium* presentes en raíces de frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.) con daños de pudrición, en cinco estados del centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(1) 17.
- Moreno C, Cotes AM. Survival in the phylloplane of *Trichoderma koningii* and biocontrol activity against tomato foliar pathogens. *IOBC/WPRS Bull.* 2007;30:557-561.
- MORRIS, S. W., Vernooij, B., Titatarn, S., Starrett, M., Thomas, S., Wiltse, C. C., Frederiksen, R. A., Bhandhufalck, A., Hulbert, S., and Uknes, S. (1998). Induced resistance responses in maize. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11, 643-658.
- MORschbacher, B.; Noll, U.; Gorrichon, L.; Reisener, H. 1990. Specific inhibition of lignification breaks hypersensitive resistance of wheat to wheat stem rust. *Plant Physiology* 93: 465-70.
- McConn, M., Creelman, R.A., Bell, E., Mullet, J.E., Browse, J. Jasmonate is essential for insect defense in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 94, 5473-5477.
- McInnis, S.M., Emery, D.C., Porter, R., Desikan, R., Hancock, J.T. y Hiscock, S.J. (2006). The role of stigma peroxidases in flowering plants insights from further characterization of a stigma-specific peroxidases (SSP) from *Senecio squalidus* (Asteraceae). *J. Exp.Bot.* 8, 1835-1846.
- Navarrete L., J. y G. Virgen C. 1994. Antagonismo in vitro de *Bacillus subtilis* a *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. pp. 43. Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología. Cuernavaca, Morelos, México.
- Nelson, P.E. 1981. Life cycle and epidemiology of *F.oxysporum*. M.E. Mace, AA. Bell and C.H. Beckman (Eds.). *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press. New York. 51-80pp.

- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas. W.F.O. (1983) *Fusarium* Species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, Estados Unidos de America. 191 p.
- Nelson, E.B. 1991. Current limits to biological control of fungal phytopathogens. In: D.K. Arora, B. Rai, K. G. Mukerji and G.R. Knudsen (eds.). Handbook of Applied Mycology. Vol.I: Soil and Plants. Marcel Dekker. New York, USA. pp. 327-335.
- Neuhaus J. M., Sticher L., Meins F. and Boller T. (1991). A short C-terminal sequence is necessary and sufficient for the targeting of Chitinases to the plant vacuole. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 88, 10362-10366.
- Nicholson RL, Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu Rev Phytopathol.* 1992; 30:369–389.
- Obledo E. N; A.S. Hernández-Rosales; M.L. López-Orué. 2004. Extractos vegetales, una opción en el control de la Sigatoka negra. XVI Reunión Internacional. ACORBAT. Oaxaca, México. 184 p.
- Ohr, H.D., Sims, J., Grech N. M., Becker J. O., Mejr M. 1996. Methyl iodide, an alternative to methyl bromide as a soil fumigant. *Plant Disease*, 80(7):731-735.
- O'Neill, T.M., Niv, A., Elad, Y. and Shtienberg, D. 1996. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Trichoderma harzianum*. *European Journal of Plant Pathology* 102:635-643.
- Overmyer, K., Tuominen, H., Kettunen, R., Betz, C., Langebartels, C., Sandermann, H., Jr., Kangasjarvi, J. Ozone-sensitive *Arabidopsis rcd1* mutant reveals opposite roles for ethylene and jasmonate signaling pathways in regulating superoxide-dependent cell death. *Plant Cell*. 2000, 12, 1849-1862.
- Owens-Grillo, J.K., Hoffman, K., Hutchinson, K.A., Yem, A.W., Deibel, M.R., Jr, Handschumacher, R.E. and Pratt, W.B. (1995) The cyclosporin A-binding immunophilin Cyp-40 and the FK506-binding immunophilin hsp56 bind to a

common site on hsp90 and exist in independent cytosolic heterocomplexes with the untransformed glucocorticoid receptor. *J. Biol. Chem.*, 270, 20479–20484.

- Papavizas, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 23:23-54.
- Parmar, V. S., S. C. Jain, K. S. Bisht, R. Jain, P. Taneja, A. Jha, O. D. Tyagi, A. K. Prasad, J. Wengel, C.E. Olsen y P.M. Bool 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* 46: 597-673.
- Payne G., Middlestaedf W., Williams S., Desai N., Carnes M.and Ryds J. (1988). Isolation and nucleotide sequence of a novel Cdna clone encoding the mayor form of Phathogenesis-related protein R. *Plant Molecular Biology* 11, 232.
- Peniche, C.; W. Argüelles, A. Gallardo, C. Elvira, J. San Román. 2001. Quitosano: un Polisacárido Natural Biodegradables y Biocompatibles con Aplicaciones en Biotecnología y Biomedicina, *Rev. de Plásticos Modernos*, Vol. 81: 535.
- Penninckx, I.A.M.A., Eggermont, K., Terras, F.R.G., Thomma, B.P.H.J., De Samblanx, G.W.,Buchala, A., Metraux, J.-P., Manners, J.M., Broekaert, W.F. Pathogen-induced systemicactivation of a plant defensin gene in Arabidopsis follows a salicylic acid-independent pathway. *Plant Cell*.1996, 8, 2309_ 2323
- Peralta I.E., Knapp S.K. y Spooner D.M.2005. New species of wild tomatoes (solanum section Lycopersicon: Solanaceae) *from northern Peru Systematic Botany* 30(2):424-434.
- Perez-DE-LUQUE, A., JORRIN, J. V., and RUBIALES, D. (2004). Crenate broomrape control in pea by foliar application of benzothiadiazole (BTH). *Phytoparasitica*, 32, 21-29.
- Petersen, M., Strack, D., and Matern, U. 1999. Biosynthesis of phenylpropanoid and related compounds. pp. 151-221. In: M. Wink (ed.). *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. Annual Plant Reviews.Vol. 4. Sheffield Academic Press Ltd. London, UK. 374 p.
- Peumans WJ, Barre A, Derycke V, Rouge P, Wenling Z, May GD, Delcour JA, Van Leuven F, Van Damme EJM. Purification, characterization and structure

- analysis of an abundant β -1,3-glucanase from banana fruit. *Eur J Biochem* 2000; 267: 1188-1195.
- Pieterse, C.M., van Wees, S.C., van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J., van Loon, L.C. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*.1998, 10, 1571-1580.
- Pieterse, CMJ; Van Loon,LC. 1999.Salicylic acid-independent plant defence pathways.*Trends in Plant Science* 4:52-58.
- P. Vidhyasekaran. (2007) Handbook of Molecular Technologies in Crop Disease Management.CRC Press; 1 edition.
- Ramírez-Chávez, E., L. Lucas-Valdez, G. Virgen-Calleros y J. Molina-Torres. 2000. Actividad fungicida de afinina y extracto crudo de raíces de *Heliopsis longipes* sobre dos especies de *Sclerotium*. *Agrociencia* 34: 207-217.
- Ramírez, V.J. 1998. Enfermedades de la raíz en tomate. Pp. 29-49. En : O.J. Cruz, R. García E. y A. Carrillo F. (eds.). Enfermedades de las Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 225 p.
- Rao, M.V., Lee, H.I., Davis, K.R. Ozone-induced ethylene production is dependent on salicylic acid, and both salicylic acid and ethylene act in concert to regulate ozone-induced cell death. *Plant J*. 2002, 32, 447-456.
- Reymond, P., Farmer, E.E. Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression.*Curr.Opin.Plant. Biol.* 1998, 1, 404-411.
- Richardson M. (1991). Seed storage proteins: the enzyme inhibitors. *Methods I Plant Biochemistry* 5,259-305.
- Rodriguez, G. A. 2006. Injerto y composta para la producción intensiva de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) en condiciones de suelo y cultivo sin suelo en invernadero. Tesis de Doctorado en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Mexico. Pp. 3-23.
- Roiger, D.J., Jeffers, S.N. and Caldwell, R.W.1991. Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 23:353-359.

- Rojo, E., Solano, R., Sanchez-Serrano, J.J. Interactions between signaling compounds involved in plant defense. *Journal of Plant Growth Regulation* . 2003, 22, 82-98.
- RIDE, J. P. 1980. The effect of induced lignification on the resistance of wheat cell walls to fungal degradation. *Physiology Plant Pathology* 16: 187-96.
- Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG, Molina A. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant cell* 8:1809-1819.
- Rodriguez –Navarro, J.A., E. Zavaleta-Mejia y R. Alatorre-Rosas 1996. Epidemiologia y manejo de la roya blanca (*Puccinia horiana* P. Henn.) del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.). *Fitopatología* 31:122-132.
- Rodriguez Dorian A. y Montilla José O. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* No. 63 p. 46 - 50.
- Rojas-Martínez. R.I., E. Zavaleta-Mejía y O. Gomez R. 1994. Efecto de la asociación cempasúchil-jitomate en el daño producido por *Alternaria solani* en jitomate. pp. 25. *In: Memorias XXI Congreso Nacional de Fitopatología*. Cuernavaca, Morelos, México.
- Ruess W., Mueller K, Knauf-Beiter. 1996. Plant activator CGA-245704: An innovative approach for disease control in cereals and tobacco. Pages 53-60 in *Brighton Crop protection conference-Pests and diseases*.
- SAGARPA.2005., Análisis Agropecuario del Tomate. Boletín Informativo. Culiacán, Sinaloa, México. 9 p.
- Salazar G., M., G. Virgen C., G.L. Angulano, R. Hernandez D., R. Jiménez y V. Olalde P. 1994. Inhibición in vitro de *Fusarium* sp. con bacterias antagonicas de la rizosfera. Pp. 44. *In: Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología*. Cuernavaca, Morelos, México.
- Samaniego, J. 1991. La actividad microbiana en pajas de trigo inoculado con *Trichoderma* sp. y suelos complementados con glucosa y su relación con la variabilidad de los esclerosios de *Phymatotrichum omnivorum*. pp. 180. *In: Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitopatología*. Puebla, Puebla, México.

- Sánchez, C.M.A. 1998. Enfermedades causadas por hongos en tomate. Pp.17-28.
En: O.J. Cruz, R. García E. y A. Carrillo F. (eds.). Enfermedades de las Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 225 p.
- Serrano, A. R., DEL CASTILLO, J. L., NOVO, J. J., OCANA, A. F., and RODRIGUEZ, M. V. G. (2007). Chitinase and peroxidase activities in sunflower hypocotyls: effects of BTH and inoculation with *Plasmopara halstedii*. *Biologia Plantarum*, 51, 149-152.
- Sumerell A B Leslie F J Backhouse D., Bryden L Wayne, Burgess W. L. 2002 *Fusarium* Paul E. Nelson Memorial Symposium .Second printing.The American Phytopathological Society. St Paul Minnesota, USA. 15-23pp.
- Stainer, R. AND M. Doudoroff, M. 1977 *Microbiologia*.Editorial. Aguilar S. A. Barcelona España.467 p.m.
- Staswick, P.E., Yuen, G.Y., Lehman, C.C. Jasmonate signaling mutants of *Arabidopsis* are susceptible to the soil fungus *Pythium irregulare* .*Plant J* . 1998, 15, 747-754.
- Stadnik, M. J. and BUCHENAUER, H. (1999a). Effects of benzothiadiazole, kinetin and urea on the severity of powdery mildew and yield of winter wheat.*Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, 106, 476-489.
- Stadnik, M. J. and Buchenauer, H. (1999b). Control of wheat diseases by a benzothiadiazole-derivative and modern fungicides.*Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, 106, 466-475.
- Stefanova, N.M. 1997. Control de enfermedades fúngicas del suelo con biopreparados de *Trichoderma harzianum*. Curso Internacional de Sanidad Vegetal.MINAG. Pp. 1-8.
- Sha, J.; Klessig, D. F. 1996 identification of a salicylic acid-responsive element in the promoter of the tobacco pathogenesis-related?B 1, 3-glucanase gene, PR-2d.*Plant Journal*. 10: 1089-1101.

- Shivaraj B. and Pattabiraman T. N. (1981). Natural Plant enzyme inhibitors. Characterization of an unusual alpha-amylase/trypsin inhibitors from ragi (*Ekeusine coracana*, Geart). *Biochemical Journal* 193, 29-36.
- Skalamera, D; Jibodh, S; Heath, MC. 1997. Callose deposition during the interaction between cowpea (*Vigna unguiculata*) and the monokaryotic stage of the cowpea rust fungus (*Uromyces vignae*). *New Phytologist* 136:511-524.
- Tello, J.C., Lacasa, A. 1988 Evolucion racial de producciones *Fusarium oxysporum* f, sp. *licopersici*. Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas 14: 335-341.
- Torres-Barragán, A., E. Zavaleta-Mejía, M.C. González Chávez. Y R. Ferrera-Cerrato 1996. The use of arbuscular mycorrhizae to control onion White rot (*Sclerotium cepivorum* Berck.) under field conditions. *Micorrhiza* 6:253-257.
- Tovar A., R. y H. Gaona. 1993. Efecto de *Glumus* sp (MV-A) sobre la pudrición de la raíz por *Phytophthora* en naranjo. pp. 56. *In: Memorias del XX Congreso Nacional de Fitopatología*. Zacatecas, México.
- Tum, J., A. Navarrete, J. Quiroz y M. Soria. 1997. Forma y dosis de cempasúchil (*Tagetes patula* L.) aplicado al suelo como nematicida en pepino (*Cucumis sativus* L.). pp. 84. *In: Memorias del XXIV Congreso Nacional de Fitopatología*. Cd. Obregón Sonora, México.
- Turner, J.G., Ellis, C., Devoto, A. The jasmonate signal pathway. *Plant Cell*. 2002, 14, S153- 164.
- Upadhyay, R.S. y B. Rai. 1998. Biological agents in plant pathology. Pp. 15-36. *In: K. Mukersji y K.L. Grag (eds.). "Biocontrol of plant diseases" Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, F1.*
- Valland, G. E.; GOODMAN, R. M. 2004. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. *Crop Science* 44: 1920-1934.
- Valdez, L. L, Ramírez, Ch. E, Virgen, C. G y Molina, T. J. 2000. Actividad Fungicida de Afinina y Extracto crudo de raíces de *Heliopsis longipes* sobre dos especies de *Sclerotium*. www.ira.Cinvestat.mx/bio3-doc7.htm

- Valenzuela –Ureta, J.G., Lawn, D. A., Heisey. R.F., Zamudio, G. V. 1996. First report of *Fusarium* Wilt race 3, Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Licopersici*, of tomato in Mexico *Plant Disease* 80:105.
- Vance, C.P.; KIRK, T. K.; SHERWOOD, R. T. 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 18: 259-88.
- Van, Haeff, J. N. 1995. *Manuales de tomates para educación agropecuaria*. Área: producción vegetal. 2° Edición. Editorial Trillas. México, D.F. pp.16.
- Van Loon y Van Kammen. 1970. Electroforesis de poliacrilamida disco de la hoja de proteínas solubles de *Nicotiana tabacum* var. 'Samsun' y 'Samsun NN' II. Los cambios en la constitución de la proteína después de la infección con el virus del mosaico del tabaco. *Virología* 40 199 -211.
- Vermis, W. Nicholson R.L. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Edit. Springer. West Lafayette, Estados Unidos de Norte America, 267 p.
- Vicenzo.L. Lattanzio, V., Cardinali, A. 2006. Role of Phenolics in disease resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Research Singpost*. Kerala India.
- Vigers A.J., Wiedemann S., Roberts W.K., Legrand M., Selitrenikoff C.P. and Fritig B. (1992). Thaumatin like pathogenesis-related proteins are antifungal. *Plant Science* 83,155,161.
- Villar E., M.J. y E. Zavaleta-Mejía. 1990. Efecto de *Crotalaria longirostrata* Hook y Arnott sobre nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp). *Revista Mexicana de Fitopatología* 8:38-41.
- Virgen C., G. y J. López N. 1992. Una bacteria antagonista a *Rhizoctonia solani* *in vitro*. pp. 165. *In: Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología*. Saltillo, Coahuila, México.
- Virgen C., G. y J. García C. 1990. Resultados preliminares sobre control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* con *Bacillus subtilis* en sandía, bajo condiciones de campo. pp. 106.
- Virgen –Calleros, G., V. Olalde-Portugal and R. rocha R. 1996. Biological and chemical control of *Rhizoctonia solani* on potato in Guanajuato, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 14: 180.

- Walters D., Newton A., Lyon Gary (2007) Induced resistance for plant defence. Blackwell Publishing.
- Ward, E. R.; Uknes, S. J.; Williams, S. C.; Dincher, S. S.; Wiederhold, D. L.; Alexander, D. C.; Ahl goy, P.; Metraux, J.P.; Ryals, A. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3: 1085-1094.
- www.siap.sagarpa.gob.mx Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera SIAP,SIACON, Anuario Agrícola por Municipio SAGARPA 2005. Consulta de Indicadores de Producción Nacional de Tomate.
- Wells, H.D., Bell, D.K. and Jaworski, C.A. 1972.Efficacy of *Trichoderma harzianumas* a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*.*Phytopathology* 62:442-447.
- Yáñez J., M.A. 1997. Manejo de la marchitez (*Phytophthora capsici* Leo), agallamiento radical (*Nacobbus aberrans* Thorne y Allen) y virosis del chile (*Capsicum annum* L.). Tesis de Maestria. Colegio de Posgraduados, Montecillo, México.
- Yedidia I., Benhamou N. and Chet I. (1999) Induction of Defense Responses in Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. *Applied And Environmental Microbiology* 63 (3) 1061–1070
- Zapata. R. SABABRIA. M, RODRIGUEZ.D. 2003. Reducción del desarrollo de hongos fitopatogenos con extracto de cardón lefaria. *Interciencia*, mayo, año/vol. 28, número 005, Caracas Venezuela. Pp. 302 – 306.
- Zavaleta –Mejía, E. 1994. Control biológico de fitopatogenos. Pp 115-125.*In*: R. Alatorre R. y A.W. Guzmán F. (eds.). *Memórales V Curso de Control Biológico*. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México.
- Zavaleta-Mejia, E. y R.I.Rojas M. y M. Zavaleta M. 1990 Effect of volatiles emanated from brassicaceous (cruciferous) residues on some soil-borne pathogens. pp. 118-123. *In*: Report on the Workshop on Chemical Interactions Between Organisms, Santiago, Chile. International Foundation for Science-IFS, Stockholm, Sweden.

- Zavaleta-Mejia, E. y R.I. Rojas M. 1990. The effects of *Brassica* crop residues on *Sclerotium cepivorum* berk. Pp. 185-192. In: Proceedings of the Fourth International Workshop on *Allium* White Rot. A. Entwistle R. Y P. MATTUSCH (EDS.). Neustandt-Mussbach, Federal Republic of Germany.
- Zavaleta-Mejia, E. y R.I.Rojas M. 1989. Antagonismo de *Serratia marcescens* Bizio (Enterobacteriaceae) sobre *Fusarium oxysporum* Schlect, f.sp. *Lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hans. Revista Mexica de Fitopatología 7:113-118.
- Zavaleta-Mejia, E. y D.L. Ochoa M. 1992. Efecto de diferentes formas de asociación jitomate-cempasúchil en la producción de jitomate e infección por *Nacobbus aberrans*. pp. 140. In: Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Saltillo, Coahuila, México.
- Zavaleta-Mejia, E. y O. Gomez R. 1994. Efecto de la combinación de varias estrategias de control en la producción de varias estrategias de control en la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum*) de la cebolla. pp. 30. In: Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología. Cuernavaca, Morelos, México.
- Zavaleta-Mejia, E. y O. Gomez R. 1995. Effect of *Tagetes erecta* L. – tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) intercropping on some tomato pests. Fitopatología 30:35-46.
- Zhu, X., CAO, J., WANG, Q., and JIANG, W. (2008). Postharvest infiltration of BTH reduces infection of mango fruits (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) by *Colletotrichum gloeosporioides* and enhances resistance inducing compounds. *Journal of Phytopathology*, 156, 68-74.
- Zhu, Y. J., FERREIRA, S., FITCH, M. M. M., and MOORE, P. H. (2002). Benzothiadiazole (BTH) activates systemic acquired resistance (SAR) responses in papaya to reduce disease symptoms of seedlings inoculated with *Phytophthora palmivora*. *Proceedings of the International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits, Vols 1 and 2*, 475-481.
- Zhu, Y. J., Qiu, X. H., Moore, P. H., Borth, W., Hu, J., Ferreira, S., and Albert, H. H. (2003). Systemic acquired resistance induced by BTH in papaya. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 63, 237-248.

APÉNDICE

Cuadro 1: efecto de los tratamientos de área del lumen de xilema

TRATAMIENTO	RAIZ-Cortez	Raíz-Médula	TALLO-Cortex	Tallo-Médula
TA 2D	676308.44	231580.61	59126.57	162041.58
H 2D	624538.15	283350.9	87474.26	133693.89
C+ 2D	655310.32	252578.73	115183.51	105984.64
TA6D	282232.89	625656.16	35557.66	185610.49
F 6D	471323.68	436565.37	102816.87	118351.28
H 6D	773977.55	133911.5	109020.82	112147.33
H+FOL 6D	769881.48	138007.57	141526.57	79641.58
C+ 6D	896987.81	10901.24	25349.75	195818.4
C+FOL 6D	794659.06	113229.99	117284.53	103883.62

Cuadro 2: efecto de los tratamientos respecto al grosor de la pared celular del xilema

TRATAMIENTO	RAIZ-Cortez	Raíz-Médula	TALLO-Cortex	Tallo-Médula
TA 2D	676308.44	231580.61	59126.57	162041.58
H 2D	624538.15	283350.9	87474.26	133693.89
C+ 2D	655310.32	252578.73	115183.51	105984.64
TA6D	282232.89	625656.16	35557.66	185610.49
F 6D	471323.68	436565.37	102816.87	118351.28
H 6D	773977.55	133911.5	109020.82	112147.33
H+FOL 6D	769881.48	138007.57	141526.57	79641.58
C+ 6D	896987.81	10901.24	25349.75	195818.4
C+FOL 6D	794659.06	113229.99	117284.53	103883.62

Cuadro 3: efecto de los tratamientos sobre el área de la medula y córtex del tallo y raíz

TRATAMIENTO	RAIZ-Cortez	Raíz-Médula	TALLO-Cortex	Tallo-Médula
TA 2D	676308.44	231580.61	59126.57	162041.58
H 2D	624538.15	283350.9	87474.26	133693.89
C+ 2D	655310.32	252578.73	115183.51	105984.64
TA6D	282232.89	625656.16	35557.66	185610.49
F 6D	471323.68	436565.37	102816.87	118351.28
H 6D	773977.55	133911.5	109020.82	112147.33
H+FOL 6D	769881.48	138007.57	141526.57	79641.58
C+ 6D	896987.81	10901.24	25349.75	195818.4
C+FOL 6D	794659.06	113229.99	117284.53	103883.62

Cuadro 4: lecturas de la actividad enzimática β 1, 3-glucanasa en raíz de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	17.7006408	0.78939122	17.4790151	16.5838189	126.081989	36.5190993	112.654798	0.06287269	33.3941689	0.12660425	33.3941689	1.26604248
1	25.1602691	0.72614362	20.7144704	14.5080739	11.2739432	13.2443126	10.0733166	0.69870988	7.18007608	0.40863899	7.18007608	0.40863899
1.5	23.0726264	0.94274179	18.9957125	9.42741787	17.3240694	1.02687936	15.4791303	0.28527349	11.4975075	0.10819988	11.4975075	0.10819988
2	26.3170022	0.44718839	15.2803968	4.47188391	23.164112	1.16055617	20.6972335	0.16549645	11.7704895	0.12414083	11.7704895	0.12414083
3	8.51621015	0.00667463	7.01140287	6.67463444	22.8885456	17.4719469	20.4510137	0.28702187	7.74281952	0.03449095	7.74281952	0.03449095
4	18.7228181	0.47657709	40.5053657	18.9051671	28.0223004	0.44334714	24.0569859	0.33545367	8.49021919	0.32701843	6.63172539	0.18566486
5	27.3369341	0.18070887	9.94856278	2.54141188	26.6262268	16.7852127	18.0844963	0.26030612	7.13498337	0.44880101	6.07741869	0.26433848
6	30.8556695	0.48391069	15.2909649	4.62593646	28.8630535	0.28662306	9.21973729	0.12110668	11.0996698	0.19057411	11.8729976	0.18393825

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	0.02418773	0.02418773	0.01896736	0.01896736	0.04059463	0.04059463
1	0.06868521	0.06868521	0.21212121	0.21212121	0.18880354	0.18880354
1.5	0.07489994	0.07489994	0.13804161	0.13804161	0.11790588	0.11790588
2	0.02766798	0.02766798	0.10323912	0.10323912	0.1151714	0.1151714
3	0.20292341	0.20292341	0.10448206	0.10448206	0.17508141	0.17508141
4	0.09230119	0.03512566	0.08534069	0.08882094	0.15966888	0.20441495
5	0.06321625	0.1430134	0.0898153	0.11815447	0.18999677	0.22305914
6	0.05600716	0.09304696	0.0828548	0.23175976	0.1221319	0.11417705

Cuadro 5: lecturas de la actividad enzimática β 1, 3-glucanasa en hojas de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0.9436968	0.33521668	1.14587367	0.21147227	5.44273703	0.03468242	5.97916618	0.92662037	0.99188345	0.09157059	0.99188345	0.91570588
1	1.07264747	0.20962798	1.30245063	0.237796	0.87940948	0.16914493	0.96608294	0.17160432	1.3668184	0.02251478	1.3668184	0.22514778
1.5	1.28126287	0.51509705	1.55575963	0.01265472	0.76389256	0.12258895	0.83918083	0.04417923	0.69464584	0.09290212	0.69464584	0.92902119
2	0.87952758	0.58497374	1.43566229	0.1724652	0.93021644	0.1724652	1.02189737	0.33216401	1.17201184	0.11359605	1.17201184	0.11359605
3	1.41906334	0.34973515	1.17241405	0.81209033	0.80804179	0.11242405	0.88768135	0.91174468	1.19623734	0.06568255	1.19623734	0.65682553
4	1.51457241	0.28036256	1.74431235	0.14108349	0.6120518	0.16071277	1.20457895	0.34855571	1.87387373	0.14352037	0.97566048	1.01572759
5	1.45521458	0.16050661	1.91473569	0.04935425	1.3574251	0.13026056	1.28712836	0.20526609	1.55225791	0.08755764	0.46450365	0.96093938
6	1.68338437	0.23800098	1.21182064	0.24918931	0.90514278	0.17055565	0.83669814	0.1368597	0.78775451	0.15738556	1.13097488	0.75110941

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	1.60268255	1.60268255	0.32950183	0.32950183	1.69629241	1.69629241
1	1.41001255	1.41001255	2.03931372	2.03931372	1.23097872	1.23097872
1.5	1.18043411	1.18043411	2.34770164	2.34770164	2.42213264	2.42213264
2	0.58263823	0.58263823	1.92792961	1.92792961	1.4355865	1.4355865
3	0.71346103	0.71346103	2.21942953	2.21942953	1.40651383	1.40651383
4	0.66847011	1.05283422	2.93013077	1.63554758	0.89788567	1.72449781
5	1.03932878	0.95912545	1.32117183	1.53065247	1.08392063	3.62219834
6	0.89845577	1.51546497	1.98133583	2.35466784	2.1358486	1.48767616

Cuadro 6: lecturas de la actividad enzimática de Fenilalanina Amonio Liasa. (PAL) en hojas de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0.0574237	0.07159124	0.06287602	0.00633918	0.39451562	0.01809866	0.39451562	0.02000245	0.0322556	0.01644946	0.0322556	0.01644946
1	0.06527031	0.09626896	0.07146766	0.01693355	0.06374381	0.0043633	0.07709035	0.02353896	0.04444831	0.00553005	0.04444831	0.00553005
1.5	0.0779645	0.00940646	0.08536716	0.00940646	0.05537059	0.04615663	0.06696397	0.04615663	0.02258957	0.01318712	0.02258957	0.01318712
2	0.08930406	0.02033554	0.0154602	0.02033554	0.06742654	0.01060618	0.08154417	0.01399235	0.03811329	0.0030185	0.03811329	0.0030185
3	0.07292894	0.04867877	0.00141241	0.04867877	0.05857073	0.0249896	0.07083415	0.0249896	0.0389011	0.0040996	0.0389011	0.0040996
4	0.07783737	0.03450638	0.09571336	0.0018526	0.04436444	0.00172349	0.09612158	0.0245387	0.06093752	0.01603538	0.03172804	0.03561415
5	0.08854942	0.0749347	0.10506478	0.00760314	0.09839267	0.00314583	0.10270876	0.00385783	0.05047872	0.00204228	0.01510545	0.04529445
6	0.10243349	0.00515855	0.06649464	0.01636316	0.06560908	0.00405619	0.06676586	0.01588397	0.02561742	0.00966072	0.03677879	0.00422349

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	1.60268255	1.60268255	0.32950183	0.32950183	1.69629241	1.69629241
1	1.41001255	1.41001255	2.03931372	2.03931372	1.23097872	1.23097872
1.5	1.18043411	1.18043411	2.34770164	2.34770164	2.42213264	2.42213264
2	0.58263823	0.58263823	1.92792961	1.92792961	1.4355865	1.4355865
3	0.71346103	0.71346103	2.21942953	2.21942953	1.40651383	1.40651383
4	0.66847011	1.05283422	2.93013077	1.63554758	0.89788567	1.72449781
5	1.03932878	0.95912545	1.32117183	1.53065247	1.08392063	3.62219834
6	0.89845577	1.51546497	1.98133583	2.35466784	2.1358486	1.48767616

Cuadro 7: lecturas de la actividad enzimática de Fenilalanina Amonio Liasa. (PAL) en raíz de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0.17290702	0.01049678	0.26917705	0.00440891	1.03809519	0.10599647	1.03809519	0.0020498	0.43916295	0.0023669	0.43916295	0.0023669
1	0.0608898	0.00623144	0.09479163	0.0020498	0.09282393	0.12148773	0.0580445	0.00431363	0.09442437	0.00373623	0.09442437	0.00373623
1.5	0.05583755	0.00101547	0.08692641	0.00101547	0.14263761	0.1313112	0.08919391	0.00167825	0.15120242	0.00341107	0.15120242	0.00341107
2	0.15115771	0.00264046	0.09074687	0.00264046	0.19072156	0.02366904	0.11926168	0.006113	0.15479238	0.00101547	0.15479238	0.00101547
3	0.02060989	0.0043527	0.03208493	0.0043527	0.18845268	0.01969383	0.11784291	0.00196938	0.10182495	0.00518533	0.10182495	0.0518533
4	0.04531067	0.00171902	0.18535688	0.00276294	0.23072142	0.02274048	0.13862126	0.00152447	0.11165391	0.00330334	0.08721307	0.05170468
5	0.0661575	0.00361054	0.04552568	0.00190987	0.21922686	0.18545959	0.10420656	0.00397571	0.09383136	0.00905889	0.07992345	0.06261011
6	0.07467311	0.04417824	0.06997309	0.00161277	0.23764375	0.00924306	0.05312601	0.00450218	0.14597051	0.00771865	0.15614045	0.04194917

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	0.02418773	0.02418773	0.01896736	0.01896736	0.04059463	0.04059463
1	0.06868521	0.06868521	0.21212121	0.21212121	0.18880354	0.18880354
1.5	0.07489994	0.07489994	0.13804161	0.13804161	0.11790588	0.11790588
2	0.02766798	0.02766798	0.10323912	0.10323912	0.1151714	0.1151714
3	0.20292341	0.20292341	0.10448206	0.10448206	0.17508141	0.17508141
4	0.09230119	0.03512566	0.08534069	0.08882094	0.15966888	0.20441495
5	0.06321625	0.1430134	0.0898153	0.11815447	0.18999677	0.22305914
6	0.05600716	0.09304696	0.0828548	0.23175976	0.1221319	0.11417705

Cuadro 8: lecturas de la actividad enzimática de Quitinasa en hojas de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0.00862589	0.21453439	0.00739501	0.00288473	0.06081601	0.00754212	0.06081601	0.00754212	0.00894049	0.002214	0.00894049	0.002214
1	0.00980457	0.00089329	0.00840549	0.00089329	0.00982634	0.00588681	0.00982634	0.00588681	0.01232003	0.00414889	0.01232003	0.00414889
1.5	0.01171142	0.00711434	0.01004025	0.00584795	0.00853558	0.00490438	0.00853558	0.00490438	0.0062613	0.00504192	0.0062613	0.00504192
2	0.00656421	0.00697681	0.00718316	0.00818713	0.01039404	0.00746617	0.01039404	0.00746617	0.01056411	0.0024347	0.01056411	0.0024347
3	0.00536058	0.01240998	0.01287412	0.02693446	0.00902889	0.00840018	0.00902889	0.00840018	0.01078247	0.00168816	0.01078247	0.00168816
4	0.01403572	0.00879788	0.01125709	0.00877843	0.00683894	0.00254906	0.01225216	0.01019625	0.01689045	0.00210851	0.00879427	0.00778752
5	0.01330143	0.00497363	0.01235694	0.0024347	0.01516759	0.02408571	0.01309179	0.00116959	0.01399152	0.00089329	0.00418688	0.01876212
6	0.01538703	0.01204641	0.0078206	0.00350877	0.01011388	0.01730836	0.00851032	0.00380492	0.00710055	0.00175439	0.01019422	0.01012895

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	1.60268255	1.60268255	0.32950183	0.32950183	1.69629241	1.69629241
1	1.41001255	1.41001255	2.03931372	2.03931372	1.23097872	1.23097872
1.5	1.18043411	1.18043411	2.34770164	2.34770164	2.42213264	2.42213264
2	0.58263823	0.58263823	1.92792961	1.92792961	1.4355865	1.4355865
3	0.71346103	0.71346103	2.21942953	2.21942953	1.40651383	1.40651383
4	0.66847011	1.05283422	2.93013077	1.63554758	0.89788567	1.72449781
5	1.03932878	0.95912545	1.32117183	1.53065247	1.08392063	3.62219834
6	0.89845577	1.51546497	1.98133583	2.35466784	2.1358486	1.48767616

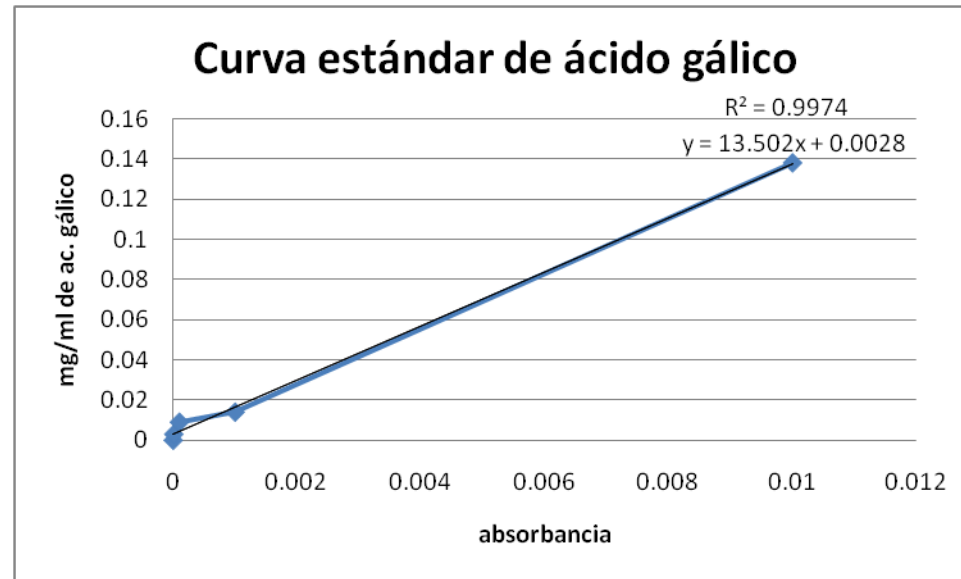
Cuadro 9: lecturas de la actividad enzimática de Quitinasa en raíz de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0.06141047	0.01784345	0.09090684	0.02201349	0.52208288	0.00585769	0.52208288	0.03573158	0.15750268	0.00236342	0.15750268	0.02363422
1	0.07066734	0.01361874	0.03201316	0.01198949	0.04668338	0.00355717	0.06414369	0.00591579	0.03386463	0.00414889	0.03386463	0.04148888
1.5	0.03318267	0.00659031	0.0293569	0.00806792	0.07173586	0.00398062	0.0985662	0.01204641	0.05422768	0.00121735	0.05422768	0.01217349
2	0.00536859	0.00818713	0.07947201	0.01012895	0.09591843	0.00276363	0.13179343	0.0032208	0.05551519	0.0005848	0.05551519	0.05847953
3	0.07319905	0.02515526	0.10835765	0.00947176	0.09477736	0.01116229	0.13022558	0.00907846	0.03651879	0.00116959	0.03651879	0.01169591
4	0.10276552	0.00476288	0.3412976	0.0813146	0.11603532	0.06415003	0.15318727	0.00524145	0.04004388	0.00593502	0.03127835	0.06727265
5	0.05513425	0.00236342	0.15374996	0.02923977	0.11025443	0.01698929	0.11515635	0.00355717	0.03365195	0.0032208	0.02866398	0.03804916
6	0.11579556	0.00116959	0.23631406	0.04389213	0.11951672	0.00303869	0.05870837	0.00478676	0.05235129	0.00089329	0.05599867	0.08932896

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	0.02418773	0.02418773	0.01896736	0.01896736	0.04059463	0.04059463
1	0.06868521	0.06868521	0.21212121	0.21212121	0.18880354	0.18880354
1.5	0.07489994	0.07489994	0.13804161	0.13804161	0.11790588	0.11790588
2	0.02766798	0.02766798	0.10323912	0.10323912	0.1151714	0.1151714
3	0.20292341	0.20292341	0.10448206	0.10448206	0.17508141	0.17508141
4	0.09230119	0.03512566	0.08534069	0.08882094	0.15966888	0.20441495
5	0.06321625	0.1430134	0.0898153	0.11815447	0.18999677	0.22305914
6	0.05600716	0.09304696	0.0828548	0.23175976	0.1221319	0.11417705

Curva estándar de ácido gálico para cuantificar fenoles totales.

CONCENTRACION (mg/ml)	ABS1	ABS2	ABS3
0	0	0	0
0.00001	0	0.006	0.003
0.0001	0	0.012	0.009
0.001	0.012	0.019	0.014
0.01	0.128	0.121	0.138
0.1	1.113	1.107	1.145



Cuadro 10: lecturas de la expresión de fenoles totales en muestras en hojas de tomate.

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	2.471238829	0.58358204	2.471238829	0.38358204	6.47039945	0.70001713	6.47039945	0.30001713	2.33446897	0.0706517	2.33446897	0.5169615
1	1.904606725	0.3607357	1.904606725	0.60735701	4.89458352	0.22049586	4.89458352	0.22049586	5.72162149	0.13461024	5.72162149	0.13461024
1.5	2.719152718	0.35517943	2.719152718	0.55179431	4.64523774	0.62820323	4.64523774	0.62820323	7.97807732	0.73471941	7.97807732	0.34719408
2	2.961092184	0.40341527	2.961092184	0.20341527	3.67269047	0.63865177	3.67269047	0.10638652	3.35900854	4.08192074	3.35900854	0.81920736
3	2.005381919	0.87736906	2.005381919	0.87736906	5.07480373	0.43615559	5.07480373	0.40790776	0.72483089	0.02993225	0.72483089	0.29932246
4	1.642176468	0.41398116	4.682269293	0.48752427	6.2894386	0.25752242	6.09687454	0.11207781	1.03589592	0.18101321	0.97911421	0.12849468
5	2.05969486	0.41109161	3.670073569	0.5611921	4.10704587	0.4123659	6.92638128	0.42760352	0.23848319	0.04123659	1.16427196	0.12828106
6	3.459783736	0.46022299	1.618624401	1.31270101	3.86263763	0.68816273	3.83794993	0.15553251	0.59398608	0.05591642	0.72729966	0.80111493

Cuadro 11: lecturas de la expresión de fenoles totales en muestras en raíz de tomate.

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0.112575915	0.34063102	0.11257591	0.40631018	4.26781218	0.28785765	4.26781218	0.05878576	2.39125068	0.01131333	2.39125068	0.11313326
1	0.127388535	0.34063102	0.12738854	0.40631018	4.4801264	0.47615913	4.4801264	0.04761591	1.13958426	0.29674575	1.13958426	0.29674575
1.5	0.35204661	0.15417464	0.35204661	0.15417464	4.19374907	0.48566424	4.19374907	0.04856642	1.93699699	0.84786349	1.93699699	0.84786349
2	0.778995704	0.33939977	0.7789957	0.33939977	4.07495186	0.18441712	4.07495186	0.05184417	3.30963314	0.15993743	3.30963314	0.15993743
3	0.401125759	0.83464877	0.40112576	0.34648768	3.89720041	0.19595255	3.89720041	0.01959525	4.63289389	0.10055504	4.63289389	0.10055504
4	0.716832074	0.35180623	3.80585592	0.10271389	3.34898534	0.27319109	4.34898534	0.15591642	3.07509999	0.05784513	5.64262085	0.10000804
5	0.657877845	0.15558846	4.2033279	0.196837	3.06305239	0.18191705	3.5441663	0.05607968	3.41332148	0.08773691	3.81819977	0.37137556
6	0.198538488	0.17216021	3.11460031	0.32455207	3.47997827	0.36255635	2.26534341	0.17872599	3.76882437	0.03727761	3.85276255	0.14418547

Cuadro 12: lecturas de la actividad específica de la enzima peroxidasa en hojas de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0	0	0	0	1.42548E-06	6.27E-08	1.42548E-06	6.271E-07	8.48553E-07	1.25E-08	8.48553E-07	1.2484E-06
1	0	0	0	0	2.30321E-07	1.0497E-07	2.30321E-07	1.0497E-07	1.16931E-06	1.23E-07	1.16931E-06	1.23E-06
1.5	0	0	0	0	2.00067E-07	0	2.00067E-07	0	5.94267E-07	0	5.94267E-07	0
2	0	0	0	0	2.43628E-07	0.00E+00	2.43628E-07	1.9945E-06	1.00265E-06	1.81078E-07	1.00265E-06	1.8108E-06
3	0	0	0	0	2.1163E-07	1.57E-08	2.1163E-07	1.5746E-07	1.02338E-06	1.18E-07	1.02338E-06	1.1809E-06
4	0	0	0	0	1.60299E-07	7.09E-08	2.8718E-07	0	1.60309E-06	8.14E-08	8.34674E-07	3.1492E-07
5	0	0	0	0	3.55515E-07	2.38E-07	3.06861E-07	0	1.32795E-06	4.20E-08	3.97381E-07	5.5111E-07
6	0	0	0	0	2.37061E-07	0	1.99475E-07	1.143E-06	6.73921E-07	4.46134E-07	9.67545E-07	1.3122E-07

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	1.60268255	1.60268255	0.32950183	0.32950183	1.696292415	1.69629241
1	1.41001255	1.41001255	2.03931372	2.03931372	1.230978723	1.23097872
1.5	1.18043411	1.18043411	2.34770164	2.34770164	2.422132641	2.42213264
2	0.58263823	0.58263823	1.92792961	1.92792961	1.435586498	1.4355865
3	0.71346103	0.71346103	2.21942953	2.21942953	1.406513832	1.40651383
4	0.66847011	1.05283422	2.93013077	1.63554758	0.89788567	1.72449781
5	1.03932878	0.95912545	1.32117183	1.53065247	1.083920628	3.62219834
6	0.89845577	1.51546497	1.98133583	2.35466784	2.135848602	1.48767616

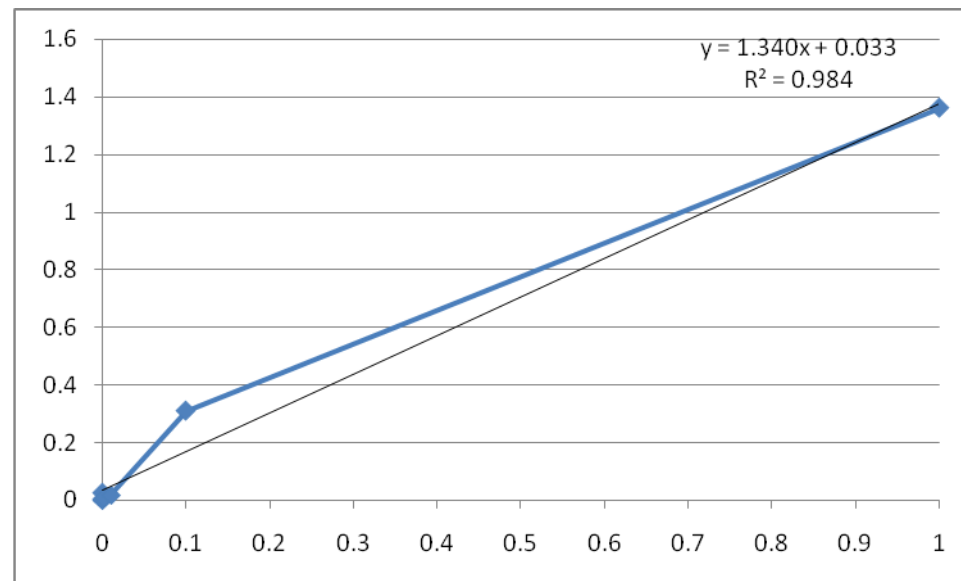
Cuadro 13: lecturas de la actividad específica de la enzima peroxidasa en raíz de tomate

DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	4.19697E-05	6.104E-07	4.19697E-05	6.10E-06	9.26632E-05	7.4041E-07	9.26632E-05	7.40E-06	7.05423E-05	1.6589E-06	7.05423E-05	1.6589E-06
1	1.47798E-05	9.5815E-07	2.93389E-05	9.58E-06	8.28571E-06	1.6949E-06	8.28571E-06	1.6949E-06	1.51673E-05	1.0395E-06	1.51673E-05	1.0395E-06
1.5	2.69046E-05	8.4183E-07	2.69046E-05	8.42E-07	1.27322E-05	1.1556E-06	1.27322E-05	1.1556E-06	2.42875E-05	4.0993E-07	2.42875E-05	4.0993E-07
2	5.47619E-07	6.249E-07	5.47619E-07	6.24897E-07	1.70243E-05	3.9365E-07	1.70243E-05	3.9365E-07	2.48641E-05	1.6328E-06	2.48641E-05	1.6328E-06
3	5.00263E-06	8.5078E-07	9.9306E-06	8.50782E-07	1.68218E-05	8.4101E-07	1.68218E-05	8.4101E-07	1.6356E-05	1.2231E-06	1.6356E-05	1.22E-05
4	2.18323E-05	3.1926E-07	5.69427E-05	1.43043E-05	2.05948E-05	6.9433E-08	1.97879E-05	4.48E-06	1.79348E-05	9.5491E-07	1.40089E-05	1.8747E-06
5	1.60584E-05	3.9713E-07	1.40906E-05	2.76489E-07	1.95688E-05	3.5501E-07	1.48752E-05	8.8491E-07	1.5072E-05	1.4261E-06	1.2838E-05	1.37E-05
6	1.81254E-05	3.7021E-07	2.16574E-05	0	2.12127E-05	6.6235E-07	7.58361E-06	6.9976E-07	2.34471E-05	1.225E-06	2.50807E-05	6.5292E-07

mg/ml de Proteína						
DIAS	TA	FOL	HL	HL+FOL	C+	C++FOL
0.5	0.024187735	0.02418773	0.01896736	0.01896736	0.040594626	0.04059463
1	0.068685211	0.06868521	0.212121212	0.212121212	0.18880354	0.18880354
1.5	0.074899943	0.07489994	0.138041614	0.138041614	0.117905884	0.11790588
2	0.027667984	0.02766798	0.103239118	0.103239118	0.115171402	0.1151714
3	0.20292341	0.20292341	0.104482064	0.104482064	0.175081413	0.17508141
4	0.092301191	0.03512566	0.085340692	0.088820941	0.159668879	0.20441495
5	0.063216248	0.1430134	0.089815298	0.118154473	0.189996768	0.22305914
6	0.056007159	0.09304696	0.082854799	0.231759763	0.122131901	0.11417705

Curva patrón con albumina sérica bovina para cuantificar proteínas totales.

CONCENTRACION (mg/ml)	
0	0
0.00001	0.003
0.0001	0.025
0.001	0.01
0.01	0.019
0.1	0.309
1	1.361



Cuadro 14: lecturas de la expresión de proteínas totales en muestras en hojas de tomate.

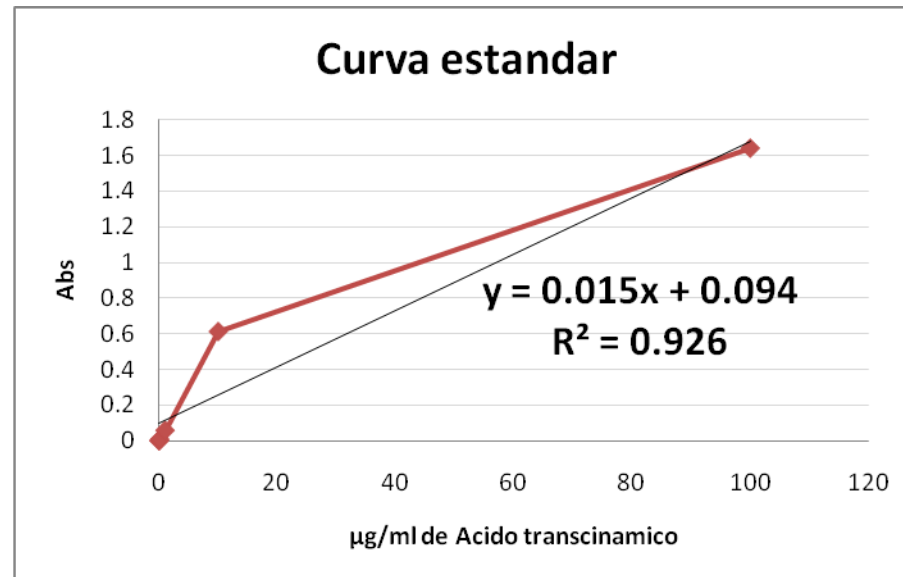
DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	1.60268255	0.09599956	1.60268255	0.09599956	0.32950183	0.02955286	0.32950183	0.02955286	1.69629241	0.04168524	1.69629241	0.04168524
1	1.41001255	0.02943028	1.41001255	0.02943028	2.03931372	0.19038172	2.03931372	0.19038172	1.23097872	0.05143275	1.23097872	0.05143275
1.5	1.18043411	0.06047774	1.18043411	0.06047774	2.34770164	0.03948346	2.34770164	0.03948346	2.42213264	0.20907361	2.42213264	0.20907361
2	0.58263823	0.00750723	0.58263823	0.00750723	1.92792961	0.03502992	1.92792961	0.03502992	1.4355865	0.01911553	1.4355865	0.01911553
3	0.71346103	0.02358718	0.71346103	0.02358718	2.21942953	0.09203209	2.21942953	0.09203209	1.40651383	0.01965113	1.40651383	0.01965113
4	0.66847011	0.00489033	1.05283422	0.01805826	2.93013077	0.00676693	1.63554758	0.03241589	0.89788567	0.02078807	1.72449781	0.10119384
5	1.03932878	0.00539502	0.95912545	0.01012525	1.32117183	0.02863528	1.53065247	0.06778013	1.08392063	0.03318736	3.62219834	0.03408575
6	0.89845577	0.02178102	1.51546497	0.02286886	1.98133583	0.04892032	2.35466784	0.03243018	2.1358486	0.01356806	1.48767616	0.10376986

Cuadro 15: lecturas de la expresión de proteínas totales en muestras en raíz de tomate.

COMBERSION A mg/g de tejido												
DIAS	TA	DE	FOL	DE	HL	DE	HL+FOL	DE	C+	DE	C++FOL	DE
0.5	0.22775645	0.03338786	0.22775645	0.03338786	0.18115912	0.04019774	0.18115912	0.04019774	0.39565912	0.03991309	0.39565912	0.03991309
1	0.57477164	0.06708595	0.57477164	0.06708595	1.62919518	0.03721623	1.62919518	0.03721623	1.37211875	0.31416401	1.37211875	53.314164
1.5	0.61393396	0.06063387	0.61393396	0.06063387	1.42604973	0.01615065	1.42604973	0.01615065	0.90418623	0.02455377	0.90418623	0.02455377
2	0.2342759	0.02051878	0.2342759	0.02051878	1.01314149	0.00911343	1.01314149	0.00911343	0.90543555	0.05667999	0.90543555	0.05667999
3	2.17495616	0.10859567	2.17495616	0.10859567	1.07824628	0.05971733	1.07824628	0.05971733	1.82566645	0.02378676	1.82566645	0.02378676
4	0.81754819	0.04305692	0.34302404	0.02638796	0.75057776	0.01733542	0.80453751	0.04143544	1.55319921	0.01902804	1.93942073	0.02985866
5	0.68047629	0.02760684	1.11641998	0.05204547	0.85783475	0.04637173	1.0319168	0.0074701	1.70400689	0.0194663	1.85111319	0.0167922
6	0.44379683	0.03588995	0.80005983	0.0279074	0.70156477	0.03299127	1.57659703	0.03103983	1.18344866	0.0190183	1.10209503	0.07454321

$\lambda=290 \text{ nm}$

$\mu\text{g/ml}$	ABS	ABS				
0	0	0	0	0	0	0
0.01	0.001	0.004	0.001	0.003	0.002	0.001
0.1	0.003	0.012	0.006	0.009	0.007	0.006
1	0.055	0.071	0.058	0.059	0.064	0.052
10	0.66	0.754	0.674	0.614	0.627	0.643
100	1.357	1.404	1.371	1.643	1.369	1.325
1000	1.562	1.598	1.57	1.546	1.58	1.507



Curva Estándar de Glucosa para cuantificar β -1,3 Glucanasa.

CONC ($\mu\text{g/ml}$)	ABS1	ABS2	ABS3	ABS4
0	0	0	0	0
0.05	0.22	0.225	0	0.005
0.5	0.001	0.002	0	0.013
5	0.003	0.021	0.009	0.01
50	0.14	0.175	0.138	0.15
500	2.065	2.06	1.964	1.883
5000				
50000				

