

Resistencia inducida mediante sustancias químicas a enfermedades en plantas causadas por hongos

Luis Fernando Patiño Hoyos

POLITÉCNICA No.7 | julio - diciembre de 2008, pp. 103 - 115 |



Autores

LUIS FERNANDO PATIÑO HOYOS

Maestría/Magister en Agricultura Ecológica, énfasis MIP. Centro Agonomico Tropical de Investigacion y Enseñanza, CATIE, Costa Rica Título: Efecto de una fuente de energía, tres inductores de resistencia y un sustrato foliar sobre Sigatoka Negra en Banano, Año de obtención: 2001. Tutor: Elkin Bustamante Rojas Becado de: Centro Agonomico Tropical de Investigacion y Enseñanza

Recibido: 24 de enero de 2007

Aprobado: 17 de marzo de 2008

Resumen

Las plantas poseen un espectro de defensas que pueden expresarse activamente en respuesta al ataque de hongos fitopatógenos en los cultivos agrícolas. Estas defensas pueden ser estimuladas por medio de tratamientos que producen una resistencia contra el subsecuente ataque por un patógeno, lo cual se conoce como resistencia inducida (RI). En los últimos 20 años se han logrado significativos avances sobre el entendimiento de las bases fisiológicas y bioquímicas de este tipo de resistencia en las plantas. Gran parte de este conocimiento se debe a la identificación de varios inductores químicos, algunos de los cuales ya están disponibles comercialmente para su uso en la agricultura convencional. A pesar de lo anterior, la efectividad de estos inductores en términos prácticos para controlar las enfermedades de las plantas, depende de varios factores y sólo está empezando a aplicarse. En esta revisión se resumen los aspectos fundamentales de la RI, examinando su eficacia con base en varios estudios de campo. De igual forma, se analizan también los beneficios, limitaciones y consideraciones futuras para un mejor uso de los inductores químicos de resistencia en la protección de las cosechas agrícolas.

Palabras clave

SAR, BTH, INA, ácido DL- β -aminobutírico.

Abstract

Plants have a range of defenses that can be actively expressed in response to attack of fungi pathogens that causes serious damage to crops. By induced resistance (IR) plant defenses are boosted by prior treatment that results in resistance against subsequent challenge by a pathogen. In the past 20 years, great findings about understanding the physiological and biochemical basis of this type of resistance had been realized. Much of this knowledge had been obtained by the identification of a several chemical inductors, some of which are commercially available for use in conventional agriculture. However, the effectiveness of these inductors to induce resistance in plants depends on different factors. In this review, we first briefly summarizes the fundamental of IR, and then it examines the efficacy of IR in field-based studies. It is too analyzed the benefits, drawbacks, and future considerations for the improved use of chemical inductors of resistance in crops protection.

Key Words

SAR, BTH, INA, DL- β -aminobutirico acid.

Resistencia inducida mediante sustancias químicas a enfermedades en plantas causadas por hongos

Luis Fernando Patiño Hoyos

POLITÉCNICA No.7 | julio - diciembre de 2008, pp. 103 - 115 |



Introducción

La resistencia inducida es un estado fisiológico de capacidad de defensa aumentada por un estímulo ambiental específico, en el cual donde las defensas innatas de la planta son potenciadas contra subsecuentes desafíos bióticos (van Loon *et al.*, 1998). Este estado de resistencia incrementado es efectivo contra un amplio rango de patógenos y parásitos que incluyen hongos, virus, nematodos, plantas parásitas y aún insectos herbívoros (Sticher *et al.*, 1997; van Loon *et al.*, 1998). Las dos formas más claramente definidas de resistencia inducida son la SAR (*Systemic Acquired Resistance*) e ISR (*Induced Systemic Resistance*), las cuales pueden ser diferenciadas con base en la naturaleza del inductor y las vías regulatorias involucradas. La forma clásica de SAR puede ser iniciada exponiendo la planta a microorganismos virulentos, avirulentos o no patogénicos, o en forma artificial con químicos como el ácido salicílico (AS), el ácido 2,6-dicloro-isonicotínico (INA) o el ácido benzo (1,2,3) tiadiazol-7-carbotiónico S-metil éster (BTH) (Sticher *et al.*, 1997). De otro lado, la ISR se potencia la acción de

rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal conocidas como PGPR, por su sigla en inglés, de las cuales las mejor caracterizadas son cepas dentro de varias especies de *Pseudomonas* que no causan daño visible al sistema radical de las plantas (van Loon *et al.*, 1998). La SAR es efectiva dentro de un amplio espectro de especies de plantas, mientras que La ISR ha demostrado más especificidad en la habilidad de cepas de PGPR para promover resistencia sobre ciertas especies y genotipos de plantas (Yan *et al.*, 2002).

El objetivo de la presente revisión es explorar las experiencias relacionadas con el control de enfermedades de origen fungoso en plantas, por ser éste el grupo de patógenos más numeroso que afecta las cosechas agrícolas, mediante la resistencia inducida con inductores de naturaleza química así como identificar las ventajas y desventajas de esta alternativa para la protección de cultivos.

Antecedentes y bases químicas de la resistencia inducida

El fenómeno natural del desarrollo de resistencia en respuesta a la infección por un patógeno fue reconocido por primera vez en 1901 por Ray y Beauverie. Treinta años después, Carbonne y Kalaljev confirmaron estos estudios y mostraron que este tipo de resistencia también dependía del estado de la planta hospedera (Kessmann *et al.*, 1994).

En 1933, Chester revisó cerca de 200 publicaciones que describían un fenómeno que él denominó inmunidad fisiológica adquirida (Ryals *et al.*, 1994). Dentro de este concepto, se incluían al menos, tres procesos diferentes reconocidos actualmente como protección cruzada viral, an-

tagonismo (o control biológico) y resistencia sistémica adquirida (SAR, por su sigla en inglés).

En términos generales, se puede expresar que cuando las plantas reconocen que están siendo invadidas por un patógeno, se puede inducir una variedad de respuestas por un factor llamado *elicitor* o "inductor" (Kiba *et al.*, 1996). Dentro de estas respuestas de defensa se incluyen la muerte celular programada, la cual restringe el progreso del patógeno (respuesta hipersensible), el fortalecimiento de la pared celular como resultado de la lignificación y la formación de aposiciones en la pared celular (papilas) en sitios de intento de entrada de patógenos, el entrecruzamiento de las proteínas de la pared celular, y la producción de compuestos antimicrobiales como fitoalexinas y proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR).

Se reporta que, luego de la inducción, las partes de la planta no inducidas directamente desarrollan una resistencia incrementada (sensibilización) a posteriores infecciones patogénicas (Vernooij *et al.*, 1994; Sticher *et al.*, 1997).

El ácido salicílico (AS) fue propuesto como una señal que conduce a la SAR. esta hipótesis se fundamenta en estudios en los que se purificó una proteína que se enlaza al AS, la cual codifica una isoenzima catalasa. El AS y análogos activos inhiben específicamente la actividad catalasa de la proteína. Este hecho ha llevado a la especulación de que el AS puede mediar una inhibición de la catalasa, ya que esta enzima convierte el H_2O_2 en H_2O y O_2 . La inhibición resultaría en una acumulación de especies reactivas de oxígeno que pueden actuar como mensajeros secundarios para inducir la expresión de los genes responsables de la SAR (Chen *et al.*, 1993).

La hipótesis de la inhibición de la catalasa no ha sido totalmente reconocida como el principal modo de acción del AS en la inducción de defensa. Se ha encontrado que la inducción de ciertas

PRno es producto de la acumulación del H_2O_2 sino del AS directamente además, la actividad de la enzima no decrece con el tratamiento de AS. Otro argumento en contra de la hipótesis es que los niveles de AS dentro del tejido son muy bajos como para inhibir la catalasa, y el H_2O_2 en altos niveles también puede inducir la producción de AS (Mauch-Mani y Métraux, 1998).

Control de enfermedades fungosas mediante BTH E INA

El BTH y el INA son hasta ahora los inductores químicos disponibles más estudiados (Vallad y Goodman, 2004; Walters *et al.*, 2005); ambos son considerados análogos funcionales del ácido salicílico. Durante la década de los noventa, la mayoría de estudios sobre la SAR habían sido llevados a cabo con plantas dicotiledóneas; se registraron algunos casos de inducción de la SAR en plantas monocotiledóneas; en realidad, la inducción sistémica de resistencia mediante estas dos moléculas se realiza lo largo de un amplio rango de interacciones planta-patógeno. En términos generales ningún inductor químico exhibe actividad antimicrobial directa; sin embargo, se han documentado algunos ejemplos de dicho efecto (Rohilla *et al.*, 2002; Tosi y Zizzerini, 2000 citados por Vallad y Goodman, 2004; Delaney 1997; Friedrich *et al.*, 1996., Grolach *et al.* 1996; Uknex *et al.*, 1992; Vernooij *et al.*, 1994).

De 37 ejemplos de enfermedades en cultivos examinadas por Vallad y Goodman (2004), 32 correspondieron a ejemplos donde se usó el BTH que cubre 12 cultivos diferentes, mientras que los restantes cinco ejemplos usaron el INA.

El BTH inhibe las dos principales enzimas degradadoras del H_2O_2 , catalasa y ascorbato pe-

roxidasa; se considera el mejor inhibidor de la catalasa que el ácido salicílico, lo que sugiere cambios en los niveles de H_2O_2 o en el estado redox de la célula pueden estar involucrados en la activación de ciertas respuestas de defensa (Wendehenne *et al.*, 1997).

Este compuesto conocido también como acibenzolar-s-metil (ASM), simula el modo de acción del ácido salicílico (AS) e induce el promotor PR-1a (Friedrich *et al.*, 1996). Du y Klessig (1997), encontraron que el BTH compete muy exitosamente con el AS para unirse a la proteína de enlace con el AS (SABP2) y que la habilidad de los análogos del AS, como el BTH para competir con el AS y enlazarse a dicha proteína, está correlacionado con su habilidad de activar la expresión de los genes de defensa e incrementar la resistencia. El BTH, además de activar PR también induce la formación de compuestos fenólicos y de residuos de β -glucósido (Benhamou y Bélanger, 1998b).

Existe evidencia derivada de estudios citológicos, que muestra que el efecto de protección ejercido por el BTH, puede explicarse por su reducción en el grado de colonización fungal en tejidos radicales, asociada con acumulación masiva de aposiciones de la pared que actúan como barreras estructurales. Este proceso de reforzamiento, mediado por la deposición temprana de calosa y fenoles, probablemente conduce a cambios dramáticos tanto en la rigidez como en la vulnerabilidad de las células y tejidos (Benhamou, 1996).

En las hojas, Grolach *et al.* 1996, reportan que la tasa de penetración de *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* en tejido tratado con BTH disminuyó en un 30% comparada con las plantas control. Una posible explicación para la obstaculización de la entrada del hongo fue también el incremento en la formación de papilas efectivas (directamente sobre la hifa de penetración) en tejido tratado. Se ha encontrado también que

la expresión de las reacciones de defensa en plantas tratadas con ASM ocurre con mayor magnitud después del contacto con el hongo (Benhamou y Bélanger 1998a).

Luego del tratamiento de inducción, usualmente ocurre un corto período de rezago antes de que se exprese la resistencia local o sistémica. Luego de este periodo pueden presentarse varios eventos en términos de expresión de resistencia; los principales son : (i) las defensas son encendidas y no hay cambio posterior en las defensas luego del desafío con el patógeno, (ii) las defensas se activan y hay un incremento posterior en estas defensas luego del ataque por el patógeno, y (iii) los mecanismos de defensa se activan sólo cuando ocurra el ataque por el patógeno. Este período de rezago o de espacio sin respuesta, quizás de varios días, ocurre antes de que la planta sea protegida por sus defensas inducidas. Esta situación se constituye en una forma riesgosa de defensa, comparada con la resistencia constitutiva, en la que defensas están siempre presentes (Walters *et al.*, 2005).

EFICACIA ENTRE MONOCOTILEDÓNEAS

Görlach *et al.* (1996) reportaron un control exitoso de mildew polvoso, mancha foliar por *Septoria* (*Septoria* spp.) y roya foliar (*Puccinia recondita*) en trigo mediante la aplicación del BTH. Este inductor también exhibió control del mildew veloso del maíz causado por *Peronosclerospora sorghi* en condiciones de campo cuando se aplicó como tratamiento a la semilla (Morris *et al.*, 1998).

En cultivos comerciales de banano en la Provincia de Limón, Costa Rica, se encontró que hubo respuesta de plantas de banano a la activación de resistencia al ser tratadas con CGA 245704 =ASM (Madrigal *et al.*, 1998). Se reporta que la inclusión de la molécula en los programas de manejo de la sigatoka negra redujeron entre 15 y 18% el número de ciclos de fungicidas ne-

cesarios para tener un buen control (Madrigal *et al.*, 1998); se observaron reducciones altamente significativas en condiciones de invernadero y significativas en condiciones de campo, al aplicar para el último caso mezcla de este inductor con fungicidas convencionales (Patiño, 2002).

EFICACIA ENTRE CULTIVOS DE SOLANÁCEAS

Existe amplia evidencia que soporta la efectividad del BTH contra varios patógenos fungosos en cultivos de solanáceas (Romero *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2003). En tabaco, el BTH ha ofrecido control efectivo contra *frogeye leaf spot* (*Cercospora nicotianae*), mancha café (*Alternaria alternata*) y mancha foliar *Rhizoctonia* (*Rhizoctonia solani*) (Csinos *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2003). Las Aplicaciones repetidas de BTH también controlaron el tizón temprano en tomate (*Alternaria solani*); También se ha reportado que el BTH ofreció poca protección contra los efectos combinados de tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y tizón temprano en tomate (Csinos *et al.*, 2001; Vallad y Goodman, 2004).

El ASM en una dosis de 25 y 37.5 g i.a. ha⁻¹, aplicado en un intervalo de 10 días, indujo exitosamente la RI en plantas de tabaco contra la enfermedad llamada moho azul, ocasionada por el hongo *Perospora hyoscyami*. Tres a cuatro aplicaciones ofrecieron un control casi completo de la enfermedad en los primeros estados de crecimiento en condiciones de campo con diferentes cultivares con resistencia poligénica a la enfermedad. La dosis de 25 g i.a. ha⁻¹ resultó ser la más apropiada para lograr un control satisfactorio de la enfermedad, ya que ésta reduce el riesgo de fitotoxicidad, mientras que una dosis de 17.5 g i.a. ha⁻¹ no dio una protección suficiente para alcanzar los estándares necesarios para la manufactura de cigarros (Pérez *et al.*, 2003). La expresión de genes asociada con la SAR involucró al menos nueve familias de ge-

nes y las aplicaciones de ASM resultaron en la resistencia a un amplio espectro de patógenos como *Phyoscyami*, *C. Nicotianae*, *A. alternata*, *Thanatephorus cucumeris*, *Pseudomonas syringae*, *Erwinia caratovora* y reducción del número y tamaño de lesiones ocasionadas por TMV (Pérez *et al.*, 2003).

EFICACIA EN CULTIVOS DE LEGUMINOSAS

Pocos experimentos de campo han sido reportados sobre los efectos del INA y el BTH sobre enfermedades de leguminosas. Se obtuvieron densidades reducidas de uredosporas de *Uromyces apendiculatus* sobre trifolios de frijol común, cuando el inductor del INA fue aplicado al menos siete días antes de la inoculación, más no a las dos horas antes de la inoculación (Dann y Deverall, 1996; citados por Vallad y Goodman, 2004). De igual forma, las aplicaciones repetidas del INA sobre cultivo de soya redujeron parcialmente los síntomas de moho blanco (causado por *Sclerotinia sclerotiorum*) en dos de tres ensayos en campo, lo que muestra relación entre la efectividad del inductor y el tipo de cultivar utilizado (Dan *et al.*, 1998, citados por Vallad y Goodman, 2004).

EFICACIA SOBRE ÁRBOLES FRUTALES, ALGODÓN Y ESPINACA

Se ha reportado el control de varias enfermedades de manzana y pera japonesa (*Pyrus pyrifolia*) con aplicaciones de BTH en campo. En cultivos de pera japonesa, las aplicaciones múltiples de BTH controlaron la roña (*Venturia nashicola*) y la roya por *Gymnosporangium asiaticum*. El control de la roña con BTH fue equivalente al obtenido con el fungicida policarbamato; sin embargo, éste no fue el mismo caso para la roya, en la que el control no resultó tan efectivo como el ofrecido por el fungicida (Ishii *et al.*, 1999 y Masón-Stein *et al.*, 2002, citados por Vallad y Goodman, 2004).

Estudios llevados a cabo en invernadero han resultado promisorios para el uso de BTH en cítricos contra la roña de este cultivo (*Elsinoë fawcettii*), melanosa (*Diaporthe citri*) y mancha por alternaria (*Alternaria alternata*) (Agostini *et al.*, 2003, citados por Vallad y Goodman, 2004).

La enzima quitinasa es un marcador particularmente útil para la SAR, ya que los niveles de la enzima en tejidos no inducidos son bajos. El ASM, en a dosis de 50 a 100 ug/ml, indujo la acumulación de quitinasa en plantas de melón y ofreció una protección casi completa contra la antracnosis ocasionada por el hongo *Colletotrichum lagenarium* (Smith-Becker *et al.* 2003).

El BTH ha sido también evaluado por su efecto de control sobre el tizón gomoso del tallo de plantas de melón causado por el hongo *Didymella bryoniae*, caso en el que el mejor control fue aquél obtenido de la combinación del fungicida difenocnazole más BTH, éste último dosis de 5.0g/100L, en relación con el control ofrecido por el fungicida y el inductor solos (Rizzo *et al.*, 2003).

También se han evaluados los inductores químicos de resistencia inducida en cultivos exóticos como el marañón (*Anacardium occidentale*), en el cual tratamiento foliar o con el empapamiento a plántulas con 5mM de ácido salicílico fue el tratamiento más efectivo en el control de la antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum gloesporioides*, con respecto a los químicos ASM, INA y K_2HPO_4 , los cuales además causaron efectos fitotóxicos, con excepción del fosfato de ácido de potasio. En plantas sujetas a condiciones de campo, la protección fue conferida por una sola aplicación con empapado de concentraciones tan bajas como 12.6 uM de ASM e INA y de 2.6 mM de ácido salicílico, concentraciones que no presentaron efecto fitotóxico sobre las plantas de marañón (Lopez y Lucas, 2002).

En cultivos de algodón se tiene registros de control de enfermedades como mancha por

alternaria (*Alternaria macrospora*) y marchitez por verticillium (*Verticillium dahliae*). En espina-ca también dispone de reportes de control en algunas de sus enfermedades como roya blanca (*Albugo occidentalis*); resultan tan efectivos como aquel resultante de mezcla de fungicidas convencionales, mejorando además el nivel de control ejercido por fungicidas estrobilurinas (Leskovar y Kolenda, 2002; citados por Vallad y Goodman, 2004).

Inducción de resistencia mediante baba

Otro de los inductores químicos de resistencia inducida es el aminoácido no proteico llamado BABA (ácido DL- β -aminobutírico), el cual induce resistencia contra un gran número de parásitos de plantas que incluyen perennes, monocotiledóneas y dicotiledóneas pertenecientes a las familias Solanaceae, Cucurbitaceae, Compositae, Leguminaceae, Cruciferae, Gramínea, Malvaceae, Rosaceae y Vinifereceae. Los patógenos involucrados pertenecen a los grupos oomycetes, hongos, bacterias, TMV y nematodos en enfermedades que atacan el follaje, las raíces y las frutas. La persistencia (duración) de la resistencia inducida mediante BABA depende del patosistema y del modo de aplicación; una sola aspersión en tomate fue efectiva por 12 días contra *Pinfestans*, mientras que el tratamiento de semilla puede ofrecer un control de hasta 30 días. A diferencia de otros activadores químicos por ejemplo SA, INA y BTH, que proveen resistencia solamente cuando se aplican antes de la infección con el patógeno, BABA exhibe actividad postinfeccional cuando se entre 1-8 días después de la inoculación. El BABA induce una variedad de defensas físicas y bioquímicas como barreras físicas: formación de manchas

necróticas muy pequeñas, papilas, callosa, lignina; dentro de las defensas químicas se tienen registros de la inducción de la expresión de proteínas de SAR (PR1, PR2 y PR5), acumulación de fitoalexina, y formación de reacción hipersensitiva asociada con generación rápida de especies reactivas de oxígeno (Cohen, 2002).

Resistencia inducida por otros compuestos químicos

Un compuesto de adición soluble en agua de la vitamina K3, conocido como bisulfito de sodio menadiona (MSB, por su sigla en inglés), estudiado por vez primera como regulador de crecimiento en plantas, ha mostrado recientemente capacidad de inducir resistencia a la enfermedad "mal de Panamá" en plantas de banano, e igualmente ha mostrado efecto de control para la infección por el tipo A de *Leptospheria maculans*, el hongo causante de cáncer en plantas de repollo; la molécula ha mostrado efecto sobre la dinámica de la acumulación de fitoalexinas en banano durante la patogénesis causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 4 (FOC-4), retardando la expresión de los síntomas de la enfermedad, que se refleja en una reducción significativa del índice de daño en el rizoma. El mecanismo de acción parece ser la expresión sistémica de la enzima ascorbato peroxidasa, independiente de la expresión de proteínas relacionadas con la patogenicidad, lo que sugiere la producción incrementada de especies reactivas de oxígeno (ROS) en las plantas tratadas con MSB, con un hecho muy sobresaliente, cual es el efecto no fitotóxico de su aplicación a concentraciones de 200 μ M en plantas de repollo y en plantas de banano tratadas con dosis de hasta 1300 ppm para el control de *Mycospherella fi-*

jiensis. Finalmente, se sugiere que la MSB es un efectivo activador de resistencia, al reforzar los mecanismos naturales de defensa en la planta, posiblemente mediante un cambio en la dinámica de acumulación de fitoalexinas en la planta biosintetizadas durante la patogénesis (Borges *et al.*, 2004).

Diferentes oligosacáridos, como N-acetilquitino-oligosacáridos y β , 1-3 glucanos, actúan como inductores de respuestas de defensa en las plantas. Quitosán es una forma deacetilada de N-acetilquitino-oligosacáridos que contiene poli *D-glucosamina* como unidades estructurales, relacionadas con la celulosa. Quitosán es un polímero muy común encontrado en la naturaleza y ha sido reportado en caparazones de crustáceos, insectos y hongos. Elexa es una formulación comercial de quitosán, la cual contiene 4% de quitosán como su componente activo; el producto ha mostrado capacidad de inducir resistencia hacia diferentes enfermedades fungosas cuando se aplica como tratamiento a la semilla o en forma foliar contra hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* en tomate, mohogris en pepino, *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium solani* f.sp. *pisi* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* (revisados por Sharathchandra *et al.*, 2004). En plantas de *Pennisetum glaucum* (Pearl millet), cereal que se constituye en fuente alimenticia para personas pobres de las regiones áridas de India y África, El Elexa exhibió bajo condiciones de campo una protección hacia la enfermedad fungosa mildeo veloso causada por *Sclerospora graminicola*, del 38% al usarse como tratamiento de la semilla, del 67% cuando se aplicó en aspersión foliar y del 69% al combinar su uso como tratamiento a la semilla y aspersión foliar. Varios estudios han reportado que el quitosán induce reducción de apertura estomatal, biosíntesis de lignina, lignificación de pared celular, cambios ultraestructurales en las células de las

hojas y producción de hidrolasas antifúngicas como quitinasa y β , 1-3 glucanasa. La molécula también estimula la acumulación de señales moleculares en las vías de señalamiento intracelular como el ácido jasmónico, peróxido de hidrógeno, especies reactivas de oxígeno y proteínas quinasas (Sharathchandra *et al.*, 2004).

Los componentes de la resistencia en hojas de maní contra la roya *Puccinia arachidis*, como un mayor período de incubación, reducción del diámetro de la lesión y del número de pústulas y el número de uredosporas/soro, fueron todos reducidos en hojas tratadas con quitosán; estas hojas mostraron un incremento del ácido salicílico endógeno y de la actividad intercelular de quitinasas y endoglucanasas, compuestos todos ellos relacionados con respuestas de resistencia inducida (Sathiyabama y Balasubramanian, 1998).

Otro compuesto sintético reportado como inductor de resistencia hacia sigatoka negra es el *Triciclazole*, un inhibidor de la biosíntesis de melanina en *M. fijiensis*, el cual causa en el hongo acumulación del metabolito 2,4,8-trihidroxyteralona (2,4,8-THT). La activación temprana del metabolismo de esta sustancia está relacionada con el nivel de resistencia a sigatoka negra, a través de la formación de micro lesiones necróticas y la inducción de reacciones de defensa post-infeccionales que condujeron a la incompatibilidad entre el patógeno y sus plantas hospederas (Hoss *et al.*, 2000).

El ion calcio Ca^{+2} está ampliamente reconocido como mensajero secundario en las plantas, varios estudios sugieren que este ion posee una función vital en respuestas mediadas por las plantas a estímulos externos de origen abiótico y biótico (Reddy, 2001, citado por Geetha y Shetty, 2002). De igual forma, se tiene conocimiento acerca de una de las primeras respuestas de las plantas a los patógenos microbiales la producción de especies reactivas de oxígeno

(ROS, por su sigla en inglés) tales como el superóxido y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La función de la ROS durante la respuesta hipersensitiva es una clara evidencia de la función del H_2O_2 en la resistencia inducida, principalmente como mensajero secundario para la SAR (Alvarez *et al.*, 1998, citados por Geetha y Shetty, 2002).

Con base en lo anterior, Geetha y Shetty (2002), compararon la capacidad de inducir la SAR por aplicación de ASM al 0.75%, cloruro de calcio ($CaCl_2$) (90 mM) y H_2O_2 (1.0 mM) en plantas de *Pennisetum glaucum* afectadas por *Sclerospora graminicola*, resultaron eficientes para manejar la enfermedad en un 78%, 66% y 59% de protección, respectivamente contra la enfermedad mildew veloso, sugiriendo que aún los compuestos de señalización como el Ca y las ROS pueden usarse como inductores de resistencia.

Numerosos reportes revisados por Bécot *et al.* (2000) han descrito los fosfatos o las sales de potasio como inductores de resistencia. Estos compuestos incluyen KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , KOH, $NH_4H_2PO_4$ y H_3PO_3 . Por ejemplo, el K_2HPO_4 o el KH_2PO_4 han inducido la SAR en los patosistemas maíz/*Puccinia sorghi*, maíz/*Exserohilum turcicum*, pepino/*Sphaerotheca fuliginea*, pimienta/*Leveillula taurica*, vid/mildew polvoso y árboles de mango/mildew polvoso; en reportes de poco control hacia enfermedades bacterianas, revisado por Reuveni *et al.*, (2000), se informa, como soluciones nutritivas que contienen P, a concentraciones de 5, 20 y 40 ppm, aplicadas a través de sistemas hidropónicos, confirieron resistencia inducida contra *Sphaerotheca fuliginea* en plantas jóvenes de pepino. La protección se expresó como una reducción significativa (hasta del 92% comparada con el testigo) del área foliar afectada por el mildew. La resistencia inducida fue expresada como una reducción del 53 al 91% en el número de conidias del hongo por área foliar afectada. La concentración de 20

ppm de P en la solución hidropónica resultó ser la óptima para la resistencia inducida.; dicha concentración incrementó la toma y la concentración de Ca en las hojas en un 50% en relación con el testigo; el secuestro de este elemento en el sitio de aplicación de fosfato se piensa que genera una señal endógena para la protección. Los iones calcio son componentes claves en la producción inducida de ácido salicílico, el cual actúa como molécula señalizadora que media la SAR, y de quitinasa, la cual juega un papel importante en el mecanismo de protección.

Bécot *et al.*, (2000), evaluaron el producto comercial conocido como Phytogard®, el cual contiene 58% de fosfato de potasio (K_2HPO_3) para proteger plantas coliflor del mildew veloso de las crucíferas (*Peronospora parasitica*). Los resultados mostraron que las aplicaciones del producto antes o después de la inoculación ofrecieron una completa protección (no esporulación del hongo) de las plántulas con concentraciones de 7.0 ml/L de agua o mayores. En plantas jóvenes una protección completa fue obtenida a 10 ml/L, se encontró que la resistencia inducida no fue sistémica, con una duración de al menos 15 días después del tratamiento. En la aplicación del producto en las raíces de plantas de 30 días de edad, todos los estados foliares fueron completamente protegidos debido probablemente al transporte ascendente del producto; en las plantas tratadas, la actividad de la β -1,3 glucanasa y de proteínas PR2 resultaron débilmente inducidas, lo cual sugiere que la resistencia inducida está fuertemente localizada.

La riboflavina es una enzima producida por las plantas y microorganismos, que actúa como una coenzima en muchos procesos fisiológicos en animales, plantas y microorganismos. Esta vitamina se encuentra involucrada en la antioxidación y peroxidación, en procesos que afectan la producción de intermediarios reactivos

de oxígeno en un estallido oxidativo y consecuente formación de respuesta hipersensitiva (HR). Las Aplicaciones foliares de riboflavina controlaron efectivamente varias enfermedades en tabaco y redujeron el mildew polvoso de plantas de fresa en combinación con metionina, iones de metal y surfactante; de esta forma puede funcionar como inductor de resistencia o mediador de transducción de señales de resistencia (Dong y Beer, 2000). La Riboflavina induce la expresión de genes PR en las plantas, lo que sugiere su habilidad para disparar una señal de transducción que conduce a resistencia sistémica, que requiere mecanismos de señalización de la proteína quinasa y un gen funcional NIM1/NPR1, pero sin acumulación de ácido salicílico, lo que constituye una vía novedosa dentro de los mecanismos de resistencia inducida en las plantas (Dong y Beer, 2000).

PERSPECTIVAS DE LA RESISTENCIA INDUCIDA EN EL CONTROL DE ENFERMEDADES

El gran número de resultados encontrados, en particular con el inductor BTH, muestran que esta molécula reduce efectiva y consistentemente enfermedades causadas por un amplio espectro de patógenos entre un diverso rango de cultivos y taxas de plantas. Sin embargo, la eficacia de la RI por BTH depende de un número de variables, como la dosis y frecuencia de aplicación, el genotipo del hospedero y el estado de crecimiento de la planta. La información existente sustenta la heredabilidad en la inducción de las respuestas de defensa así como el costo fisiológico en el que se incurre para mantener estas defensas, lo cual abre la posibilidad para el mejoramiento de plantas con respuestas de resistencia inducibles mejoradas o en la minimización de los costos en eficacia biológica (*fitness*) de la planta (Agrawal *et al.*, 1999, citados por Vallad y Goodman, 2004).

La resistencia inducida no es un método de control para emplear sólo en el control de enfermedades, pero sí se constituye en otra herramienta que necesita ser integrada a los sistemas de su manejo. La efectividad de esta tecnología también dependerá del pronóstico de las enfermedades y de la habilidad para activar las defensas de la planta en períodos de desarrollo críticos, cuando la planta es más susceptible, ya que la RI parece ser inefectiva una vez el patógeno se ha establecido (Vallad y Goodman, 2004).

Ortega *et al.* (1998) plantean que los inductores de resistencia no son necesariamente un reemplazo de los fungicidas o bactericidas tradicionales. Su utilización alternada o en conjunto con estos pesticidas puede llegar a reducir el número de aplicaciones o quizás la dosis de aplicación. Igualmente, este tipo de productos puede ayudar a extender la durabilidad de la resistencia en cultivares con genes de resistencia a razas de los patógenos (Romero *et al.*, 1998). Además, la activación de diferentes mecanismos de defensa disminuye el riesgo de desarrollar resistencia a este tipo de productos (Tally *et al.*, 1999, citados por Romero *et al.* 2001).

Muy seguramente se desarrollarán nuevos y más efectivos inductores de resistencia en el futuro, quizás en parte como resultado de nuestro conocimiento creciente de los mecanismos principales de las vías para la expresión de las respuestas de defensa en la planta. En el futuro podrá ser posible aplicar cocteles o mezclas de inductores, que induzcan un balance de defensas reguladas por diferentes moléculas contra enfermedades específicas o complejos de éstas. No obstante, este futuro requerirá un cambio en la agricultura convencional, cuando se pase pasando de la total dependencia del uso de plaguicidas para solucionar los problemas que las enfermedades causan hacia un esfuerzo concertado por integrar diferentes medidas de control que ofrezcan una mejor protección de las cosechas agrícolas.

Bibliografía

- Bécot, S., Pajot, E., Le Corre, D., Monot, C y Silué, D. Phytogard (K2HPO₃) Induces localized Resistance in Cauliflower to Downy Mildew of Crucifers. *Crop Protection* 19, 417-425, 2000.
- Benhamou, N. Inductor- Induced Plant Defense Pathways. En: *Trends. Plant. Sci.* 1, 233-240, 1996.
- Benhamou, N y Bélanger, RR. Benzothiadiazole-Mediated Induced Resistance to *Fusarium Oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in Tomato. *Plant Physiology* 118, 233-240, 1998.
- Benhamou, N y Bélanger, R. Induction of Systemic Acquired Resistance to *Pythium Damping-off* in Cucumber Plants by Benzothiadiazole: Ultrastructure and Cytochemistry of the Host Response. *The Plant Journal* 14, 1998b, 13-21..
- Borges, AA., Borges-Pérez, A. y Fernández-Falcón, M. Induced Resistance to Fusarial Wilt of Banana by Menadiolone Sodium Bisulphate Treatments. *Crop Protection* 23, 1245-1247, 2004.
- Chen, Z., Silva, H y Klessig, D. Active Oxygen Species in the Induction of Plant Systemic Acquired Resistance by Salicylic Acid. *Science* 262, 1883-1886, 1993.
- Cohen, YR. β -Aminobutyric Acid-Induced Resistance Against Plant Pathogens. *Plant Disease* 86 (5): 448-457, 2002.
- Csinos, A.S., Pappu, H.R., McPherson, R.M., y Stephenson, M.G. Management of Tomato spotted wilt virus in flue-cured tobacco with Acibenzolar-S-methyl and Imidacloprid. *Plant Dis.* 85, 292 – 296, 2001.
- Delaney, T.P. Genetic dissection of Acquired Resistance to Disease. *Plant Physiology* 113, 5-12, 1999.
- Dong, H. y Beer, S.V. Riboflavin Induces Disease Resistance in Plants by Activating a Novel Signal Transduction Pathway. *Phytopathology* 90, 8D1-811, 2000.
- Du, H y Klessig, D.F. Identification of a Soluble High-affinity Salicylic Acid-binding Protein in Tobacco. *Plant Physiology*. 113, 1319-1327, 1997.
- Friedrich, L., Lawton, K., Ruess, W., Masner, P., Specker, N., Gut-Rella, M., Meier, B., Dincher, S., Staub, T., Uknes, S., Métraux, JP, Kessman, H., Ryals, J. A Benzothiadiazole Derivate Induces Systemic Acquired Resistance in Tobacco. *Plant Journal* 10: 61-70, 1996.
- Geetha, H.M., y Shetty, H.S. Induction of Resistance in Pearl Millet against Downy Mildew Disease Caused by *Scleronospora Graminicola* Using Benzothiazole, Calcium chloride and Hydrogen Peroxide – a Comparative Evaluation. En: *Crop Protection* 21, 601-610, 2002.
- Godard, J-F, Ziadi, S., Monot, C., Le Corre, D y Silué, D. Benzothiadiazole (BTH) Induces Resistance in Cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to Downy Mildew of Crucifers caused by *Peronospora parasitica*. En: *Crop Protection* 18, 1999, 397-405.
- Görlach, J., Volrath, S., Knaufbeiter, G., Hengy, G., Bekhove, U., Kogel, K-H., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H., Ryals, J. Benzothiadiazole, a novel Class of Inducers of Systemic Acquired Resistance, Activates Gene Expression and Disease Resistance in Wheat. *Plant Cell* 8: 629-643, 1996.
- Kessmann, H., Staub, T., Hofman, C., Maetzke, T., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., Ryals, J. Induction of Systemic Acquired Disease Resistance in Plants by Chemicals. *Annual Review of Phytopathology* 32, 1994, 439-459, 1994.
- Kiba, A., Toyoda, K., Ichinose, Y., Yamada, T., Shiraishi, T. 1996. Specific Response of Partially Purified cell-wall-bound ATPase to Fungal Suppressor. *Plant Cell Physiology* 37, 207-214, 1996.
- Lopez, AMQ y Lucas, J.A. Effects of Plant Defense Activators on Anthracnose Disease of Cashew. *European Journal of Plant Pathology* 108, 2002, 409-420, 2002.
- Madrigal, A., Ruess, W., Staehle-Csech, U., 1998. CGA 245704, A New Plant Activator to Improve Natural Resistance of Banana Against Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*). p.266-274. In *Memorias XIII Reunión Acorbat Quito, Ecuador, 266-277, 1998.*
- Mauch-Mani, B., Métraux, J-P. Salicylic Acid and Systemic Acquired Resistance to Pathogen Attack. *Annals of Botany* 82: 535-540, 1998.
- Morris, S.W., Vernooij, B., Titatarn, S., Starrett, M., Thomas, S., Wiltse, C.C., Frederiksen, R.A., Bhandhufalck, A., Hulbert, S y Uknes, S. Induced Resistance Responses in Maize. *Mol. Plant-Microb. Interact.* 7: 643-658, 1998.
- Patiño, L. F. Efecto de una Fuente de Energía, tres Inductores de Resistencia y un Sustrato Foliar sobre Sigatoka Negra en Banano. *Memorias XV Reunión Internacional ACCORBAT, Cartagena de Indias, Colombia, 2002, 135-142, Oct 27 - Nov 02 de 2002.*
- Perez, L., Rodríguez, M.E; Rodríguez, F., y Roson C. Efficacy of Acibenzolar-S-Methyl, an inducer of Systemic Acquired Resistance Against Tobacco Blue Mould Caused by *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina*. *Crop Protection* 22, 405-413, 2003.
- Reuveni, R., Dor, G., Raviv, M., Reuveni, M., y Tuzun, S. Systemic Resistance Against *Sphaerotheca Fuliginea* in Cucumber Plants Exposed to Phosphate in Hydroponics System, and its Control by Foliar Spray of Mono-potassium Phosphate. *Crop Protection* 19, 355-361, 2000.
- Rizzo, A.N.N., Ferreira, M., and Braz, L.T. Ação de Acibenzolar-s-Methyl (BTH) Isolado e em Combinação com Fungicidas no Controle do Cancro da Haste em Melão Rendilhado. *Horticultura Brasileira* 21(2): 1-7, 2003.
- Romero, A., Kousik, CS. y Ritchie, D.F. Resistance to Bacterial Spot in Bell Peper Induced by Acibenzolar-S-Methyl. *Plant Dis.* 85, 189-194, 2001.
- Ryals, J., Uknes, S., Ward, E. Systemic Acquired Resistance. *Plant Physiology*. 104, 1109-1112, 1994.

- Ryals, J., Weymann, K., Lawton, K., Friedrich, L., Ellis, D., Steiner H-Y., Johnson J., Delaney T.P., Jesse T., Vos T., Ukness, S., The Arabidopsis NIM1 Protein Shows Homology to the Mammalian Transcription Factor Inhibitor IκB. *The Plant Cell* 9, 425-439, 1997.
- Sathiyabama M., Balasubramanian, R. Chitosan Induces Résistance Components in *Arachis Hypogaea* Against Leaf Rust Caused by *Puccinia arachidis* Speg. *Crop Protection* 17 (4), 307-313, 1998.
- Sharathchandra, R.G., Niranjana Raj, S., Shetty, N.P., Amruthesh K.N., y Shekar Shetty H. A Chitosan Formulation Elexa TM Induces Downy Mildew Disease Resistance and Growth Promotion in Pearl Millet. *Crop Protection* 2, 881-888, 2004.
- Sticher L., Mauch-Mani B., Métraux, J.P. Systemic Acquired Resistance. *Annual Review of Plant Pathology* 35, 235-270, 1997.
- Ukness, S., Mauch-Mani, B., Moyer, M., Potter, S., Williams, S. Acquired Resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* 4, 1992, 645-656.
- Vallad, G.E. y Goodman, R.M. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. *Crop. Sci.* 44, 1920-1934, 2004.
- Van Loon, L.C., Baker, P.A.H.M.; Pieterse, C.M.J. Systemic Resistance Induced by Rhizosphere Bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 36, 1998, 453-483, 1998.
- Vernooij, B., Friedrich, L., Morse, A., Reist, R; Kolditz, J.R., Ward, E., Uknes, S., Kessmann, H., Ryals, J. Salicylic Acid is not the Translocated Signal Responsible for Inducing Systemic Acquired Resistance but is Required in Signal Transduction. *Plant Cell* 6, 959-965, 1994.
- Waktors, D., Walsh, D., Newton, A., Lyon, G. Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathology* 95 (12), 959-965, 2005.
- Wendehenne, D., Durner, J., Chen, Z., Klessig, D.F. Benzothiadiazole, an Inducer of Plant Defenses, Inhibits Catalase and Ascorbate Peroxidase. *Phytochemistry* 47(4), 651-657, 1997
- Yan, Z., Reddy, M.S., Yyu, C.M. McNroy., J.A., Wilson M. y Kloepper, J.W. Induced Systemic Protection Against Tomato Late Blight by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Phytopathology* 92, 1329-1333, 2002.