

Interacciones hospedante - patógeno: logros y perspectivas en Cuba

Host- pathogen interactions: achievements and prospects in Cuba



<https://cu-id.com/2248/v46e19>

Belkis Peteira Delgado-Oramas^{1*}, Ondina León Díaz²

¹Departamento de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

²Ministerio de Educación Superior, Cuba.

RESUMEN: La producción de alimentos, a nivel mundial, se encuentra entre las prioridades de gobiernos e instituciones. La estrategia global para mejorar los rendimientos agrícolas con menor impacto ambiental, reducción de la aplicación de agroquímicos y preservación de la biodiversidad está dirigida hacia una agricultura sostenible. El uso de cultivares resistentes es una táctica ampliamente utilizada en el manejo integrado de plagas, por lo que los programas de mejoramiento genético constituyen una prioridad para alcanzar este objetivo. En el logro de esta meta reviste singular importancia el conocimiento de los patógenos y de las bases fisiológicas, moleculares y genéticas que rigen sus interacciones con las plantas, lo cual puede contribuir a la obtención de una resistencia durable. En este escenario complejo, en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), en la década de los 80 se creó el Grupo de Fisiopatología. Este Grupo tuvo como misión, el estudio de las interacciones hospedante - patógeno. Por más de 25 años, este grupo de investigaciones estudió las interacciones de *Saccharum* híbrido spp., *Solanum lycopersicum* L. y *Oryza sativa* L. con diferentes patógenos, cuyos resultados se informan en este trabajo. A este grupo se incorporaron diferentes instituciones colaboradoras de todo el país, que pertenecen tanto al Ministerio de Educación Superior (MES) (Universidad Agraria de la Habana, UNAH; Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, INCA; Universidad de la Habana, UH; Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, UCLV y Universidad de Matanzas, UM), como al Ministerio de la Agricultura (MINAG) (Instituto Nacional de Investigaciones de la caña de Azúcar, INICA; Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt”, INIFAT; Instituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimitrova”, IIHLD e Instituto de Investigaciones del Tabaco, IIT) y el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, CIGB. Con el avance de las tecnologías y la aparición de nuevos enfoques de trabajo, la misión inicial se fue ampliando, abarcando nuevas temáticas entre las que se encuentran las interacciones con organismos benéficos como las micorrizas, agentes de control biológico y la inducción de resistencia con productos sintéticos y otros naturales. El objetivo de este trabajo fue presentar la contribución al desarrollo de la Sanidad Vegetal en el país y los resultados principales que tributan a la temática de interacciones hospedante patógeno realizada por los centros pertenecientes al MES.

Palabras clave: mecanismos de defensa, caña de azúcar, tomate, arroz, tabaco.

ABSTRACT: Food production worldwide is among the priorities of governments and institutions. The overall strategy for improving crop yields with less environmental impact, reduction of chemical application and preservation of biodiversity is geared towards sustainable agriculture. Resistant varieties are a tactic widely used in integrated pest management; thus breeding programs are a priority for achieving this goal. Understanding of the pathogens and the physiological bases, and the molecular and genetic interactions governing the plants may contribute to achieve durable resistance. In this complex scenario, at the National Center of Animal and Plant Health (CENSA), in the 80's, the Physiopathology Group was created. This Group had as a mission the interaction plant - pathogen studies. For more than 25 years, this group have been studying the interactions *Saccharum* hybrid spp., *Solanum lycopersicum* L., *Oryza sativa* L.; with different pathogens. Such results are reported in this paper. To this group, other collaborating institutions were adding. Some of them belong to the High Education Ministry (MES) (Agrarian University of Havana, UNAH; National Institute of Agrarian Sciences, INCA; Havana University, UH; Central University “Marta Abreu” of Las Villas, UCLV; Matanzas University, UM), and others belong to the Agricultural Ministry (MINAG) (National Institute for Sugar Cane Research, INICA; Institute for Tropical Agriculture Research “Alejandro de Humboldt”, INIFAT; Institute for Horticultural Research “Liliana Dimitrova”, IIHLD; Institute for Tobacco Research, IIT) and the Genetic Engineering and Biotechnology Center, CIGB). With the new technologies and approaches, the initial mission was extending, including new areas. Among them, the interactions with beneficial microorganisms such as mycorrhizas, biological control agents (BCA) and induce resistance with synthetics and other natural products. The aim of this work is to present the contribution from the centers belonging to the MES to the plant health and main results on plant - pathogen interactions subject.

Key words: defense mechanisms, sugarcane, tomato, rice, tobacco.

*Correspondencia a: Belkis Peteira Delgado-Oramas. E-mail: bpeteira@censa.edu.cu.

Recibido: 14/04/2020

Aceptado: 02/11/2020

INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos, a nivel mundial, se encuentra entre las prioridades de gobiernos e instituciones. La estrategia global para mejorar los rendimientos agrícolas e industriales con un menor impacto ambiental, por reducción de la aplicación de agroquímicos y preservación de la biodiversidad, está dirigida hacia una agricultura sostenible, en respuesta a la grave y compleja situación social que incluye además los efectos adversos del cambio climático (1). Se calcula que, en la actualidad, no menos de diez por ciento de la producción potencial de alimentos se pierde a causa de enfermedades que afectan las plantas (2).

El uso de cultivares resistentes es una táctica ampliamente utilizada en el manejo integrado de plagas (MIP). Los programas de mejoramiento genético constituyen una prioridad para alcanzar una agricultura sostenible, a través de la generación de germoplasma, adaptado a condiciones de baja utilización de insumos externos y tomando en cuenta aspectos sociales y ambientales. En el logro de este empeño, reviste singular importancia el conocimiento de los patógenos y de las bases fisiológicas, moleculares y genéticas que rigen sus interacciones con las plantas, lo cual puede contribuir a la obtención de una resistencia durable y a la disminución del uso de plaguicidas.

Las plantas, normalmente se enfrentan a los patógenos y logran sobrevivir a través de diferentes niveles de defensa, que van desde la existencia de barreras preformadas, hasta la activación de diferentes respuestas en la resistencia no hospedante, la raza específica y no específica y la defensa basal (3). Adicionalmente, la activación de respuestas locales puede inducir inmunidad sistémica que sensibiliza al tejido contra ataques posteriores.

Los patógenos, a su vez, poseen un amplio arsenal de mecanismos que les posibilita evadir y/o suprimir las respuestas defensivas de la planta. El surgimiento de razas más virulentas e incluso la aparición de nuevos patógenos, crea desafíos que implican el perfeccionamiento de las respuestas de defensa de las plantas. Debido a ello, el éxito del patógeno para causar enfermedad, lejos de constituir la regla es una excepción (4).

Los mecanismos de defensa activados en las plantas incluyen la producción rápida de especies reactivas del oxígeno (ROS), alteraciones en la constitución de la pared celular, la acumulación de metabolitos secundarios como fitoalexinas, la activación y síntesis de péptidos y proteínas de defensa, entre otros (5). El estudio de genes y transcriptos vinculados con la respuesta defensiva y su expresión en el tiempo puede contribuir a la comprensión de la resistencia de la planta y es el punto de partida para su aplicación práctica en el control de enfermedades (6).

El objetivo de este trabajo fue presentar la contribución al desarrollo de la Sanidad Vegetal y los

resultados principales que tributan a la temática de interacciones hospedante patógeno realizada por los centros pertenecientes al MES.

PARTE ESPECIAL

En este complejo escenario, en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), en la década de los 80, se creó el Grupo de Fisiopatología. Este Grupo tuvo como misión el estudio de las interacciones hospedante - patógeno y estuvo dirigido en sus inicios por la Dra. Elena Fornet. Posteriormente, pasó a dirigir y elaborar las proyecciones del grupo la Dra. C Ondina León, quien en la actualidad, desde el Ministerio de Educación Superior (MES), se mantiene vinculada a su actividad.

Por más de 25 años, en este grupo de investigaciones relacionadas con el estudio de interacciones tuvo como temáticas de trabajo las interacciones *Saccharum* híbrido spp., *Solanum lycopersicum* L. y *Oryza sativa* L., con diferentes patógenos y cuyos resultados se informan, de forma resumida, en este trabajo.

Al Grupo de Fisiopatología se incorporaron, en diferentes momentos, diversas instituciones colaboradoras de todo el país pertenecientes tanto al Ministerio de Educación Superior (MES) (Universidad Agraria de la Habana, UNAH; Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, INCA; Universidad de la Habana, UH; Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, UCLV; Universidad de Matanzas, UM) como al Ministerio de la Agricultura (MINAG) (Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar, INICA; Instituto de Investigaciones en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT; Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", IIHLD e Instituto de Investigaciones del Tabaco, IIT) y el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, CIGB. Con el avance de las tecnologías y la aparición de nuevos enfoques de trabajo, la misión inicial se amplió y abarcó nuevas temáticas, como las interacciones con organismos benéficos (micorrizas, agentes de control biológico) y la inducción de resistencia con productos sintéticos y otros naturales.

Interacción *Saccharum* híbrido spp. - *Puccinia melanocephala* H & P Sydow

La interacción roya-caña de azúcar es un modelo de alta complejidad científico-técnica por las características genéticas del hospedante y la morfofisiología del hongo (biótrofo). En investigaciones precedentes en Cuba, sobre el ciclo infeccioso de *P. melanocephala*, se establecieron cuatro etapas del proceso con diferentes reacciones a nivel morfohistopatológico, que diferencian el cultivar resistente del susceptible a partir de la tercera etapa (7).

En Cuba, después de la sustitución del cultivar 'B4362' en 1980 por 'Ja60-5', comenzaron a aparecer brotes intensos de *P. melanocephala* en algunas regiones

de La Habana y también en otras provincias, por lo que se concluyó que existían dos patotipos circulando en el país (8). Entre 1989 y 1990 se definió, a partir del estudio de 85 aislamientos de diferentes localidades de Cuba, la presencia de una población muy heterogénea de *P. melanocephala* que mostraba, indistintamente, más agresividad hacia 'B4362' y 'Ja60-5', respectivamente (9). Posteriormente, se analizó la variabilidad patogénica de 23 aislamientos en 15 cultivares y se definió la presencia de 20 patotipos; se comprobó así la interacción diferencial significativa entre aislamientos y cultivares (8).

Estos resultados proporcionaron las bases de un conjunto de investigaciones realizadas en el CENSA entre los años 1992- 2002, encaminadas al estudio del patrón de expresión en el tiempo, de proteínas y enzimas defensivas, en cultivares resistentes y susceptibles en respuesta a la infección.

Entre los resultados derivados de este estudio, se destacó el primer informe de la inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-proteínas, PRs) en caña de azúcar. Se determinaron las dinámicas de acumulación en el tiempo de estas PRs, de conjunto con otras proteínas y enzimas que participan en los procesos defensivos en cultivares resistentes y susceptibles, posterior a la inoculación con el patógeno. Todas estas proteínas se indujeron siempre mucho más temprano y/o en mayores niveles en el cultivar resistente, durante las primeras etapas de la infección. Se destacan entre ellas, las peroxidasas, β -1,3- glucanasas y quitinasas, enzimas que desempeñan una función importante en interacciones incompatibles (10, 11). (Fig. 1)

Resultaron de particular interés, las actividades de glucanasas y quitinasas. En el caso de las especies de *Puccinia*, se describe la presencia de glucanos

y quitinas en la superficie de diferentes estructuras del hongo, composición que cambia, progresivamente, durante el desarrollo de las estructuras de infección. Los tubos germinativos de las uredosporas presentan quitina, el apresorio quitina y glucano y las vesículas e hifas infectivas, principalmente, solo glucanos (12). Por tanto, ambas enzimas encontradas en la planta pueden desempeñar una función protectora directa, al hidrolizar estructuras de este hongo, e indirecta, al activar mecanismos de defensa de las plantas y liberar elicitores no específicos que estimulan la acumulación de otros compuestos defensivos.

Por primera vez, se construyó una biblioteca ADNc sustractiva de caña de azúcar en el cultivar resistente 'CP 52-43' inoculada con *P. melanocephala* a las 72 horas, con más de 7×10^6 clones con talla promedio de 800 pb en el vector pGem-T (13). Los clones de la biblioteca se amplificaron mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y se identificaron 10 a partir de la hibridación con una sonda β -1,3-glucanasa, aislada de *Hordeum vulgare* L. Uno de los clones positivos, con una longitud de 510 pb, fue secuenciado y presentó mayor homología con β -1,3-glucanasa de otras poáceas (*Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* L., *Zea mays* L. y *Oryza sativa* L.). Este transcripto mostró una inducción transiente más rápida y en mayor magnitud en el cultivar resistente, lo que evidenció la relación con mecanismos defensivos (14).

Los resultados expuestos constituyeron los primeros estudios a nivel internacional de la identificación y caracterización de la expresión de proteínas, enzimas y de un gen β -1,3-glucanasa relacionados con la defensa en cultivares resistentes y susceptibles a la infección con *P. melanocephala* en esta interacción de alta complejidad.

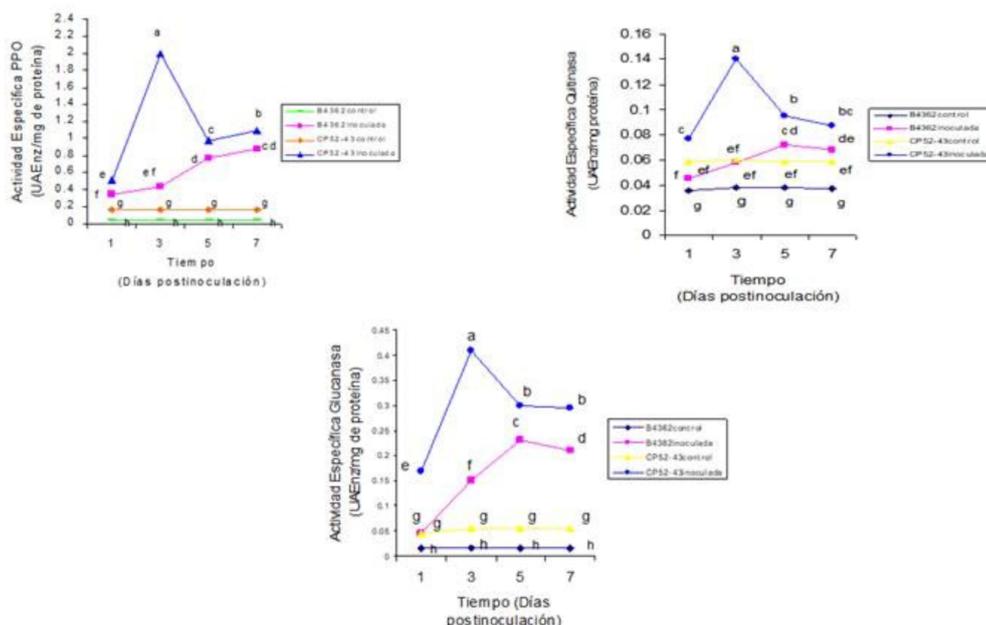


Figura 1. Actividades enzimáticas en plantas de los cultivares 'CP5243' (R) y 'B4362' (S) controles e inoculadas con *P. melanocephala* (11). / Enzymatic activities in cultivars 'CP5243' (R) and 'B4362' (S) controls and inoculated with *P. melanocephala* plants (11). (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

Interacción *Solanum lycopersicum* L. - *Alternaria solani* Sor

El tomate *S. lycopersicum* (*syn Lycopersicon esculentum* Mill), es una de las hortalizas de mayor consumo a nivel mundial. El cultivo de tomate es afectado por diferentes enfermedades y entre ellas el tizón temprano, causado por el hongo *A. solani* (necrótrofo). Esta enfermedad se consideró, en los años 90, la de mayor importancia con perjuicios económicos significativos, especialmente en países como Estados Unidos, Australia, Israel, Reino Unido e India, con reducciones de rendimiento que oscilaron entre el 35 y 78 % (15). En Cuba, la enfermedad aparece en todas las provincias con un elevado endemismo (16).

Por tal motivo en el CENSA, entre los años 1994-2004, se realizaron estudios que contribuyeron al esclarecimiento de la expresión de diferentes proteínas y enzimas relacionadas con la defensa en etapas tempranas de la interacción, a partir del conocimiento de la variabilidad del patógeno y la elección para el establecimiento del patosistema de aislamientos caracterizados y de cultivares con diferentes grados de resistencia. Entre los aportes fundamentales, derivados del estudio de esta interacción, se destaca la detección del incremento, posterior a la inoculación del patógeno, de un grupo importante de enzimas relacionadas con actividad antioxidante, señalización y defensa de la planta. Entre estas enzimas se encontraron las lipoxigenasas (LOX), catalasas, superóxido dismutasas, peroxidasas, glutación reductasas, polifenoxidasas, fenil alanina amonio liasas, quitinasas y β -1,3-glucanasas, y su expresión diferencial entre los cultivares resistentes y susceptibles (17, 18, 19).

Los patrones electroforéticos, en la determinación de isoenzimas, mostraron cambios en la intensidad de las bandas de los sistemas estudiados durante el proceso infeccioso del hongo en relación con los controles, y solo para peroxidasas y quitinasas, de acuerdo al grado de resistencia del cultivar. Se confirmó que en la interacción *A. solani* - tomate se inducen varias proteínas relacionadas con la patogénesis tales como peroxidasas, quitinasas y glucanasas las que, de acuerdo a su comportamiento diferencial en el genotipo resistente, pudieran desempeñar una función activa en la defensa de la planta (17, 18, 19).

Particularmente, las quitinasas con pesos moleculares aproximados de 31,5; 33 y 35,5 kDa se indujeron al tercer día postinoculación en el cultivar resistente, con un comportamiento en correspondencia con resultados previos (18). Se describió, por primera vez, en esta interacción la relación de la enzima LOX con las vías de señalización y con mecanismos antioxidantes y defensivos. En este patosistema es evidente que esta enzima resulta importante en la señalización ante el ataque de este patógeno y que, además, influye en la generación de moléculas señales adicionales como

peróxidos, lípidos y ácido jasmónico quienes a su vez inducen otras respuestas de defensa más tardías (20).

El carácter específico de la resistencia frente a *A. solani* se evidenció con la inoculación de tres aislamientos del hongo que manifestaron diferencias en su poder infectivo, sobre los cultivares estudiados. Los cultivares 'Cimarrón mejorado', 'INIFAT 28', 'Criollo Quivicán' y 'Nagcarlan', obtenidas en programas del país, presentaron el mejor comportamiento frente a los aislamientos estudiados y la enzima LOX permitió una mejor diferenciación de las mismas (21).

Se propuso, por primera vez en esta interacción, un modelo que sincroniza el comportamiento de las variables bioquímicas estudiadas con el proceso patogénico una vez establecido el patosistema, el cual podrá ser validado a partir de estudios de genómica funcional.

El grupo de trabajo de la UCLV también abordó la temática de la resistencia a este patógeno en tomate, a partir de la inducción de resistencia con la aplicación de extractos naturales procedentes de plantas, como una alternativa efectiva, menos costosa y de menor impacto ambiental, para el manejo de esta enfermedad. Las plantas presentan un elevado contenido de metabolitos con actividad antimicrobiana, tornándose en fuentes potenciales de compuestos que podrían ser empleados para su protección, tanto por su actividad antimicrobiana como por la inducción de resistencia (22).

Las especies del género *Citrus* L. constituyen una abundante fuente de metabolitos secundarios, entre los cuales se destacan los compuestos fenólicos, con una amplia gama de actividades biológicas, como es la actividad antifúngica (23). Estos metabolitos, generalmente, se extrajeron a partir de los frutos; sin embargo, las hojas también pudieran ser fuente importante (24).

Por estos antecedentes este grupo de trabajo se centró en investigar si los extractos de hojas de *Citrus* spp., con actividad antifúngica frente a *A. solani*, pudieran constituir una alternativa para el manejo del tizón temprano en plantas de tomate.

Algunos de sus resultados más importantes fueron la obtención de extractos etanólicos, metanólicos y acuosos de *Citrus* spp., mediante extracción asistida por ultrasonido, estandarizando previamente el proceso y además, el tamizaje fitoquímico de los extractos obtenidos. En todos los extractos de hojas de *Citrus* spp. se identificó la presencia de aminor, aminoácidos, fenoles, taninos y flavonoides. Con excepción de los extractos metanólicos de *Citrus × aurantium* L. y *Citrus reticulata* Blanco, en el resto de los extractos se observó la presencia de saponinas. Sólo en el extracto etanólico y en el metanólico de *Citrus reticulata* se observó la presencia de esteroides y triterpenos. Las lactonas y cumarinas se observaron solamente en los extractos etanólicos, excepto en el de *Citrus × latifolia* (Yu. Tanaka) Tanaka (25).

En los extractos acuosos se identificaron la menor variedad de compuestos químicos. En todos los extractos obtenidos se evidenció la presencia de compuestos fenólicos. En los extractos se detectó la presencia de otros grupos de compuestos químicos con actividad antifúngica demostrada. Entre estos compuestos se encuentran las saponinas, los cuales pudieran también contribuir a la actividad biológica en estos extractos. En el extracto metanólico de *C. × aurantium* se obtuvo la mayor concentración de fenoles totales; mientras que, las mayores concentraciones de flavonoides y flavonoles totales se obtuvieron en el extracto etanólico de *Citrus × aurantiifolia* (Christm.) Swingle.

La selección de los extractos se realizó en función de la concentración de los fenoles totales. La determinación de la actividad antifúngica frente a *A. solani* se desarrolló de acuerdo a una concentración inhibitoria mínima de fenoles totales de 20 mg equivalentes a ácido gálico.ml⁻¹. Todos los extractos alcohólicos mostraron capacidad para inhibir el crecimiento micelial y la germinación de los conidios de *A. solani*. El extracto etanólico de *Citrus × latifolia* fue el más efectivo, con 100 % y 74 % de inhibición del crecimiento micelial y de la germinación de los conidios, respectivamente, en el cual se identificaron ocho compuestos fenólicos en la fracción con actividad antifúngica (25)

Además, este extracto disminuyó en un 69,52 % la afectación del tizón temprano en plantas de tomate en condiciones semicontroladas, con modo de acción preventivo y curativo. Se pudo constatar que este extracto tiene mecanismo de acción multisitio en *A. solani*, con efectos sobre la integridad de la membrana citoplasmática, respiración celular e inducción de estrés oxidativo (25). También, se demostró que este extracto no es tóxico para el ecosistema, sin efecto negativo sobre la microbiota del suelo.

Estos resultados demostraron que el extracto etanólico de hojas de *C. × latifolia* constituye una alternativa de control a valorar en el MIP del tizón temprano en plantas tomate.

Interacción *Saccharum* híbrido spp. - *Sporisorium scitamineum* (Syd) M. Piepenbr, M. Stoll & Oberw (*Ustilago scitaminea* Sydow)

El carbón de la caña de azúcar es una enfermedad con amplia distribución geográfica en más de 64 países, en la mayoría de los cuales los daños producidos se consideran significativos. Las pérdidas ocurren, fundamentalmente, en los retoños y se incrementan en función del número de cosechas de las plantaciones (26). La aparición de esta enfermedad en Cuba ocurrió en octubre de 1978. Se diseminó con gran rapidez y con síntomas muy severos sobre variedades susceptibles, ocasionando pérdidas entre un 10 y 30 % de la

producción agrícola (27). Sin embargo, en la actualidad se redujeron las áreas afectadas con el manejo de los cultivos a través del Programa de Fitomejoramiento.

En el CENSA, en el período del 2002 al 2008 se realizaron estudios, en colaboración con el Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), relacionados con aspectos relevantes de la expresión diferencial en tiempo y espacio de proteínas de defensa en cultivos resistentes y susceptibles a *S. scitamineum* y se realizó, por primera vez, la caracterización de los perfiles diferenciales de genes y oligosacáridos inducidos por el patógeno en caña de azúcar (27, 28, 29, 30, 31, 32).

Los aportes más significativos en el estudio de este patosistema en las etapas iniciales de la infección, evidenciaron un comportamiento diferencial del cultivar resistente en la expresión espacio temporal de un grupo de enzimas y proteínas relacionadas con la patogénesis, en concordancia con la dinámica de penetración del hongo. Se corroboró que las actividades enzimáticas peroxidasa, quitinasa y glucanasa se inducen, diferencialmente, en el cultivar resistente. Los perfiles izoenzimáticos de estas y de la superóxido dismutasa mostraron una mayor y más temprana acumulación de las isoformas en la respuesta incompatible (28, 29, 30).

El análisis AFLP-ADNc a las 72h post-inoculación permitió identificar 43 fragmentos derivados de transcritos diferencialmente expresados en el cultivar resistente a las 24 ó 72 horas posterior a la inoculación. De estos, 15 se indujeron en ambos genotipos, aunque en diferentes tiempos y/o cambios en la intensidad de la señal y seis se reprimen en el cultivar susceptible; mientras que, se activan o expresan constitutivamente en la resistente (28, 31).

Los perfiles cromatográficos y la concentración de oligosacáridos en las primeras 72 horas posteriores a la inoculación, mostraron también diferencias entre cultivos resistentes y susceptibles, por lo que podrían desempeñar una función importante en la inducción de defensa de la planta. Esta investigación aportó aspectos relevantes de la fisiopatología de la interacción y permitió, a partir de la integración de los resultados, proponer un modelo de los cambios fisiológicos que ocurren en las etapas tempranas de la infección. A la llegada del patógeno, ocurre el reconocimiento y posteriormente deben liberarse oligosacáridos en la planta que pudieran actuar como inductores de respuestas. Las señales iniciales de alarma provocarían en el hospedante, cambios en el flujo de iones y la activación de varias quinasas que participan en la amplificación de la señal al núcleo (32).

Por otra parte, se detectaron en el cultivar resistente inoculado, incrementos de las PRs 1, 2, 3 y 5 con reconocidos efectos antimicrobianos, y activadores de las respuestas defensivas, por la liberación de fragmentos derivados de paredes celulares. Se estableció un procedimiento donde se observó

la presencia de complejos proteína-anticuerpo por inmunofluorescencia indirecta e inmunomicroscopía electrónica en células meristemáticas de caña de azúcar, que evidencian la localización de las PRs a nivel del citoplasma celular, las PRs 2 se visualizaron confinadas dentro de vacuolas y las PRs 3 distribuidas en el protoplasma (29).

El estudio genómico que se realizó reveló, por primera vez, la relación de las principales rutas de señalización durante las primeras 72 horas. Los análisis posteriores de segregación de los genes expresados diferencialmente en las progenies de cruces R x S pudieran proporcionar una mayor información de las bases genéticas de la resistencia de la caña de azúcar al carbón.

De igual forma, la elucidación de las funciones específicas de proteínas y genes relacionadas con la defensa en esta interacción contribuirá a los análisis de genómica funcional que se realizan a nivel mundial en caña de azúcar.

Interacción *Oryza sativa* L. - *Steneotarsonemus spinki* Smiley

El arroz (*O. sativa*) es el cultivo cerealero más importante del mundo y el alimento básico de más de la mitad de la población mundial. En Cuba, el arroz es el cereal de mayor consumo con 52 kg per cápita por año. Sin embargo, la producción nacional actual no cubre la demanda interna, ya que se ve afectada por diversos factores bióticos y abióticos, entre los cuales se encuentra la salinidad, lo que hace que se dediquen grandes esfuerzos dirigidos a incrementar la producción arrocería nacional. Además, en los últimos años del siglo pasado, apareció en el país el ácaro *S. spinki* como una de las plagas importantes en el cultivo, por los daños que provoca en los rendimientos (33).

El conocimiento del grado de diversidad entre los progenitores a utilizar en los cruces genéticos para la obtención de híbridos, es la consideración principal a tener en cuenta en un programa de mejoramiento. El uso de cultivares de alto rendimiento desplazó a los tradicionales localmente adaptados, lo que condujo a una alta homogeneidad genética del cultivo. En Cuba, se trabaja intensamente en la obtención de variedades capaces de tolerar diferentes tipos de estrés y que tengan un buen rendimiento. Una estrategia importante es el uso de la variación somaclonal, la cual ha sido ampliamente utilizada en el cultivo del arroz. La inducción de mutaciones también dio resultados positivos. Los marcadores moleculares constituyen una herramienta eficaz en la caracterización de los nuevos individuos obtenidos y aceleran el proceso de selección.

A partir de esta problemática, nuestro equipo de investigación desarrolló estudios entre los años 2001 - 2004, en coordinación con el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), sobre un grupo de parentales, somaclones y mutantes de arroz desde el

punto de vista de su variabilidad genética, así como de los posibles mecanismos de defensa relacionados con la resistencia al ácaro *S. spinki*.

De manera general, a través del análisis de las actividades enzimáticas de forma constitutiva se obtuvieron diferencias entre el donante 'Amistad 82' y los somaclones y mutantes estudiados (34). De igual manera, se pudieron diferenciar los somaclones y mutantes de su donante original, a través de las isoformas de diferentes sistemas enzimáticos. Mediante las isoenzimas de esterasas (EST), polifenol oxidasas (PPO), peroxidasas (PRX) y super óxido dismutasas (SOD) se pudo detectar polimorfismo dado por la aparición de nuevas bandas en los somaclones y mutantes, que no estaban presentes en el donante original 'Amistad 82' (34, 35, 36).

En nuestros estudios, el equipo del CENSA encontró polimorfismo en la SOD y PPO en los genotipos, así como las diferencias altamente notables encontradas en la intensidad de las bandas de PRX en los mutantes, con respecto al donante original, las que pudieran provocar un mecanismo de protección celular frente a la oxidación por los iones superóxido, que pueden ser inducidos por diversas circunstancias como la senescencia, acumulación de oxígeno, procesos patogénicos y situaciones ambientales. Por tanto, las actividades SOD, PO y PPO podrían ser responsables de un mejor comportamiento de las plantas mutadas frente a un tipo de estrés determinado. También quedó esclarecido que se obtuvo una mayor variabilidad genética en los mutantes que en los somaclones (34, 35, 36).

A partir de la caracterización de la variabilidad por ADN polimórfico amplificado al azar (RAPDs) se verificó la formación de cuatro grupos diferentes (37). El somaclón LP-7 aparece completamente alejado del resto de los materiales en el primer grupo. Este comportamiento es lógico, ya que este material se distingue incluso por sus características morfológicas y por una notable resistencia al ácaro blanco, respecto al resto de los materiales estudiados y al donante original. En el segundo se situaron todos los mutantes analizados, el somaclón LP9 y los cultivares 'Perla de Cuba' y 'Vietnamita'. En el tercero se ubicó solamente el cultivar 'Reforma'. En el cuarto el cultivar 'Amistad 82' (donante) y el somaclón LP8 (8476), que en este caso fue el único material que no pudo ser diferenciado del donante. Este resultado coincide también con un análisis realizado tomando como marcador para las comparaciones a diferentes isoenzimas, ya que en este estudio tampoco fue posible diferenciar al somaclón antes mencionado (36).

Se demostró que los cultivares 'LC 88-66' y 'Reforma' presentaron un comportamiento resistente a las principales plagas que afectan el cultivo del arroz en Cuba, además de que poseen un excelente vigor vegetativo. Los cultivares 'J 104', 'IACuba 25' y 'Perla de Cuba' fueron informados como susceptibles a

enfermedades como *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawk y el ácaro *S. pinki*. Se evidenció la superioridad de los cultivares 'Reforma' y 'LC 88-66' en cuanto a resistencia al ácaro y a los niveles de actividad enzimática detectados. Estos resultados sugieren la posibilidad que pueden ofrecer los sistemas enzimáticos en la discriminación de cultivares de arroz con respecto a la tolerancia a *S. pinki*, además de la estimación de la variabilidad genética presente en el material utilizado (38, 39).

Se detectó, además, una amplia variación en el nivel de compuestos fenólicos totales en las distintas variedades evaluadas (40). También se encontraron diferencias significativas entre las plantas sanas e inoculadas con el ácaro, con mayores niveles para las últimas. Los menores niveles de compuestos fenólicos encontrados en los cultivares con mayor susceptibilidad al ácaro sugieren que los cultivares resistentes presentan, de forma constitutiva, concentraciones efectivas en los compuestos fenólicos y actúan como barreras constitutivas de protección, ya que hacen a las plantas menos atractivas para la alimentación del ácaro (41). Por lo que se concluyó, que los compuestos fenólicos parecen estar relacionados con la defensa del arroz al ácaro *S. pinki*, y se recomendó seguir profundizando en estos estudios, para aislar e identificar cuáles son los compuestos fenólicos realmente involucrados en este efecto.

En los estudios de dinámica de la expresión de enzimas relacionadas con la patogénesis (PRX, PAL, PPO), se detectaron diferencias significativas en las actividades específicas de las enzimas estudiadas siendo, al inicio, mayores los valores en el cultivar resistente sano que en el control susceptible. Una vez infestadas las plantas, se observaron mayores valores de actividad enzimática en el cultivar resistente infestado que en el susceptible, hasta los seis días posinfestación, aunque este comportamiento cambió, bruscamente, a partir del octavo día de infestación. El incremento significativo en las actividades de estas enzimas en el cultivar susceptible estuvo relacionado con un incremento en la cantidad de ácaros en este cultivar (39, 40).

Por primera vez para el país se realizaron estudios encaminados a la inducción de resistencia, utilizando BION® y FitomaS-E® (42). Los incrementos registrados en los niveles de PRX para el control inoculado, fueron menores que los detectados para los inductores. Los mayores niveles se encontraron en presencia de la mezcla de BION® y Fitomas-E®. Esta misma tendencia se observó para las enzimas PPO, PAL y Quitinasas. En todos los casos, BION® fue mejor inductor que Fitomas-E® y la mezcla de ambos produjo el mejor resultado, con la excepción de un efecto mayor del BION® que el de la mezcla de inductores para el caso de la enzima PAL, a partir de la inoculación con el ácaro. (Fig. 2)

Los resultados obtenidos para las enzimas relacionadas con los mecanismos de defensa estudiados, coinciden con los bajos niveles de poblaciones del ácaro alcanzados en cualquiera de las variantes en las que se emplearon inductores, tanto solos como mezclados, encontrándose para todos los casos valores estadísticamente similares y todos ellos diferentes del valor alcanzado por el control inoculado solamente con el ácaro y sin tratamiento de inductor (Figura 3) (42).

El efecto beneficioso de algunos inductores de los mecanismos de defensa es un tema tratado en la literatura (43). El BION® se evaluó en otros cultivos y en Cuba se usó en estudios similares en el cultivo del tomate, para la inducción de resistencia frente a *A. solani*. El Fitomas-E® por su parte, fue probado en cultivos como la caña de azúcar (*Saccharum* spp.), pepino (*Cucumis sativus* L.), fruta bomba (*Carica papaya* L.), pero con vistas a mejorar la respuesta a estreses abióticos o para incrementar la floración. Este es el primer informe sobre su efecto en la inducción de resistencia frente a un ácaro y en el cultivo del arroz.

Se concluyó, que Fitomas-E® y BION® disminuyeron, de manera efectiva, la población de *S. pinki* en condiciones semi-controladas y que actuaron como activadores de la respuesta de defensa del arroz, incrementando los niveles de actividades de PRX, PPO, PAL y quitinasas en las plantas tratadas en comparación con las plantas sin tratar (42), siendo recomendable ampliar esta experiencia a pequeñas parcelas experimentales para la comprobación y posterior introducción de estos resultados.

Interacción soya - Chinchas pentatómidas

Los colectivos del CENSA y de la Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos", estudiaron los sistemas enzimáticos de peroxidasa, quitinasas y fenilalanina amonio liasas en granos de soya sanos e inoculados con chinchas pentatómidas de los cultivares 'Cubasoy-23', 'Incasoy-24' e 'Incasoy-27', obtenidas en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Para la inoculación se utilizó un complejo de chinchas pentatómidas de las especies *Piezodorus guildini* Westwood, *Nezara viridula* L., *Euschistus bifidulus* Pal. De Beauv. y *Acrosternum* sp., (Heteroptera: Pentatomidae), informadas como las especies de mayor infestación y concurrencia sobre estos cultivares. En todos los casos analizados para las actividades enzimáticas se detectaron los mayores valores en los granos inoculados con respecto a los sanos. Los patrones isoenzimáticos, para cada enzima, fueron monomórficos, observándose solo un aumento en la intensidad de las bandas en los granos enfermos (44).

Este trabajo constituyó un estudio preliminar sobre las bases bioquímicas de la defensa de la soya a diversas especies de chinchas. Teniendo en cuenta que este cultivo está en expansión en la actualidad en Cuba, resultaría conveniente que equipos del MES,

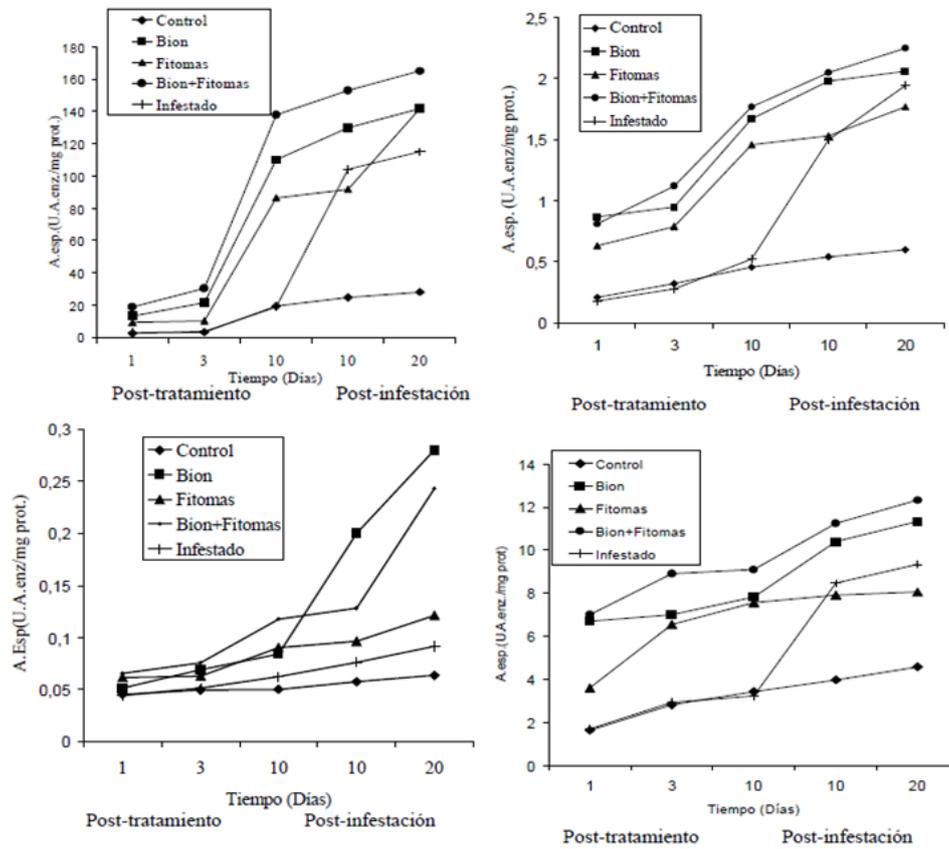


Figura 2. Efecto del Fitomas-E® y el BION® en los niveles de actividad específicas de: A: Peroxidases; B: Polifenol oxidases; C: Fenil alanina amonio liasas y D: Quitinasas en plantas del cv. 'Perla de Cuba' (42). / *Effect of Fitomas-E®s and BION® on specific activities of: A: peroxidases; B: Polyphenol oxidases; C: Phenyl alanine ammonio liasas and D: Chitinases in cv. 'Perla de Cuba' plants (42).* (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

profundicen en estos estudios, analizando un mayor número de respuestas de defensa como los inhibidores de proteasas y concentración de fenólicos en las plantas, entre otros, para lograr un mejor entendimiento de los mecanismos de defensa en esta interacción y poder trazar estrategias para el mejoramiento de este cultivo.

Interacción *Solanum lycopersicum* - TYLCV

Otra de las enfermedades que atacan al tomate es el virus del encrespamiento amarillo (TYLCV). Este geminivirus es transmitido por la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) (45) y se presenta, comúnmente, en el cultivo a nivel tropical y subtropical del planeta, abarcando países de los cinco continentes (46). Sus pérdidas son valoradas hasta en un 100 % del rendimiento total, con un completo abandono del cultivo por los productores (47).

En Cuba, se detectó por primera vez la presencia de este virus en plantaciones de tomate a partir de 1987 y en la década del 90 su presencia se hizo notar en todas las regiones muestreadas de la isla (48). Durante este período se realizaron diversos estudios dirigidos al diagnóstico, la caracterización

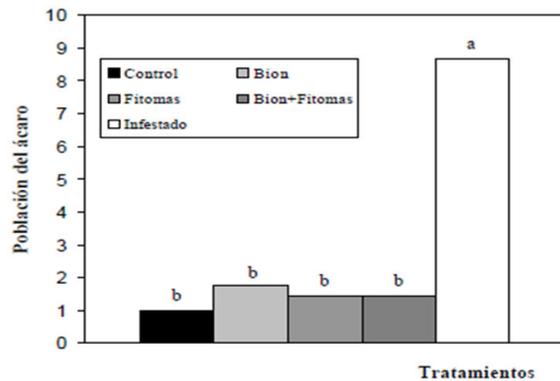


Figura 3. Efecto del Fitomas-E® y el BION® en los niveles de las poblaciones del ácaro *S. spinki* (42). / *Effect of Fitomas-E® and el BION® on the mite S. spinki populations levels (42).* (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

molecular de la entidad y se comenzó un trabajo de mejoramiento genético por diferentes centros (INCA e IIHLD). Entre los resultados se destacó el cultivar cubano 'Vyta', resistente al complejo mosca blanca-geminivirus, obtenida por la selección continua y rigurosa, desarrollada en poblaciones segregantes de

especies cultivadas y silvestres de *Solanum chilense* (Dunal) Reiche (accesión LA 1969) x *S. esculentum* (desarrollada por la Dra. Olimpia Gómez y su equipo de trabajo). A pesar de los avances palpables en los programas de mejora para la enfermedad, a nivel internacional se continúa con la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia genética que superen las encontradas, orientada hacia las especies silvestres del género (49).

En la actualidad, se describieron mecanismos anatómicos - fisiológicos y genéticos involucrados en la resistencia y/o tolerancia al virus. Los primeros se relacionan con respuestas evasivas de la planta al vector, a través de secreciones glandulares que presentan algunas accesiones silvestres relacionadas con la presencia de tricomas del tipo VI y VII. Los genéticos fueron los más empleados, los cuales están determinados por genes como *Ty-1*, *Ty-2* o poligenes y más recientemente el gen *Ty-3*, detectado en una accesión de la especie silvestre *S. chilense*, todos involucrados en la resistencia y/o tolerancia a geminivirus.

A partir de estos antecedentes se comenzó el trabajo de caracterización agromorfológica de materiales vegetales resistentes a diferentes linajes del TYLCV y su comportamiento frente al aislado viral circulante en Cuba (50). Los materiales estudiados fueron: 'Vyta', PIMHIR, Mex - 121 A, TY - 197, H 24, TY - 1 y CLN2116B

En este estudio se detectó la variabilidad fenotípica, desde el punto de vista morfoagronómico, en los materiales estudiados. El cultivar 'Campbell 28' se mantuvo como susceptible. Las accesiones y el cultivar 'Vyta' fueron asintomáticas ante el virus, aunque si se detectó la presencia del virus a través de la hibridación de ácidos nucleicos no radioactiva en algunas de las plantas evaluadas, con la excepción de los cultivares H24 y CLN 2116B (portadores del gen *Ty-2*) (50).

Estos materiales fueron analizados para la detección de los genes de resistencia con cebadores específicos para la amplificación de los genes *Ty-2* y *Ty-3*. El análisis de la amplificación del gen *Ty-2* mostró que los genotipos 'Vyta', PIMHIR, Mex-121 A, TY 197,

TY1 y 'Campbell 28' mostraron la banda de menor peso molecular que se corresponde con el fenotipo *ty-2/ty-2* (susceptible); mientras que, los materiales H 24 y CLN 2116B mostraron el fenotipo *Ty-2/Ty-2* (asociado con la resistencia). El gen *Ty-3* mostró un patrón fenotípico idéntico para todos los genotipos evaluados, pues la banda que se observó en el gel se corresponde con la del genotipo recesivo para el gen (*ty-3/ty-3*) (51).

Posteriormente, también se analizaron las actividades enzimáticas, isoformas y contenido fenólico desde el punto de vista constitutivo en los genotipos antes analizados (52). Los resultados mostraron que, de nuevo a través de estos análisis, se corroboró la susceptibilidad del genotipo 'Campbell 28', con valores bajos de las enzimas analizadas. El cultivar cubano 'Vyta' mostró valores especialmente elevados de las actividades enzimáticas de peroxidasa y polifenol oxidasa (similares en algunos casos a los genotipos resistentes incluidos en el estudio). De igual forma, sus patrones isoenzimáticos mostraron bandas fuertes e incluso nuevas bandas no encontradas en el resto de los genotipos estudiados (Fig. 4) (52).

Aun cuando para todos los genotipos se detectaron las mismas manchas de compuestos fenólicos con idénticos Rf (por lo que se considera que la composición cualitativa fue similar en todos los casos), el genotipo 'Vyta' mostró los mayores niveles de estos compuestos (Fig. 5) (52).

Las enzimas PO y PPO están relacionadas con los mecanismos de defensa de las plantas, participando específicamente en la síntesis y deposición de compuestos fenólicos como la lignina. Estas deposiciones pudieran actuar como barreras físicas frente al vector, además del efecto tóxico de los compuestos que la acción de estas enzimas liberan.

Tanto a través de los estudios moleculares como de los mecanismos bioquímicos de defensa, se puede concluir que en los genotipos analizados hay cierto grado de resistencia, ya sea al vector o a la transmisión del virus o la combinación de ambos factores. Esta información resulta importante para la selección de parentales para los programas de mejoramiento, a los cuales además brinda herramientas útiles a fin de acortar

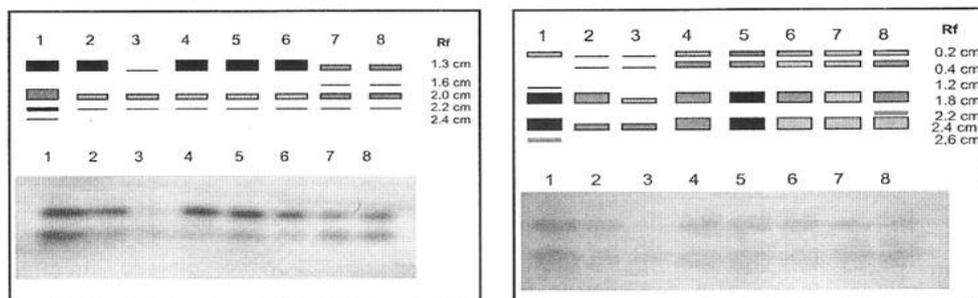


Figura 4. Gel de electroforesis y zimograma para las enzimas: A: Peroxidasa (PO) y B: Polifenol oxidasa (PPO). Línea 1: 'Vyta'; Línea 2: PIMHIR; Línea 3: Mex -121A; Línea 4: Ty 197; Línea 5: H 24; Línea 6: Ty - 1; Línea 7: CLN 2116B; Línea 8: 'Campbell 28' (52). / *Electrophoresis Gel and zymogram for the enzymes: A: Peroxidases (PO) y B: Polyphenol oxidases (PPO). Line 1: 'Vyta'; Line 2: PIMHIR; Line 3: Mex -121A; Line 4: Ty 197; Line 5: H 24; Line 6: Ty - 1; Line 7: CLN 2116B; Line 8: 'Campbell 28' (52) (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).*

de forma general los períodos de obtención de nuevos genotipos y contribuyen a hacer más dirigido el proceso de pirimidización de genes.

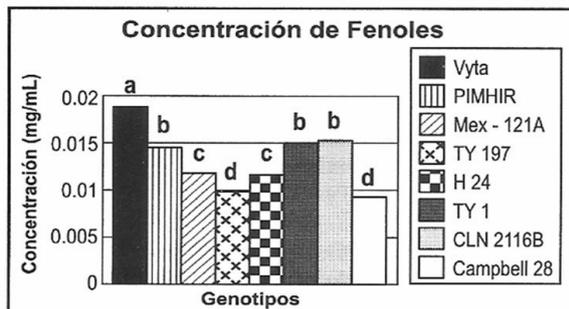


Figura 5. Contenido total de fenoles en diferentes genotipos (52). / Phenols total amount in different genotypes (52). (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

Interacción *Musa acuminata* - *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Los bananos y plátanos (*Musa* spp.) constituyen el alimento fundamental para alrededor de 400 millones de personas en el mundo. Se cultivan en más de 100 países en regiones tropicales y subtropicales en casi 10 millones de hectáreas, con una producción anual estimada superior a los 140 millones de toneladas (53). La enfermedad foliar del rayado negro de la hoja, también conocida como Sigatoka negra, causada por el ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (anamorfo: *Pseudocercospora fijiensis* (Deighton)), se considera la más destructiva y costosa de los cultivos de bananos y plátanos a nivel mundial. La infección por este hongo puede reducir en más de un 50 % las plantaciones y se controla, principalmente, por el uso de fungicidas (54).

Su aparición en Cuba, descrita por Vidal (55), tuvo un gran impacto económico debido al incremento de los costos de producción de estos cultivos, fundamentalmente por el uso de fungicidas para su control (56).

Tomando en consideración la importancia de la enfermedad del rayado negro de la hoja, las características del proceso infeccioso y la necesidad de caracterizar, a nivel molecular, nuevas fuentes de resistencia para su inclusión en los programas de mejoramiento del cultivo, un grupo de investigación del MES, formado por investigadores de la UCLV y el IBP, se propuso identificar los genes que se expresan en 'Calcutta 4' en respuesta a la infección con *M. fijiensis*, para contribuir al entendimiento de las bases bioquímicas y moleculares de la resistencia de *Musa acuminata* L.A. Colla a *M. fijiensis*, lo cual permitiría trazar estrategias de manejo de la enfermedad del rayado negro de la hoja.

Uno de los experimentos iniciales se basó en la construcción de una biblioteca de ácido desoxiribonucleico complementario (ADNc) del tipo

sustractiva en *Musa acuminata* subsp. *burmannicoides* E.A. 'Calcutta 4' (*Musa* AA) frente a *M. fijiensis* (57). Como resultado del ensamblaje con la herramienta bioinformática CAP3, de 97 secuencias de la biblioteca sustractiva se obtuvieron 63 secuencias blanco expresadas, que incluían 42 secuencias aisladas y 21 ensamblajes. La identificación de las mismas, según su homología con secuencias anotadas en la base de datos para proteínas no redundante (GenBank), permitió agruparlas en: destino de proteínas (1,6 %), estrés oxidativo (4,8 %), metabolismo (6,3 %), producción de energía (6,3 %), función desconocida (38,1 %) y sin homología (42,8 %). Los resultados obtenidos contribuirán a un mejor entendimiento del patosistema, lo cual permitirá el diseño de nuevas estrategias relacionadas con el mejoramiento genético en banano (58).

Se realizó un estudio de expresión en la interacción incompatible 'Calcutta 4'-*M. fijiensis* y la compatible 'Grande naine' - *M. fijiensis* a diferentes puntos de la infección, el cual incluyó varias ESTs seleccionadas de la biblioteca y otras derivadas de la ruta de biosíntesis de compuestos fenilpropanoides. Los perfiles cuantitativos de expresión obtenidos evidenciaron que, en la respuesta incompatible, ocurre una rápida respuesta ante la infección, caracterizada por la activación del metabolismo celular, de la ruta para la producción de compuestos fenólicos, así como de ROS (59).

La ruta de los fenilpropanoides es una de las mejores estudiadas, más manipulada y frecuentemente inducida por patógenos o elicitores de patógenos. Los perfiles de expresión de chalcona sintasa (CHS), similar a flavonoide 3'5' hidroxilasa (F3'5'H-like) y similar a la isoflavona reductasa (IFR-like), fueron analizados, en experimentos posteriores, en plantas de 'Calcutta 4' (resistente) y 'Grande naine' (susceptible) a los 0, 6 y 12 días posteriores a la inoculación artificial con *M. fijiensis* y después del tratamiento con etefón 500 M. La técnica de reverso transcripción-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) con cebadores específicos, fue utilizada para este propósito. En presencia del hongo, los genes *F3'5'H-like* y *IFR-like* tuvieron expresión constitutiva; mientras que, el gen de la chalcona sintasa fue inducido (de una forma más significativa en 'Calcutta 4'), en el rango de tiempo probado para ambos genotipos. El productor de etileno etefón indujo el gen *IFR-like* en el genotipo resistente y el gen *F3'5'H-like* en el susceptible. Estos resultados permitirán continuar profundizando en el estudio del papel de los fenilpropanoides en la interacción *Musa* - *M. fijiensis* (60).

Al parecer, una explosión oxidativa en un estadio temprano de la infección podría estar asegurando los niveles de ROS necesarios para desencadenar una respuesta defensiva efectiva en bananos, lo cual coincidió con la máxima acumulación del anión superóxido y la máxima actividad peroxidasa. Mientras que, en la interacción compatible la inhibición de

la mayoría de los genes en estudio y la activación más tardía de algunas ESTs, sugiere la manipulación del metabolismo del hospedero por el patógeno en esta etapa temprana de la interacción. Los autores propusieron un esquema general de esta respuesta (59).

El análisis de las secuencias, perfiles y niveles de expresión obtenidos para los genes estudiados, permite lograr un acercamiento a la respuesta defensiva en *M. acuminata* en una etapa temprana de la infección con *M. fijiensis*.

Las investigaciones sobre la interacción, desde el punto de vista bioquímico e histológico, representan un soporte para la comprensión de los mecanismos que tienen lugar durante este proceso infeccioso. En este sentido, la determinación enzimática de peroxidasa (POX), fenilalanina amonio-liasa (PAL), β -1, 3-glucanasa y quitinasa, en hojas de 'Calcutta 4' y 'Grande naine', en un estadio temprano de la infección con *M. fijiensis*, revelaron una rápida acumulación de estos compuestos en las plantas resistentes con respecto a las susceptibles (61, 62). Por otra parte, varios análisis histoquímicos realizados en estas mismas interacciones, en diferentes estadios de síntomas de la enfermedad, evidenciaron la presencia de lignina, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y de fenoles, como parte de la respuesta defensiva de las plantas ante la infección fúngica (63). En un estudio similar llevado a cabo por Sánchez-García *et al.* (64) en lesiones del cultivar 'Cavendish naine', estos autores también observaron el depósito de fenoles asociado con la defensa ante la enfermedad.

Interacción *Citrus aurantifolia* (Christm) cultivar "Swingle" - '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (Las)

Investigadores de las Facultades de Química y Biología (Universidad de La Habana), de conjunto con el Centro de Ingeniería Générica y Biotecnología (CIGB), investigaron el efecto de los brasinoesteroides sobre la enfermedad Huanglongbing (HLB) en cítricos. El HLB o dragón amarillo es una de las enfermedades más antiguas del género *Citrus*, y se conoce desde hace aproximadamente una centuria (65). Sin embargo, fue ignorada durante muchos años hasta su reciente introducción en América y actualmente representa un desafío, sin precedentes, en las áreas de producción de cítricos recién infectadas, llegando a debilitar la capacidad productiva de las plantaciones con pérdidas calculadas entre 30 y 100 % (66). Desde 2007 se encuentra generalizada en Cuba, lo que provoca cuantiosas pérdidas en la industria citrícola nacional.

Actualmente no existe en el mundo un método adecuado para eliminar el HLB, siendo la detección temprana de la enfermedad el primer paso para impedir la introducción y establecimiento de la misma. Las principales estrategias de control del HLB aplicadas hasta el momento, se basan en la erradicación de

los vectores mediante el empleo de insecticidas para reducir la fuente de inóculo, el aislamiento geográfico de las áreas afectadas, y el desarrollo y aplicación de programas de certificación de material de propagación de las plantas. Recientemente se ha intentado inducir en las plantas resistencia sistémica a la bacteria que produce la enfermedad con el uso de compuestos inductores de este tipo de respuesta defensiva contra fitopatógenos (como el ácido salicílico y los fosfatos), para lograr que las plantas lleguen a la etapa reproductiva y disminuir las afectaciones en la producción citrícola. Sin embargo, no se han encontrado diferencias significativas entre los tratamientos y el control, tal vez porque *Ca. L. asiaticus* produce una enzima capaz de degradar el ácido salicílico (65).

Los brasinoesteroides (BRs) son compuestos esteroidales esenciales para el crecimiento, desarrollo y la tolerancia al estrés de las plantas que se emplean en el mundo como parte de formulaciones comerciales para mejorar los rendimientos agrícolas. Con el objetivo de investigar la función de los BRs en la respuesta de defensa de los cítricos frente al HLB, se estudió la potencialidad de este tipo de compuestos y los mecanismos moleculares que se activan por BRs en las plantas de cítrico infectadas con *Ca. L. asiaticus* y que están relacionados con la inducción de la defensa natural de las plantas (67).

En este trabajo se utilizó la aplicación foliar de 24-epibrasinólida (eBL) en plantas de *Citrus aurantifolia* (Christm) cultivar 'Swingle' infectadas con *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Las), como una posible estrategia de control para Huanglongbing (67). Cuando se asperjaron con eBL, las plantas enfermas redujeron la concentración de la bacteria y en las hojas donde se aplicó la hormona, se sobre expresaron genes involucrados en la respuesta de defensa vegetal (67). La aplicación con eBL demostró inducir la expresión diferencial de los genes de *SOD* (superóxido dismutasa) y *GPXI* (glutación peroxidasa), los que se activan como parte de una reacción hipersensible ante el ataque de un patógeno. Los mayores niveles de expresión se alcanzaron una hora después de la aplicación con eBL (67).

La aspersión de eBL indujo también la expresión de los genes que codifican para las enzimas *CHII* (quitinasa) y β -1,3 *GLUC* (β -1,3 glucanasa), que forman parte de la respuesta de defensa de las plantas mediada por el ácido salicílico que se activa como resultado de determinadas condiciones de estrés. Una hora después de la aspersión foliar con eBL las plantas aumentaron también la abundancia de transcritos de *AOS* (aleno óxido sintasa) y *HPL* (hidroperóxido liasa de ácidos grasos), enzimas que activan la respuesta defensiva mediada por JA/ET (67).

Por otra parte, la aspersión de eBL sobre las plantas de lima mexicana (*Citrus aurantifolia* (Christm)) cultivar 'Swingle' indujo la expresión diferencial de seis genes que, en 2008, Albrecht y Bowman describieron estar

relacionados con susceptibilidad al HLB. Las plantas enfermas mostraron una fuerte sobre expresión de estos genes con respecto a las plantas control. Sin embargo, diez días después de la aspersión con eBL, disminuyó la abundancia de transcritos (Fig. 6, 7, 8) (67).

Mediante tecnologías de secuenciación profunda de próxima generación se identificaron nuevos transcritos relacionados con la respuesta defensiva frente a bacterias inducidos por brasinoesteroides (BRs) (67).

Esta investigación (67), demostró que la aplicación de la hormona causó una severa disminución de la concentración de la bacteria “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” en plantas de lima mexicana (*C. aurantifolia* cultivar ‘Swingle’) en condiciones de invernadero. Estos resultados describieron, por primera vez, el uso de este tipo de compuestos para este fin, lo cual podría aportar una herramienta más en el manejo de la enfermedad Huanglongbing de los cítricos.

Interacción Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) - *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood

Los laboratorios de Fisiopatología y Nematología Agrícola del CENSA se unieron con el objetivo de estudiar el comportamiento de cuatro enzimas relacionadas con la defensa en dos cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.): ‘BAT-306’ y ‘Triunfo-70’, parasitados por *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood (68). Se determinaron las actividades de los sistemas enzimáticos Peroxidasa (PO), Fenilalanina amonio liasa (PAL), Quitinasa y Glucanasa, así como las isoenzimas PO.

Las semillas de ambos cultivares se sembraron en una mezcla de suelo y abono orgánico en proporción 3:1 y se inocularon con 2000 juveniles de segundo estadio (J_2) a los siete días de germinadas. Para todos los análisis se tomaron muestras a los 1, 3, 5 y 7 días después de la inoculación y los resultados se compararon.

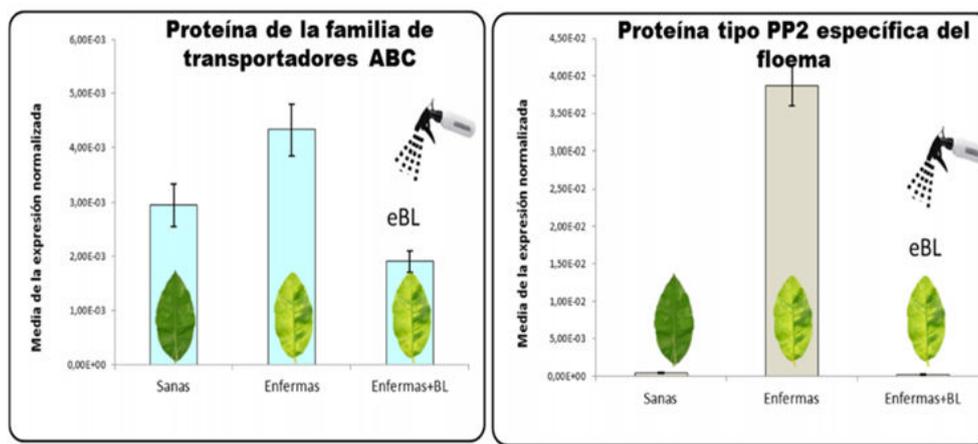


Figura 6. Análisis por qPCR del comportamiento de la expresión diferencial inducida por eBL de genes que codifican para proteínas de transporte de metabolitos y de respuesta innata de cítricos. Los resultados corresponden a diez días después del tratamiento. Proteína de la familia de transportadores ABC (izquierda); Proteína específica del floema tipo PP2 (derecha) (67). La barra representa el error estándar de la media. / Analysis by qPCR of the behavior of eBL-induced differential expression of genes that encode citrus metabolite transport and innate response proteins. The results correspond to ten days after treatment. ABC transporter family protein (left); Phloem-specific protein type PP2 (right) (67). The bar represents the standard error of the mean. (Fig. cortesía de la Dra. Yamilet Coll García).

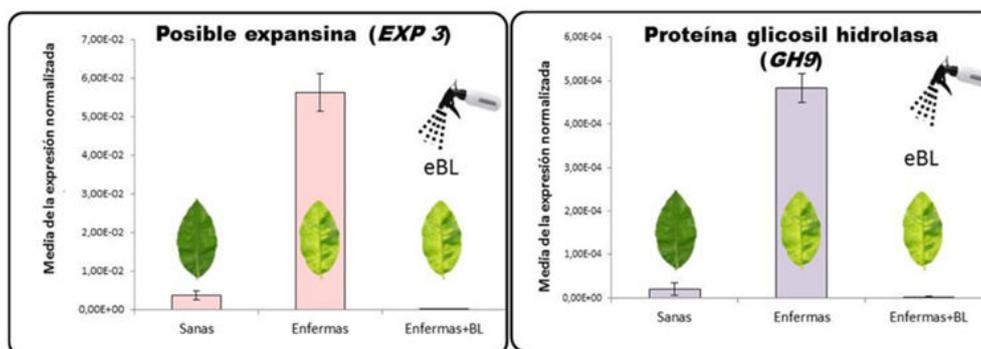


Figura 7. Análisis por qPCR del comportamiento de la expresión diferencial inducida por eBL de genes que codifican para proteínas estructurales. Los resultados corresponden a diez días después del tratamiento. Posible expansina (EXP3) (izquierda); Proteína glicosil celulosa hidrolasa de la familia 9 (GH9) (derecha) (67). La barra representa el error estándar de la media. / Analysis by qPCR of the behavior of eBL-induced differential expression of genes encoding structural proteins. The results correspond to ten days after treatment. Possible expansin (EXP3) (left); Glycosyl cellulase hydrolase family 9 (GH9) protein (right) (67). The bar represents the standard error of the mean. (Fig. cortesía de la Dra. Yamilet Coll García).

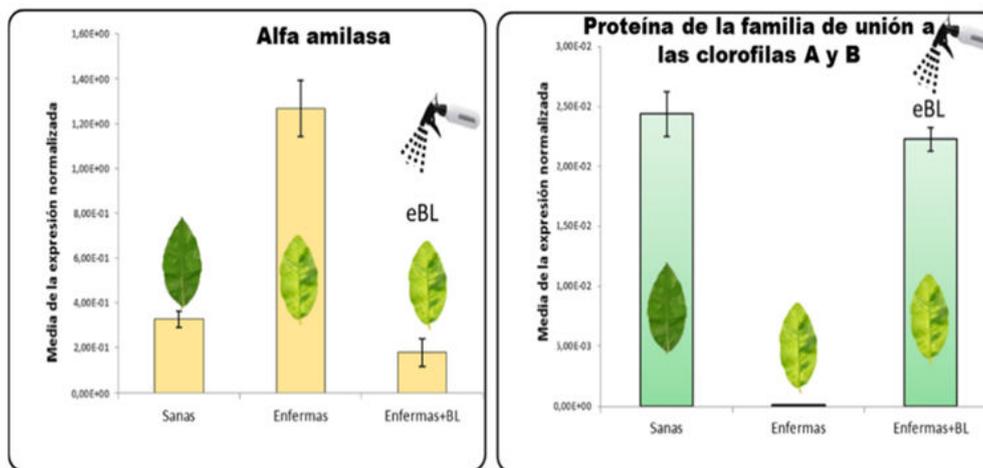


Figura 8. Análisis por qPCR del comportamiento de la expresión diferencial inducida por eBL de genes relacionados con la fotosíntesis y el metabolismo del almidón. Los resultados corresponden a 10 días después del tratamiento. *α-amilasa* (izquierda); Proteína de unión a la clorofila A y B (*CabB*) (derecha). La barra representa el error estándar de la media (67). / *Analysis by qPCR of the behavior of eBL-induced differential expression of genes related to photosynthesis and starch metabolism. The results correspond to 10 days after treatment. α-amylase (left); Chlorophyll A and B binding protein (CabB) (right). The bar represents the standard error of the mean (67).* (Fig. cortesía de la Dra. Yamilet Coll García).

Todos los sistemas estudiados mostraron inducción en ambos cultivares. En ‘Triunfo-70’, cultivar resistente al nematodo, se indujeron aumentos considerables en los niveles de actividad de todos los sistemas enzimáticos y, en algunos, estos incrementos fueron más sostenidos en el tiempo, de mayor magnitud o se produjeron más tempranamente que en el cultivar ‘BAT-306’ (susceptible al nematodo) (68). (Fig. 9, 10)

Estudios realizados sobre la interacción de plantas con organismos benéficos:

El INCA tiene entre sus misiones las investigaciones para el desarrollo de bioestimulantes y biofertilizantes, entre otros. El grupo de Micorrizas se dio a la tarea, desde finales de los años 80, de realizar una serie de estudios relacionados con la función de las micorrizas en su interacción con diferentes cultivos y en la respuesta de las plantas frente al ataque de plagas (69). Tales trabajos comenzaron con la identificación y caracterización de diferentes cepas autóctonas de micorrizas (HMA), con el fin de sentar las bases necesarias para los estudios posteriores de interacciones.

Los estudios de polimorfismo bioquímico de siete especies de hongos micorrizógenos arbusculares inoculados en sorgo (*Sorghum bicolor* L.) (70, 71) fueron unas de las primeras investigaciones. Ese trabajo tenía como objetivo la caracterización bioquímica de algunas de las especies de micorrizas arbusculares del cepario del INCA, y se estudiaron los patrones isoenzimáticos de los sistemas fosfatasa ácida y esterasa, en plantas de sorgo inoculadas. Las electroforesis revelaron la existencia de una sola banda polimórfica en el patrón de fosfatasas ácidas; mientras que, el sistema esterasa mostró una elevada frecuencia de bandas polimórficas. Se resaltó la utilización

potencial de las isoenzimas esterasas, conjuntamente con otros sistemas enzimáticos, para efectuar una caracterización efectiva de las distintas especies de HMA (70, 71).

Posteriormente se comenzaron diferentes investigaciones de la dinámica de la inducción de algunos sistemas de defensa en la interacción HMA - tomate cv. ‘Amalia’, con la inducción de PR2, PR3, y PAL en raíces de tomate (72). De esta forma, se determinaron los niveles de activación de la respuesta de defensa local provocada por hongos formadores de micorrizas arbusculares y el tiempo que estas respuestas se mantienen en plantas del cultivar ‘Amalia’. Se estudiaron en condiciones semicontroladas cuatro HMA: *Glomus clarum* (Nicolson & Schenck), *Glomus fasciculatum* (Walker & Koske), *Glomus claroideum* (Schenck & GS Sm) y *Acaulospora scrobiculata* (Trappe), los cuales provocaron la inducción de las enzimas PR2, PR3 y PAL de forma diferencial en cuanto a magnitud y tiempo.

Al comparar los valores de densidad visual alcanzados en las plantas inoculadas, se observaron los mayores en el tratamiento con *G. fasciculatum*, con un 3,81 % a los 40 días (el valor más alto en el experimento). En todos los casos, se observó la disminución de las estructuras fúngicas hacia el final de estudio, lo cual se relacionó con el inicio de la etapa de floración de la planta, en la cual aparece la necesidad de restringir el flujo de fotosintatos hacia el hongo (72).

Los valores de las quitinasas se mantuvieron en valores superiores al testigo, como tendencia general, durante toda la dinámica y se produjo un incremento significativo hacia el final del experimento. Los valores elevados al inicio de la interacción se han relacionado con el crecimiento de la hifa intrarradical, cuya estructura pasa de terciaria a plana y sencilla en la fase de arbusculo; mientras que, hacia la etapa final

parecen estar relacionados con la senescencia de estos arbusculos, los cuales son fagocitados entre tres y siete días (72). (Fig. 11)

En cuanto a las glucanasas, los altos valores de actividad en las plantas inoculadas con *G. fasciculatum* pudieran justificar que, para esta especie, se obtuvieron los mayores valores de Densidad Visual. El resto de las especies se establecen más lentamente lo cual se pudiera explicar por la elevación más tardía de los valores de

actividad para esta enzima (entre los 3 y 8 días después de la germinación de las plantas)(72). (Fig. 12)

Para la actividad de la fenil alanina amonio liasa, de forma general, los valores para todas las cepas se mantienen por debajo del testigo, aunque se apreciaron incrementos en la etapa cercana a la floración del cultivo (72) por las razones antes expuestas relacionadas con la alta demanda de fotosintatos por la planta en este momento fisiológico. (Fig. 13)

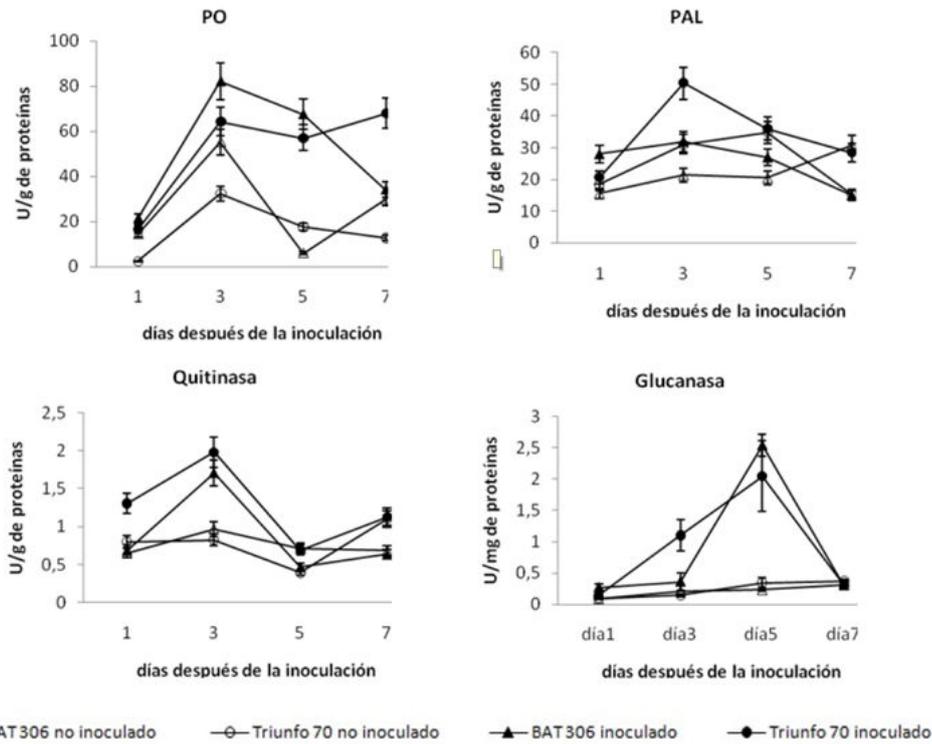


Figura 9. Efecto de *Meloidogyne incognita* en los mecanismos de defensa en los genotipos de frijol estudiados (68). / Effect of *Meloidogyne incognita* on defence mechanisms in the studied bean genotypes (68). (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

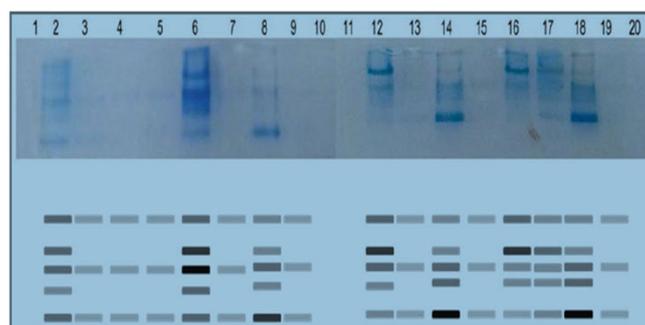


Figura 10. Gel de electroforesis y zimograma para las isoenzimas PO en los genotipos de frijol estudiados. Líneas 1, 10, 11 y 20: Agua; 2: 'BAT-306' inoculada día 1; 3: 'BAT-306' no inoculada día 1; 4: 'Triunfo-70' inoculada día 1; 5: 'Triunfo-70' no inoculada día 1; 6: 'BAT-306' inoculada día 3; 7: 'BAT-306' no inoculada día 3; 8: 'Triunfo-70' inoculada día 3; 9: 'Triunfo-70' no inoculada día 3; 12: 'BAT-306' inoculada día 5; 13: 'BAT-306' no inoculada día 5; 14: 'Triunfo-70' inoculada día 5; 15: 'Triunfo-70' no inoculada día 5; 16: 'BAT-306' inoculada día 7; 17: 'BAT-306' no inoculada día 7; 18: 'Triunfo-70' inoculada día 7; 19: 'Triunfo-70' no inoculada día 7 (68). / Electroforesis gel and zymogram for PO isozymes in vean genotypes studied. Lines 1, 10, 11 y 20: water; 2: 'BAT-306' inoculated day 1; 3: 'BAT-306' non inoculated day 1; 4: 'Triunfo-70' inoculated day 1; 5: 'Triunfo-70' non inoculated day 1; 6: 'BAT-306' inoculated day 3; 7: 'BAT-306' non inoculated day 3; 8: 'Triunfo-70' inoculated day 3; 9: 'Triunfo-70' non inoculated day 3; 12: 'BAT-306' inoculated day 5; 13: 'BAT-306' non inoculated day 5; 14: 'Triunfo-70' inoculated day 5; 15: 'Triunfo-70' non inoculated day 5; 16: 'BAT-306' inoculated day 7; 17: 'BAT-306' non inoculated day 7; 18: 'Triunfo-70' inoculated day 7; 19: 'Triunfo-70' non inoculated day 7 (68). (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

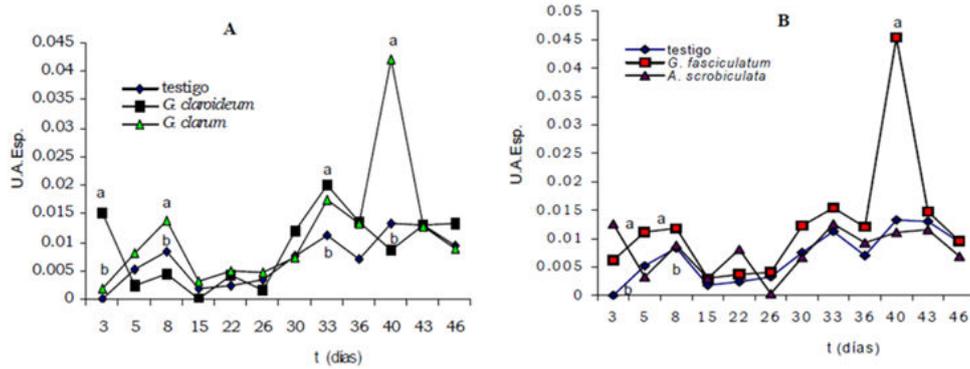


Figura 11. Efecto de la inoculación con HMA sobre la actividad enzimática de quitinasas en tomate (72). / *Effect of MAF inoculation on chitinases enzymatic activity in tomato (72).* (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales).

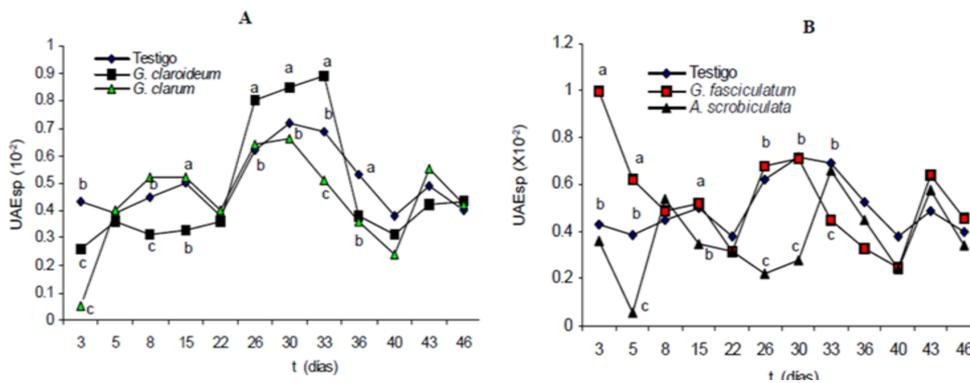


Figura 12. Efecto de la inoculación con HMA sobre la actividad enzimática de β 1, 3 glucanasas en tomate (72). / *Effect of MAF inoculation on β 1, 3 glucanases enzymatic activity in tomato (72).* (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales).

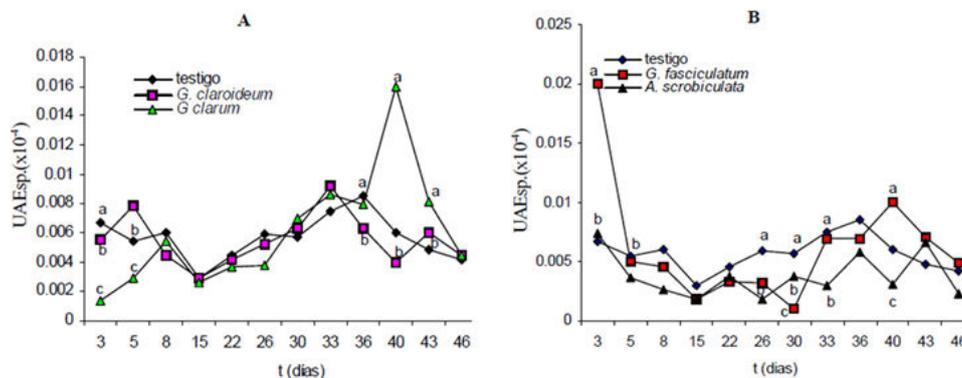


Figura 13. Efecto de la inoculación con HMA sobre la actividad enzimática de fenil alanina amonio liasas en tomate (72). / *Effect of MAF inoculation on phenil alanine ammonium liasas enzymatic activity in tomato (72).* (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales).

Para las peroxididasas se observaron, de forma general, incrementos entre los tres y cinco días para todas las cepas, momento a partir del cual estos valores disminuyeron, hasta producirse otro incremento entre los 30 y 33 días de la dinámica (73, 74, 75). Los bajos niveles de esta enzima, al comienzo del experimento, garantizan el proceso de colonización de las raíces por los HMA. La elevación de los niveles de las PO, al final de la dinámica, coincide de forma similar con la floración del cultivo. Las PPO muestran incrementos algo más atrasados en el tiempo (entre los ocho y 15 días), y vuelven a valores similares al testigo

hasta alrededor de los 30 días, con excepción de *G. fasciculatum*, lo cual pudiera estar relacionado con que esta resultó ser la especie más compatible con el cultivo del tomate (73). (Fig. 14)

Otro aspecto, dentro de esta interacción, es el efecto de la aplicación de sistemina sobre la resistencia en plantas micorrizadas (76). A tales efectos, se desarrolló un estudio para determinar el efecto de la aplicación de sistemina en la acción bioprotectora de los HMA en plantas de tomate infectadas con *A. solani* y *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (77).

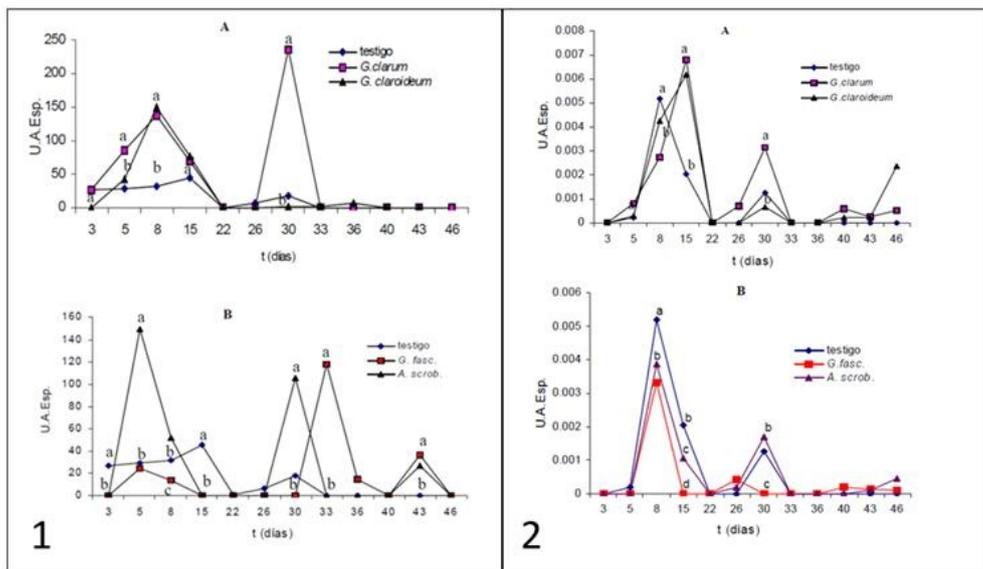


Figura 14. Efecto de la inoculación con HMA sobre la actividad enzimática de Peroxidasas (1) y Polifenol oxidadas (2) en tomate (72). / Effect of MAF inoculation on peroxidases (1) and Polyphenol oxidases (2) enzymatic activity in tomato (72). (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales).

La aplicación de la sistemina, de forma independiente, redujo la severidad de la enfermedad en dos grados, con relación al control, al igual que con el control micorrizado con *G. clarum* (C-Gc). Esta respuesta pudo deberse al carácter necrotrófico de *A. solani*, ya que se conoce que los patógenos con este comportamiento activan respuestas defensivas dependientes de ácido jasmónico (AJ), hormona principal de la cascada de transducción de señales inducida por la sistemina. Se observó un efecto interesante al aplicar, de forma conjunta, la especie *G. clarum* y la sistemina (Gc/S), en la cual se produjo una reducción considerable de la severidad del Tizón temprano si se compara con el control micorrizado con este HMA (C-Gc) (dos grados). Con el uso de la sistemina de forma independiente se logró que esta variedad mostrara una elevada resistencia al Tizón temprano (grado 1); mientras que, en sus combinaciones con los HMA solo se alcanzó una condición de resistencia (grado 2) (77).

Con relación al porcentaje de marchitez producido por *P. nicotianae* se observó una respuesta similar en los tres años evaluados. En ellos no se encontró un efecto positivo de los tratamientos sobre la reducción de la severidad de la enfermedad, a excepción de la combinación de *G. fasciculatum* con la sistemina (Gf/S). En este tratamiento se logró la disminución del daño en 1,6 grados (20 %) (77).

En este experimento se observó un efecto sinérgico entre el elicitor y los HMA, manifestado sobre la severidad de la enfermedad, al producir la reducción de la misma. La interacción con *G. clarum* resultó ser mejor con relación a *A. solani*; mientras que, ante *P. nicotianae* lo fue *G. fasciculatum*. Este HMA tuvo, de forma general, un buen comportamiento sobre la

reducción de las enfermedades causadas por ambos patógenos. Aunque, como se describió anteriormente, el uso de la sistemina de forma independiente produjo una reducción importante (dos grados) de la severidad del Tizón temprano, por otra parte, incrementó la severidad del daño en las plantas inoculadas con *P. nicotianae*. Sin embargo, se encontró que en ninguno de los tres sistemas enzimáticos analizados existió correspondencia entre los incrementos de actividad enzimática y el resultado de la severidad de las enfermedades, por lo que no pueden ser empleados para caracterizar estas interacciones (77).

Otras interacciones interesantes fueron las que relacionaron el efecto de Ecomic® con una población cubana de *Meloidogyne incognita* en tomate (cultivar 'Vyta') (78). El experimento se desarrolló en los aisladores biológicos del CENSA, utilizando un diseño completamente aleatorio. Se usaron dos formas de inoculación del Ecomic®: peletización de la semilla e incorporación al sustrato para semilleros (1,5 g del producto/alveolo en bandeja multiceldas). La densidad poblacional del nematodo fue de 1,5 huevos- J_2 /g suelo⁻¹. Se evaluó el índice de agallamiento (IA), el número de juveniles infestivos (J_2) en suelo y masa del sistema radical. La evaluación de la simbiosis micorrízica comprendió el porcentaje de colonización, densidad visual y peso del endófito.

El análisis de los parámetros de los HMA permitió determinar que el nematodo no produjo efecto negativo sobre el desarrollo de los hongos micorrícicos en las raíces del tomate. Se constató que, en todas las plantas tratadas, independientemente del modo de aplicación del hongo o la presencia del *M. incognita*, se obtuvo un alto número de raíces colonizadas y valores elevados de densidad visual (DV) (Fig. 15, 16). Se demostró que

la aplicación de Ecomic® en la rizosfera del tomate favoreció el desarrollo de la raíz aparejado con un alto número de agallas (IA=4) (Fig. 17, 18). En el tratamiento control, el desarrollo de la raíz fue menor con un IA=5. Se observó una disminución de los J₂ en el suelo de las plantas micorrizadas (Fig. 19). El establecimiento de la simbiosis micorrícica no se afectó por el desarrollo del nematodo (78).

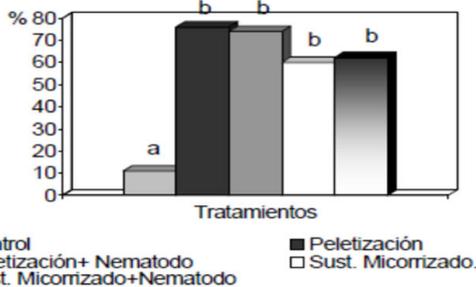


Figura 15. Porcentaje de colonización (%) por micorrizas en las raíces de tomate tratadas con Ecomic®(78). / *Mycorrhiza colonization (%) in tomato roots treated with Ecomic®(78).* (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

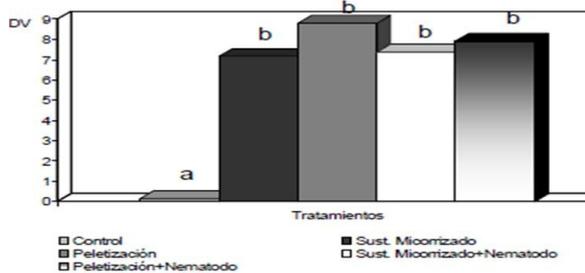


Figura 16. Densidad visual de la colonización por micorrizas en las raíces de tomate tratadas con Ecomic® (78). / *Visual density of colonization in tomato roots treated with Ecomic®(78).* (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

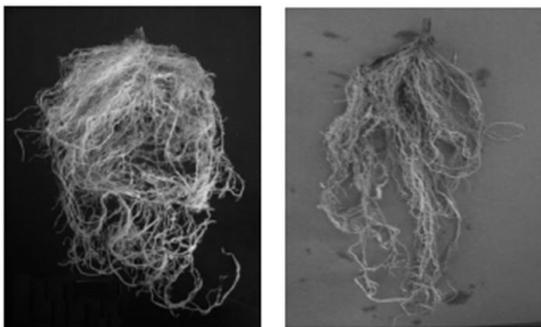


Figura 17. Desarrollo radical del tomate infectado por *M. incognita*. A) Raíz micorrizada, B) Raíz no micorrizadas (78). / *Root development in tomato infected with M. incognita. A) Mycorrhizated root. B) NonMycorrhizated root (78).* (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

Más adelante comenzaron a estudiarse interacciones algo más complejas. Un ejemplo fue el caso de la interacción de *Glomus mosseae* - *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron

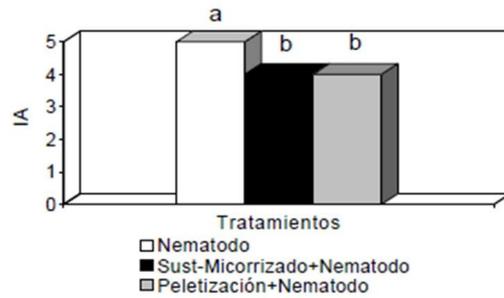


Figura 18. Índice de agallamiento provocado por la infestación de *M. incognita* en raíces de tomate (78). / *Galling index in tomato roots infected by M. incognita (78).* (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

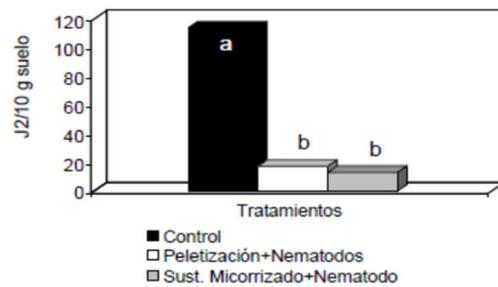
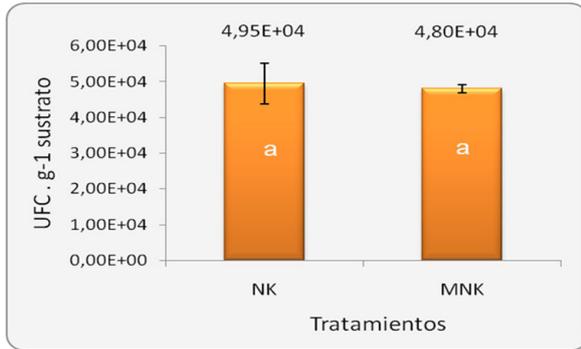


Figura 19. Número de juveniles infectivos de *M. incognita* en suelo (78). / *M. incognita infective juveniles number in soil (78).* (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

y Onions) Zare y W. Gams y *M. incognita* en tomate (*S. lycopersicum*) (79).

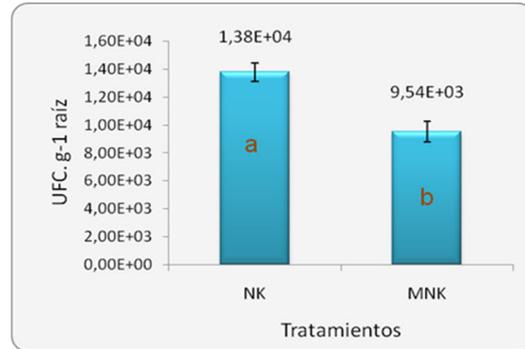
En ese estudio se evaluó, en microplot, la interacción de los hongos micorrizógenos arbusculares (*G. mosseae*) y el hongo nematófago (*P. chlamydosporia* var. *catenulata* cepa IMI SD 187), en el manejo de *M. incognita* raza 2 en tomate (*S. lycopersicum* variedad 'Eliana', portadora del gen *Mi*). En el experimento se establecieron 5 tratamientos (aplicaciones simples y combinadas de ambos hongos) y un control, con 10 repeticiones en un diseño experimental completamente aleatorio. Las variables evaluadas fueron: Masa fresca de la raíz (g), Índice de Agallamiento, Número de ootecas.g de raíz⁻¹, Número de huevos.ootecas⁻¹, UFC.g de raíz⁻¹, UFC.g de sustrato⁻¹, porcentaje de colonización de ootecas y de parasitismo de huevos, masa seca de la raíz, masa seca de la biomasa aérea y rendimiento (kg.planta⁻¹). Los resultados demostraron la capacidad de ambos microorganismos para establecerse en el sustrato y las raíces de las plantas (Fig. 20, 21).

Se constató que, la colonización de masas de huevos de *M. incognita* por *P. chlamydosporia* fue de 70 % cuando este hongo actuaba sólo y que su actividad disminuyó a 60 % en el tratamiento donde se combinó con *G. mosseae* (Fig. 22), así como que la actividad parasítica de huevos disminuyó de un 30 % a 25 % en el tratamiento donde se aplicó *P. chlamydosporia* + *G. mosseae*. (Fig. 23)



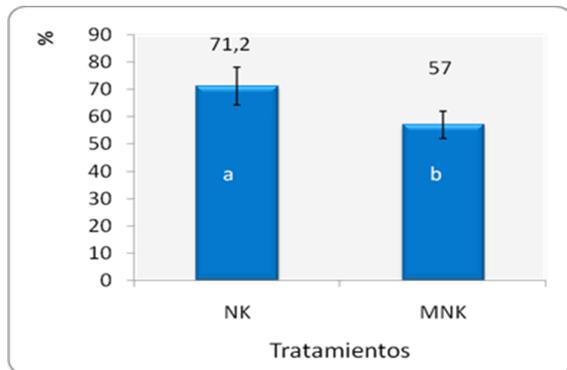
Leyenda: M: *Glomus mosseae*; N: *Meloidogyne incognita* raza 2; K: *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* cepa IMI 187.

Figura 20. UFC.g⁻¹ en suelo de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en presencia de *M. incognita* raza 2 (79) / *P. chlamydosporia* var. *catenulata* CFU.g⁻¹ in soil with *M. incognita* race 2. (79). (Fig. cortesía del MSc. Miguel A. Hernández Socorro)



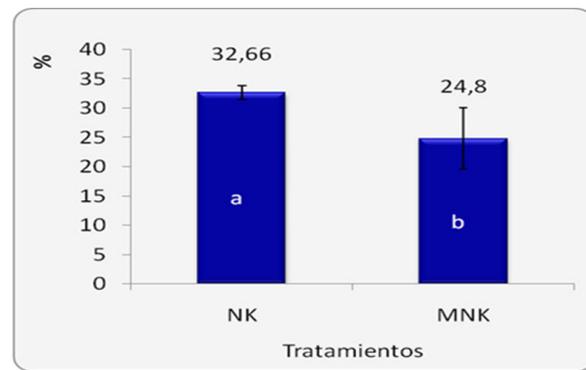
Leyenda: M: *Glomus mosseae*; N: *Meloidogyne incognita* raza 2; K: *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* cepa IMI 187.

Figura 21. UFC.g⁻¹ de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en raíces de tomate en presencia de *M. incognita* raza 2(79). / *P. chlamydosporia* var. *catenulata* CFU.g⁻¹ in tomato roots with *M. incognita* race 2 (79). (Fig. cortesía del MSc. Miguel A. Hernández Socorro)



Leyenda: M: *G. mosseae*; N: *M. incognita* raza 2; K: *P. chlamydosporia* var. *catenulata* cepa IMI 187.

Figura 22. Porcentaje de colonización de masas de huevos por *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en raíces de tomate, en presencia de *M. incognita* raza 2 (79). / Egg masses colonization by *P. chlamydosporia* var. *catenulata* in tomato roots with *M. incognita* race 2 (79). (Fig. cortesía del MSc. Miguel A. Hernández Socorro)



Leyenda: M: *G. mosseae*; N: *M. incognita* raza 2; K: *P. chlamydosporia* var. *catenulata* cepa IMI 187.

Figura 23. Porcentaje de parasitismo de huevos por *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en raíces de tomate en presencia de *M. incognita* raza 2 (79). / Eggs parasitism by *P. chlamydosporia* var. *catenulata* in tomato roots with *M. incognita* race 2 (79). (Fig. cortesía del MSc. Miguel A. Hernández Socorro)

Por su parte, el número de huevos.ootecas⁻¹, fue menor en los tratamientos donde *P. chlamydosporia* actuó solo, con respecto al tratamiento simple con *M. incognita*. Sin embargo, el Índice de Agallamiento disminuyó y los rendimientos aumentaron en las plantas tratadas con micorrizas y el hongo nematófago. (Tabla 1)

Los resultados sugieren que ambos organismos pueden ser empleados juntos en el manejo de *M. incognita* en el tomate (*S. lycopersicum*, cv. 'Eliana') (79).

Se desarrollaron otras investigaciones relativas al efecto de las HMA sobre enfermedades fungosas (aspectos que han sido estudiados en este caso en mayor número que para otras plagas). De esta forma, se analizó la inducción de mecanismos de defensa en plantas de tomate (*S. lycopersicon*) micorrizadas frente al ataque de *Oidiopsis taurica* (Lev.) Salm (80).

En esta interacción, se realizó un experimento con el objetivo de determinar la respuesta del tomate micorrizado, frente al ataque del hongo fitopatógeno *O. taurica*. Para ello se enfrentaron plantas, previamente tratadas con los HMA *G. cubense* (INCAM - 4) (40 esporas. g⁻¹) y *G. mosseae* (INCAM - 2)(60 espora. g⁻¹) con *O. taurica* (2 x 10⁴ esporas. ml⁻¹), a los 21 días de germinadas. Se determinaron algunas actividades enzimáticas relacionadas con la inducción de defensa (PRX, PPO, β-1,3 glucanasa, quitinasa y fenilalanina amonio liasa), así como variables micorrízicas (densidad visual u ocupación fúngica (D.V) y porcentaje de colonización) y porcentaje de daño producido por el patógeno.

No se detectaron diferencias significativas para la colonización, a pesar de que los valores fueron superiores para *G. cubense* entre los 15 y 24 días. Para ambas cepas los porcentajes de densidad visual

Tabla 1. Comportamiento del tomate cv. 'Eliana' en presencia de los nematodos, el ACB y el HMA(79)./ *Behaviour of tomato cv. 'Eliana inoculated with nematodes, BCA and AMF (79).*

| Tratamientos | Masa fresca Raíz (g) | Masa seca Raíz (g) | Masa seca aérea (g) | Rendimiento (g / planta) |
|---|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------------|
| Tomate, cv.'Eliana' (Control absoluto). | 51,10 b | 20,0 b | 60,5 a | 2710 ab |
| Tomate con <i>G. mosseae</i> . | 47,92 bc | 20,4 b | 49,0 bc | 2328 bc |
| Tomate con <i>M. incognita</i> raza 2. | 64,36 a | 18,1 bc | 42,0 bc | 1992 c |
| Tomate con <i>G. mosseae</i> + <i>M. incognita</i> . | 45,06 bc | 15,3 bc | 39,1 c | 1984 c |
| Tomate con <i>M. incognita</i> + <i>P. chlamydosporia</i> var. <i>catenulata</i> , cepa IMI SD 187. | 63,02 a | 27,0 a | 56,9 ab | 2748 ab |
| Tomate con <i>G. mosseae</i> ; <i>M. incognita</i> + <i>P. chlamydosporia</i> . | 42,48 c | 13,6 c | 45,1 bc | 2781 a |
| ES x ± | 3,78 | 0,69 | 1,98 | 99,6 |

estuvieron entre los valores informados para el cultivo del tomate (1,3-1,8 %).

Las especies micorrízicas indujeron respuestas sistémicas en las plantas, donde los mayores niveles de protección se observaron en las plantas tratadas con *G. cubense*, con la disminución, en dos grados, de la intensidad del daño provocado por el patógeno. No obstante, los niveles de inducción de respuesta no fueron suficientes para evitar la colonización del hongo fitopatógeno y el daño producido por este. (Fig. 24)

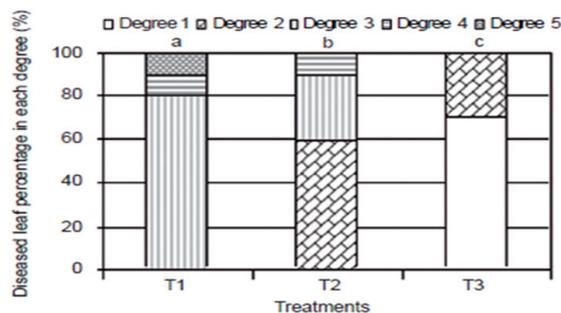


Figura 24. Necrosis foliar de plantas en tomate inoculadas con *Oidopsis taurica*, tratadas con HMA. T1: Control; T2 y T3 plantas micorrizadas con *G. mosseae* y *G. cubense*, respectivamente (80). / *Foliar necrosis in tomato plants inoculated with Oidopsis taurica, treated with AMF. T1: Control; T2 y T3 mycorrhizated plants with G. mosseae y G. cubense, respectively (80).* (Fig. cortesía de Revista *Cultivos Tropicales*).

Sin embargo; existió una respuesta diferencial entre las dos especies de HMA estudiadas. Es interesante destacar la baja respuesta inducida por *G. mosseae* frente al ataque de este hongo fitopatógeno, lo cual permite concluir que no todos los HMA presentan la misma respuesta inductiva frente a un fitopatógeno específico.

El análisis de componentes principales para las actividades enzimáticas mostró que los dos primeros componentes explican el 82,32 % de la variabilidad. Al primer componente contribuyeron las variables siguientes: severidad de la enfermedad, β 1,3 glucanasa en hojas y raíces, peroxidasa en raíces y quitinasas en hojas y raíces, mientras que, al segundo componente

contribuyen las peroxidasa y fenil alanina amonílicas en hojas (80).

No se encontró ninguna relación entre el daño causado por el patógeno y la actividad PO y PAL en hojas. Se observó una relación positiva entre las quitinasas en hojas y raíces con PO en raíces y las glucanasas en hojas, y negativo entre las β 1,3 glucanasas y PAL en raíces (80).

Otro punto importante en las investigaciones con hongos micorrizógenos fueron las relacionadas con el establecimiento de la simbiosis planta - HMA. Para determinar la participación de la sistemina en el proceso de establecimiento de los HMA en los estadios tempranos de la simbiosis micorrízica arbuscular y su influencia en la inducción de respuestas de defensa en tomate se realizó un experimento en fase presimbótica (81). La sistemina, aplicada en las raíces, produce la inducción rápida de las β -1,3- glucanasas y quitinasas en etapas tempranas, de forma local y sistémica. Se observó un efecto sinérgico entre la sistemina y del HMA (*Funneliformis mosseae* (T.H. Nicolson & Gerd.), sobre la actividad de las β -1,3-glucanasas en raíz, desde la primera hora posterior a la aplicación de ambos. *F. mosseae* produjo la inducción de estas enzimas en raíz, a las 24 horas posteriores a su inoculación (81).

En la variante donde se realizó la aplicación combinada del HMA y del elicitador se alcanzaron niveles del establecimiento de la micorrización inferiores a los observados en las plantas donde solo se inoculó *F. mosseae* (81). Esta respuesta puede deberse a que en las raíces de las plantas donde se aplicaron ambos productos se produce la ocurrencia de dos eventos, la inducción de respuestas rápidas por la sistemina y el estrés producido por los procesos de penetración y diseminación del micelio del hongo en las raíces, procesos que fueron documentados en la literatura, pero de forma independiente. A pesar de ello, la evaluación de la colonización en etapas tempranas permitió detectar los momentos iniciales del establecimiento de la simbiosis, entre las 24 y 48 horas.

Los patrones de actividad de las enzimas glucanasas en las raíces de las plantas de tomate inoculadas con

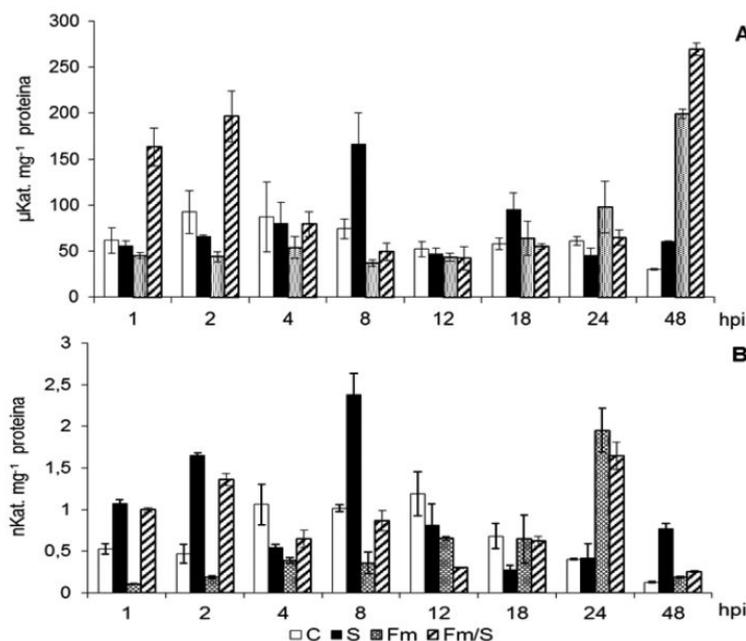


Figura 25. Actividad enzimática en raíces de plantas de tomate evaluadas a 1-48 hpi inducidas por la aplicación de HMA y/o sistemina. (A) β -1,3-glucanasa y (B) quitinasa. Control (barras blancas), sistemina (barras negras), *Funneliformis mosseae* (barras inclinada izquierda) y *F. mosseae* más sistemina (barras inclinada derecha) (81). / Enzimatic activity in tomato roots plants evaluated at 1-48 hs after the inoculation (hpi) induced by AMF and/or sistemin application. (A) β -1,3-glucanase y (B) chitinase (81). (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales)

F. mosseae de forma independiente (*Fm*) mostraron niveles de actividad similares o inferiores a las obtenidas en el tratamiento control en las primeras 18 horas posteriores a la inoculación (hpi) (nivel basal), con diferencias significativas entre ellos. A partir de las 24 horas se produjo un incremento gradual que alcanzó un pico significativo a las 48 hpi (81).

Con relación a la actividad quitinasa, se observó que en las plantas micorrizadas de forma independiente (*Fm*) se produjo la disminución de la actividad de esta enzima hasta las 12 horas, con relación a los niveles alcanzados por el control, con los cuales mostraron diferencias significativas. A las 24 horas se produjo un incremento transiente (1,95 nKat mg⁻¹proteína), que difirió estadísticamente con las demás variantes estudiadas (81).

La aplicación exógena de la sistemina, de forma independiente, indujo la actividad glucanasas a las ocho, 18 y 48 horas, siendo significativo los niveles alcanzados a las ocho horas. Con relación a la actividad quitinasa se produjo una inducción temprana desde los primeros momentos de evaluación, 1 y 2 hpi correspondientes a 103,97 y 251,75 % de incrementos, respectivamente (81).

Se observó un efecto sinérgico con la aplicación conjunta de *Fm* y de la sistemina, con niveles importantes de la actividad de las glucanasas a las 1 y 2 hpi (223,31 y 258,37 % de incremento) con relación a los tratamientos donde se aplicaron de forma independiente) y a las 48 hpi con un incremento significativo de 790,99 % con relación al control (81) (Fig. 25)

Con relación a la actividad quitinasa se observó un efecto inhibitorio en las plantas inoculadas con *Fm*, el cual fue superado durante las etapas tempranas (1-8 hpi) al ser combinado con la aplicación de la sistemina (*Fm/S*). No se observó un efecto sinérgico entre *Fm* y la sistemina sobre la actividad de esta enzima (81). (Fig. 25)

Al analizar la cuantificación de la actividad de las glucanasas y quitinasas en hojas se observó que se alcanzaron niveles más bajos que los obtenidos en las raíces. La inoculación con *Fm*, de forma independiente, indujo incrementos de la actividad de esta enzima a las cuatro y ocho hpi, con incrementos de 304,47 y 374,79 %, respectivamente; sin embargo, en el resto de los momentos evaluados, esta variante no superó al control (81).

La aplicación de la sistemina de forma exógena produjo una inducción significativa de la actividad glucanasa a las ocho hpi, con un segundo pico, más discreto, a las 18 hpi con relación a las quitinasas la inducción se observó a las cuatro hpi, la que fue mantenida en el tiempo (8 y 12 hpi). Posteriormente, durante las 24 y 48 hpi se produjo una segunda inducción de menor magnitud a la observada con anterioridad (81).

En hojas se observó también un efecto sinérgico entre el HMA y el elicitador (*Fm/S*) sobre la actividad glucanasa en estadios tempranos (1 hpi), el cual fue más significativo a las 24 hpi, con 89,46 % de incremento; sin embargo, con relación a las quitinasas no se observó un efecto sinérgico en ninguno de los momentos evaluados (81). (Fig. 26)

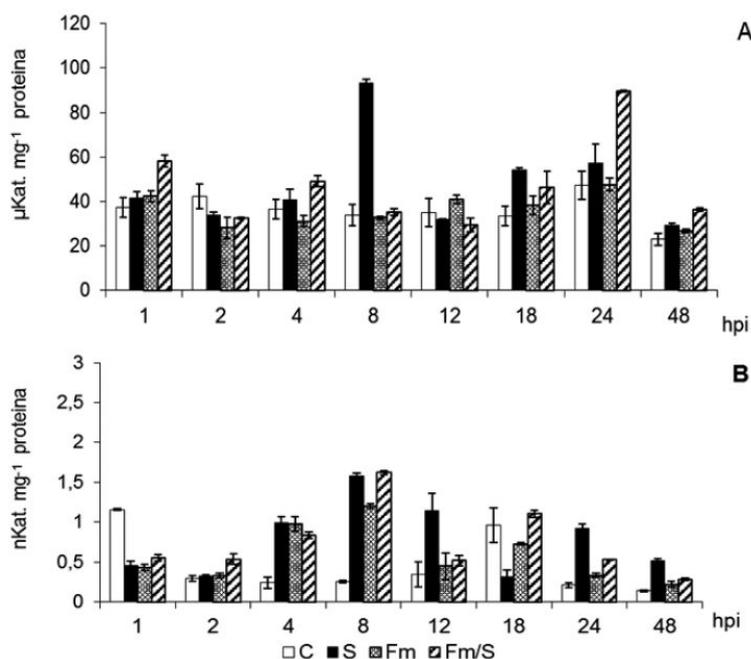


Figura 26. Actividad enzimática en hojas de plantas de tomate evaluadas entre 1 y 48 horas posterior a la inoculación (hpi) inducidas por la aplicación de HMA y/o sistemina (A) β -1,3-glucanasa y (B) quitinasa. Control (barras blancas), sistemina (barras negras), *Funneliformis mosseae* (Fm) (barras inclinada izquierda) y *F. mosseae* más sistemina (Fm/S) (barras inclinada derecha)(81)./ Enzymatic activity in tomato roots plants evaluated at 1-48 hs after the inoculation (hpi) induced by AMF and/or sistemine application. (A) β -1,3-glucanase y (B) chitinase (81). (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales).

En las plantas micorrizadas se produjo la inducción de las glucanasas solo a partir de las 24 hpi con un máximo de actividad a las 48 hpi; mientras que, las quitinasas solo mostraron niveles superiores al control a las 24 hpi. En esta fase ocurre el reconocimiento entre los simbioses, con la activación de una serie de cascadas de señales, resultantes en la producción de hormonas relacionadas con defensa (81). (Fig. 26)

El sinergismo observado en fases muy tempranas con la aplicación de *Fm* y de la sistemina sobre la actividad glucanasa, manifiesta la posible acción conjunta de componentes de las vías de traducción de señales del elicitador y de las respuestas activadas durante la simbiosis micorrízica en la fase presimbótica, correspondiente a procesos de señalización y comienzo de la formación de los apresorios (81).

Los resultados sugieren una importante función de la sistemina en su interacción con la simbiosis micorrízica arbuscular al modular, de forma temprana y transiente, las respuestas de defensa durante el proceso de establecimiento de la micorrización, potenciando la acción de los HMA, el cual se refleja en la inducción de las proteínas PR. La sistemina *per se* produce la inducción rápida de las β -1,3-glucanasas y quitinasas en las primeras horas posteriores a su aplicación en las raíces. Se obtuvo un efecto sinérgico de esta hormona polipeptídica con el HMA (*F. mosseae*) sobre la inducción de β -1,3-glucanasa y quitinasa, desde etapas tempranas en raíz (1 hpi); mientras que, en las hoja fue más tardío. *F. mosseae* solo produjo la inducción de estas enzimas en raíz, en estadios tardíos.

Por otra parte, durante la fase temprana de la simbiosis la aplicación exógena de la sistemina produjo un rápido y transiente incremento de los patrones de actividad de las glucanasas y quitinasas a los 3, 6 y 12 días post emergencia (dpe) (82). Las especies de los HMA produjeron un incremento gradual con picos transientes de actividad, a los 3 y 6 días post emergencia (dpe) (para quitinasa) y 9 dpe (para β -1,3-glucanasa). El patrón sugiere el establecimiento de un diálogo pre-simbótico rápido planta-HMA que parece ser modulado en parte por la sistemina, avalado por el efecto sinérgico sobre la actividad de β -1,3-glucanasa en el tratamiento de la sistemina y HMA. Se observó un efecto positivo similar sobre la actividad de glucanasa después de la aplicación de la sistemina en las etapas más tempranas de la colonización. Esto sugiere que la sistemina podría tener un impacto sobre el proceso de micorrización del tomate con la modulación de las respuestas de defensa (82).

Desde los primeros momentos de evaluación (3 dpe) se detectó la presencia de estructuras fúngicas en las raíces, evaluadas como porcentaje de colonización (% C) y de intensidad (% I), con niveles bajos en los primeros nueve días (6,1 % C y 0,0824 % I). A partir de los 12 y 15 dpe se produjo un incremento, con valores que se mantuvieron hasta el final del experimento (46,56 % C y 1,8 % I), con similitud estadística entre ellos (15 a 24 dpe). Durante esta fase se alcanzaron niveles elevados de ambos indicadores para este cultivo, si se tienen en cuenta los resultados informados en trabajos previos, en los cuales se encontraron valores de

13 % de colonización y 0,61 % de intensidad evaluada como densidad visual en plantas de tomate micorrizadas con *F. mosseae* (*G. mosseae sensu lato*) a los 32 días posteriores a la germinación (82).

Se observó que la sistemina actuó como potenciador de la micorrización, a partir de los 12 dpe, al evaluar tanto la colonización, como la intensidad, con porcentajes de 6,98-19,44 y 26,96-228,97, respectivamente, al compararlos con los niveles alcanzados por las plantas donde se inoculó *F. mosseae* sin la aplicación del elicitor (*Fm*) durante los 12-24 dpe (82).

Los patrones de actividad de las enzimas glucanasas en las raíces de las plantas de tomate solamente micorrizadas (*Fm*), mostraron una tendencia a alcanzar los niveles más elevados en los primeros estadios del establecimiento de la colonización micorrizica, a los 3 y 6 dpe. Con relación a la actividad QUI, en las plantas micorrizadas se produjo un incremento de forma más tardía, alcanzando un máximo de actividad a los nueve dpe, respuesta que coincidió con el desarrollo de las primeras fases del proceso de establecimiento de la simbiosis, dada por la presencia del hongo en el interior de la raíz en niveles bajos. Posteriormente, la actividad fue decreciendo gradualmente a medida que el proceso de micorrización fue avanzando, hasta alcanzar valores similares o inferiores al control (82). (Fig. 27)

Se encontró que la aplicación exógena de la sistemina, de forma independiente, produjo incrementos de la actividad de las glucanasas en los estadios tempranos, alcanzando los mayores niveles a los 3 y 6 dpe, con un segundo momento de incremento a los 12 dpe, los que mostraron diferencias significativas entre sí, con relación a los intervalos de confianza observados. El efecto sobre la actividad de las quitinasas

fue más tardío, observándose niveles que superaron al control a los 9 y 15 dpe (82). (Fig. 27). Al analizar los resultados en los tratamientos de las combinaciones se encontró un efecto sinérgico entre *F. mosseae* y la sistemina (*Fm/S*).

Para la actividad de las quitinasas en raíz, también se observó una inducción rápida y transiente a los 3 dpe con un efecto sinérgico del HMA y la sistemina (*Fm/S*), que correspondió a un 87,07 % de incremento. Solo a los 9 dpe se produjo una inducción de la actividad de esta enzima en todos los tratamientos evaluados, con relación al control (36,75-199,06 % de incremento); tiempo en el cual las plantas inoculadas con *Fm* mostraron los valores más elevados. En estadios tardíos tanto *Fm* como la sistemina produjeron la represión de la actividad (82). (Fig. 27)

Al analizar la cuantificación de la actividad de las glucanasas en hojas, se observó que los tratamientos mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos aunque, de forma general, en todos se alcanzaron niveles muy bajos, con relación a los obtenidos en raíz. Solo a los 9 dpe se observó un incremento de la actividad en las plantas control, que fue seguido, en orden decreciente, por *F. mosseae* y por la sistemina (82). (Fig. 28)

Los patrones de actividad de las enzimas quitinasas en las hojas de las plantas de tomate micorrizadas de forma independiente (*Fm*), mostraron niveles similares con valores cercanos o inferiores al control. En las plantas que fueron micorrizadas con *F. mosseae*, sin la aplicación del elicitor (*Fm*), se produjo el incremento de la actividad de esta enzima a los 21 dpe. De forma general, en las hojas se observaron niveles de actividad inferiores a los obtenidos en las raíces, para ambas enzimas (82). (Fig. 28)

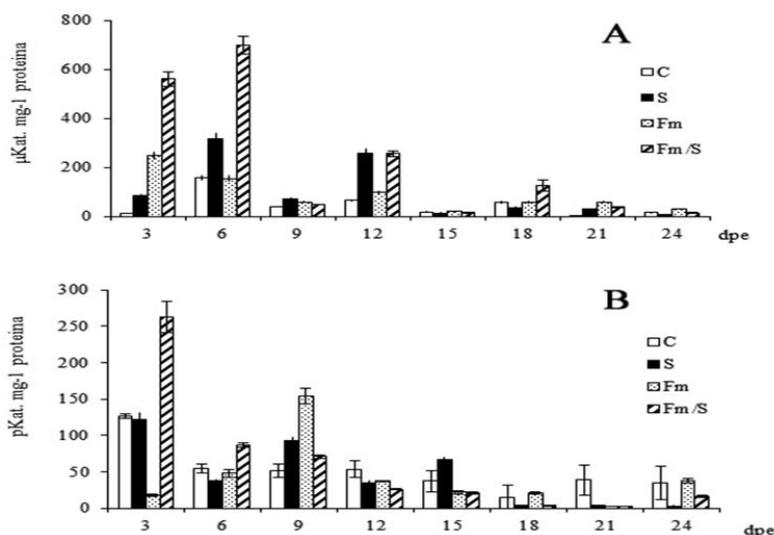


Figura 27. Actividad enzimática en raíces de plantas de tomate evaluadas entre los 3 y 24 días post emergencia (dpe) inducidas por la aplicación de HMA y sistemina. (A) β-1,3-glucanasa y (B) quitinasa. Control (barras blancas), sistemina (S) (barras negras), *Funneliformis mosseae* (Fm) (barras inclinada izquierda) y *F. mosseae* más sistemina (Fm/S) (barras inclinada derecha) (82). / Enzimatic activity in tomato roots plants evaluated at 3 -24 days after the inoculation (dpe) induced by AMF and/or sistemine application. (A) β-1,3-glucanase and (B) chitinase (82). (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales).

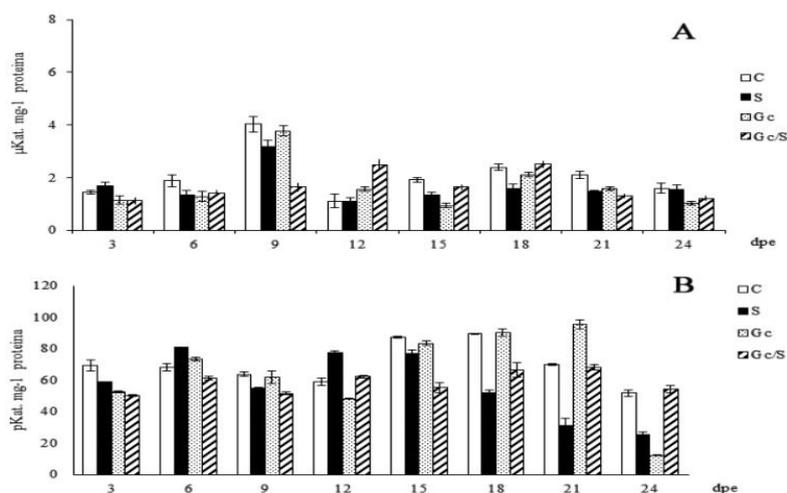


Figura 28. Actividad enzimática en hojas de plantas de tomate evaluadas entre los 3 y 24 días post emergencia (dpe) inducidas por la aplicación de HMA y sistemina. (A) β -1,3-glucanasa y (B) quitinasa. Control (barras blancas), sistemina (S) (barras negras), *Funneliformis mosseae* (Fm) (barras inclinada izquierda) y *F. mosseae* más sistemina (Fm/S) (barras inclinada derecha) (82). /Enzymatic activity in tomato roots plants evaluated at 3 -24days after the inoculation (dpe) induced by AMF and/or sistemine application. (A) β -1,3-glucanase y (B) chitinase (82). (Fig. cortesía de Revista Cultivos Tropicales).

La sistemina potenció el establecimiento de la simbiosis micorrícica con *F. mosseae*, así como su acción sobre la inducción de GLN y QUI, al producir un incremento rápido y transiente en raíz, en los primeros estadios del establecimiento de la micorrización. Se conoce que este elicitor produce la activación rápida de respuestas de defensa en las cuales participan diferentes elementos que conllevan a la acumulación de AJ y etileno, que son inductores de la expresión de proteínas PRs. Sin embargo, estas hormonas no han sido vinculadas con procesos de represión de la actividad de estas proteínas, observado en los tiempos posteriores (82).

Los resultados sugieren una importante función de la sistemina en su interacción con la simbiosis micorrícica arbuscular, al modular las respuestas de defensa durante el proceso de establecimiento de la micorrización, con un efecto a largo plazo, de forma que se logra potenciar la simbiosis por un mecanismo desconocido que podría implicar la regulación de las proteínas PRs.

Otra de las interacciones complejas que se estudiaron fue la de *P. chlamydozporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* (Rifai) y *Glomus clarum* en el control de *M. incognita* (83). La interacción de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydozporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *G. clarum* y *T. harzianum*, agentes biológicos empleados ampliamente en la agricultura urbana Cubana, se estudió en los cultivos de habichuela (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis*) c.v. 'Lina' y tomate (*S. lycopersicon*) c.v. 'Amalia' en condiciones de aisladores biológicos. Las variables evaluadas para los diferentes agentes en aplicaciones simples o combinadas fueron: capacidad de colonización de raíces y sustrato, colonización de masas de huevos y parasitismo de huevos de *M. incognita* para *P. chlamydozporia* var. *catenulata*; número de nódulos por planta, número de nódulos

efectivos por planta, peso fresco de los nódulos por planta y peso seco de los nódulos por planta para *Rhizobium* sp.; colonización del sustrato y colonización de masas de huevos de *M. incognita* para *T. harzianum*; porcentaje de colonización micorrícica, intensidad de la colonización y peso endófito para *G. clarum*. Se evaluó además el efecto de todas las aplicaciones sobre el índice de agallamiento y poblaciones finales de juveniles (J_2) de *M. incognita* en el sustrato.

Los resultados demostraron la compatibilidad de *P. chlamydozporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *T. harzianum* y *G. clarum* y su actividad parasítica se potenció en las aplicaciones conjuntas con estos microorganismos. Ninguno de los tratamientos disminuyó las afectaciones por *M. incognita*. Los menores valores de J_2 de *M. incognita* en el sustrato se encontraron en los tratamientos que incluían a *P. chlamydozporia* var. *catenulata*, aunque una reducción significativa en las poblaciones del nematodo se observó también en el tratamiento conjunto de *T. harzianum* y *G. clarum*. Los resultados sugieren la posibilidad del uso combinado de *P. chlamydozporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *T. harzianum* y *G. clarum* en el manejo de nematodos formadores de agallas (83). (Fig. 29, 30)

También en arroz se estudió el efecto de la inoculación con micorrizas. Para este objetivo se inocularon dos cultivares de arroz ('LP - 7' y 'J 104') con el HMA *G. mosseae* y se evaluaron los parámetros relacionados con la micorrización y diferentes sistemas enzimáticos (84). Los tratamientos inoculados no mostraron diferencias significativas en el porcentaje de colonización micorrícica, con valores de 24 y 26 %; sin embargo, se produjeron en la densidad visual, con valores superiores en el cultivar 'LP - 7', con un mayor ocupación fúngica.

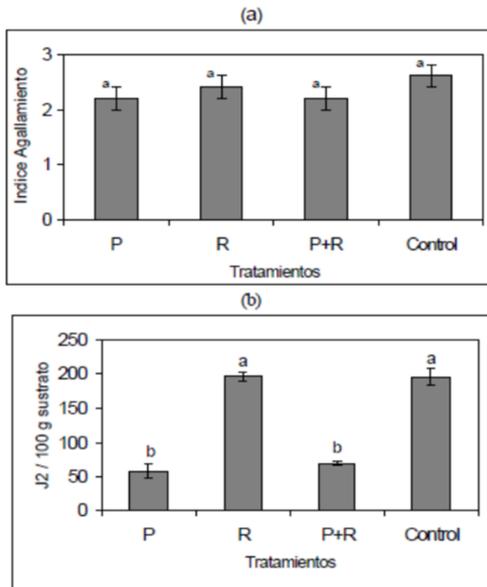


Figura 29. Efecto de la aplicación simple de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* y combinada con *Rhizobium* sp. sobre *M. incognita* en el cultivo de la habichuela. A) índice de agallamiento, B) Poblaciones de *M. incognita* en el sustrato (83). / Effect of simple or combined application of *P. chlamydosporia* var. *catenulata* and *Rhizobium* sp. on *M. incognita* in bean crop. A) Gall index, B) *M. incognita* populations in the substrate (83). (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

La actividad PO aumentó para ambas variedades a los 30 días en raíces. A los 35 días los valores disminuyeron en el cultivar ‘LP - 7’ e incrementaron en ‘J 104’ (triplicando los valores alcanzados en las plantas controles sin inocular). Los valores de PPO disminuyeron en ‘LP - 7’, aunque si diferencias significativas al compararlos con el cultivar ‘J 104’; mientras que, a los 35 días siguen una tendencia similar a la observada con las PO (84). Para las actividades quitinasas y glucanasas los incrementos se detectaron a los 35 días: estos fueron mayores para las quitinasas en ‘J 104’ y para glucanasas en ‘LP - 7’. Esta tendencia también se observó para las enzimas PAL (84).

En hojas, la actividad PO se mantuvo sin diferencias significativas respecto a los controles o incluso disminuyeron sus valores en el segundo tiempo de evaluación. Las PPO mantuvieron este comportamiento en el primer tiempo (30 días), pero a los 35 días se produjo un incremento en el cultivar ‘J 104’. La actividad quitinasa incrementó ligeramente en el primer tiempo, pero se hizo más notable el aumento en el segundo, para el cultivar ‘LP - 7’. De manera similar se observó el mismo comportamiento para las glucanasas (84).

Las diferencias encontradas entre las plantas controles y las tratadas con HMA, en el tejido foliar pudieran ser indicadoras de una respuesta sistémica, pues estos cambios se produjeron en sitios distantes de la zona de inoculación (raíces). No obstante, estas respuestas fueron más acentuadas en el cultivar ‘LP -

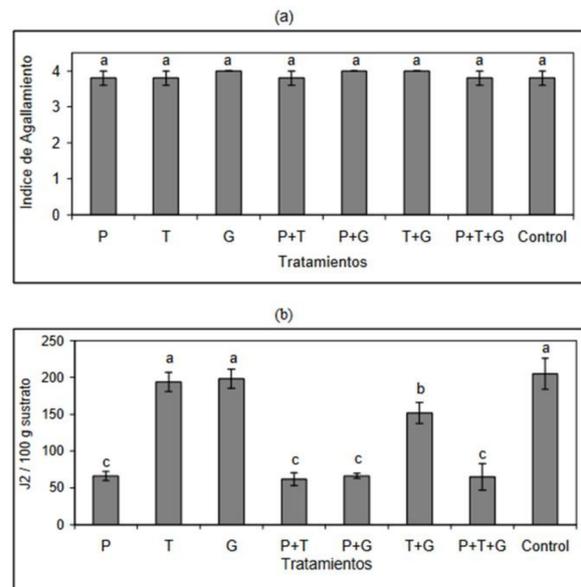


Figura 30. Efecto de la aplicación simples y combinadas de *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, *T. harzianum* y *Glomus clarum* sobre *M. incognita* en el cultivo del tomate. A) índice de agallamiento, B) Poblaciones de *M. incognita* en el sustrato (83). / Effect of simple or combined application of *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, *T. harzianum* and *Glomus clarum* on *M. incognita* in tomato crop. A) Gall index, B) *M. incognita* populations in the substrate (83). (Fig. cortesía de Rev. Protección Veg.).

7’, lo cual pudiera sugerir que esta variedad está mejor preparada para contrarrestar un ataque de plagas, en general (84).

Interacción Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) - TMV

Un grupo de trabajo de la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria de La Habana (UNAH) comenzó a investigar en este importante tema para nuestro país. El tabaco (*N. tabacum*) es uno de los productos de mayor demanda en el mundo y es objeto de gran intercambio comercial. En Cuba, la producción tabacalera ocupa un lugar cimero en la economía por ser una de las principales fuentes de ingreso.

Este cultivo es afectado por múltiples enfermedades, entre las que se incluyen el moho azul (*Peronospora hyoscyami* F. sp. *tabacina*), la pata prieta (*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan) y mosaico del tabaco. El virus del mosaico del tabaco (Tobacco Mosaic Virus, TMV) tiene una amplia distribución en el mundo y se considera económicamente importante. Infecta a más de 199 especies diferentes de plantas pertenecientes a 30 familias. En Cuba se detectó a mediados del siglo pasado y provocó importantes pérdidas (más del 50 % de la producción) en las provincias de La Habana y Pinar del Río.

Se estableció una colección de secuencias expresadas (ESTs) en plantas de Tabaco a partir de la secuenciación de clones de una librería de ADN clonados con representaciones de diferentes órganos de la planta.

Todas las secuencias se clasificaron en 18 categorías funcionales, de ellas, el grupo mayor correspondió al de la energía con del total de las secuencias anotadas. Se obtuvieron dos genes fuertemente relacionados con el virus del mosaico del Tabaco una PR básica y una ubiquitina (TBT087G01) (85).

Posteriormente, se realizó un trabajo de investigación con el objetivo evaluar la expresión de secuencias representativas del genoma de *N. tabacum* con el proceso defensivo en dos genotipos de tabaco resistentes y susceptibles al virus del mosaico del tabaco (86).

Los cebadores se diseñaron utilizando secuencias de genes relacionados con la defensa de las plantas frente al ataque del TMV para analizar la expresión de los mismos a través de la RT-PCR. Como resultado se obtuvo que, a los siete días, posterior a la inoculación se observa una expresión de la β 1,3 glucanasa en ambas variedades siendo mayor en la resistente. La quitinasa se induce en el cultivar resistente a las 48 h pero a los siete días ya no hay expresión. La proteína fosfatasa serina-treonina y la de choque térmico (HSP) se expresan en ambas variedades en los diferentes tiempos probados, aunque la expresión es ligeramente mayor en el cultivar 'BHmN'. Se observó en este estudio la inducción de la β 1,3 glucanasa en plantas de *N. tabacum* inoculadas con el TMV asociada posiblemente a mecanismos defensivos como la respuesta hipersensible y la resistencia sistémica adquirida (86).

En otros experimentos, se trabajó en la identificación de genes novedosos (*TCTP* o Proteína Tumoral Controlada durante la Transcripción y *PR1* o Proteína Relacionada con la Patogénesis del grupo 1) en algunas variedades y especies cubanas de tabaco (87, 88). En el caso de la *TCTP* se caracterizaron seis especies y cuatro variedades y para la *PR1* ocho variedades. La *TCTP* solamente se expresó en dos especies (*Nicotiana glutinosa* L. y *Nicotiana tomentosiformis* Good) y la *PR1*, después de la digestión, mostró diferentes bandas entre los cultivares susceptibles y resistentes. La presencia de estos genes en una parte del germoplasma analizado constituye un paso inicial para la utilización de este conocimiento en el mejoramiento genético del tabaco.

RETOS Y PERSPECTIVAS

En la actualidad, los estudios que se realizan en el equipo del CENSA están encaminados al estudio de dos interacciones principales. En el caso de la interacción Plátanos / bananos - *M. incognita*, se está estudiando la inducción de mecanismos de defensa a partir de la aplicación de agentes de control biológico (ACB), especialmente *Trichoderma asperellum*, *Pochonia chlamydosporia*, Hongos formadores de micorrizas y de extractos naturales procedentes de plantas autóctonas. Con relación a los ACB se realizaron colectas de los

organismos y se procedió a la selección de los mejores aislados por su actividad biológica directa sobre el nematodo fitoparásito y su actividad como endófito. Los extractos, específicamente aceites esenciales, también se seleccionan en base a su actividad directa en el nematodo plaga y la ausencia de fitotoxicidad y posible inducción de mecanismos de defensa. Próximamente, se procederá a realizar evaluaciones de la resistencia o susceptibilidad de diferentes materiales del banco de germoplasma del INIVIT (centro que colabora en este aspecto con el CENSA) y que efecto tienen sobre cultivares susceptibles la aplicación de los bioactivos antes mencionados. Estos trabajo se ejecutan dentro del marco de un proyecto internacional con la Unión Europea de la convocatoria H2020, titulado: Proyecto H2020 727624: **Microbial uptakes for sustainable management of major banana pests and diseases (MUSA2020)**.

Otro proyecto que apoyó este tema de investigación en el CENSA tuvo apoyo del Instituto Ithaka de Suizay se denominó **Re-cycling of biomass nutrients and carbon for advanced organic fertilization in an eco-smart and climate positive agriculture on Cuba (Bio-C)**. Este proyecto abordó entre varias temáticas, el estudio del efecto de la aplicación de biocarbón (en inglés *biochar*) y de biocarbón mejorado con ACB y aceites esenciales en la resistencia de las plantas. Es conocido el efecto benéfico de la aplicación del biocarbón en el mejoramiento de las características del suelo, la nutrición de las plantas, su crecimiento y desarrollo e incluso sobre la disminución de los efectos del estrés hídrico. Sin embargo, son escasos los trabajos en los que se refiera el efecto de su uso sobre la resistencia a plagas. En este proyecto se ha tomado como diana o interacción principal Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) - *M. incognita*. Sin embargo, se prevé su evaluación en otros cultivos también especialmente en cultivos hortícolas y en plátanos y bananos. De igual forma, los agentes bioactivos se están seleccionando según las características deseables antes mencionadas, pero además se estudiará el efecto del biocarbón y como se produce la liberación de estos bioactivos en el tiempo, así como las relaciones de compatibilidad entre ellos.

Los resultados de ambos proyectos contribuirán, de forma práctica, al manejo de plagas a través de la utilización de tácticas alternativas compatibles con las que se aplican en las estrategias de manejo de los cultivos en estudio y con el ambiente, teniendo en cuenta, en primer orden, aquellos aspectos relacionados con el enfoque de UNA SALUD.

Otros estudios del equipo tratan sobre la caracterización de la variabilidad molecular en cultivos de importancia económica como granos, tubérculos, plátanos y bananos y hortalizas a partir de materiales conservados en bancos de germoplasma o prospecciones realizadas en diferentes regiones del país. También se trabaja en la caracterización bioquímica y molecular de agentes de control biológico.

REFERENCIAS

1. Jellinik SA. Enfermedades, huracanes y pérdidas económicas afectarán a Latinoamérica y el Caribe en las próximas décadas. Disponible en <https://www.casamerica.es>. Consulta: Noviembre 2009.
2. Clark I. Fragmento del discurso pronunciado por el presidente de La Academia de Ciencias de Cuba Dr. Ismael Clark en el acto de clausura del VI Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, La Habana, Cuba. Mayo del 2008.
3. Hammond-Kosak KE, Parker JE. Deciphering plant-pathogen communication: Fresh perspectives for molecular resistance breeding. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2003; 14: 177-193.
4. Staskawicz BJ. Genetics of plant-pathogen interactions specifying plant disease resistance. *Plant Physiol.* 2001; 125: 73-76.
5. Van Loon L, Rep MPC. Significance of inducible defense - related proteins in infected plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2006; 44 (4): 150-162.
6. Vidhyaseharan P. Fungal pathogenesis in plants and crops: molecular biology and host defense mechanism. 2ndEd. 2008. ISBN: 978-0-8493-9867-4 (Hardcover). Florida (E. U. A.) CRS: 509 p.
7. Sandoval I. Biología y epifitología de *Puccinia melanocephala* H & P. Syd. en Cuba. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Ministerio de la Agricultura. 1996.120 págs.
8. Izquierdo J. Agricultura sostenible: Objetivo del mejoramiento genético asistido por Biotecnología. Presentación realizada en el Primer Congreso Nacional de Biotecnología, REDBIO-Argentina, Córdoba, Argentina, 30 de mayo - 2 de junio de 1993.
9. Alfonso I. Roya de la caña de azúcar: un peligro latente para la agricultura. *Cuba & Caña.* 1996; 3(1): 9-12.
10. López R, O León. Inducción diferencial de la expresión de un gen β 1-3 glucanasa en la interacción roya - caña de azúcar. *Rev. Protección Veg.* 2000; 15(2): 91-95.
11. López R, M La O, O León. Mecanismos bioquímicos de defensa en la interacción roya - caña de azúcar. *Rev. Protección Veg.* 2004; 19 (2): 102-111.
12. Staples RC. Research on the rust fungi during the Twentieth century. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2000; 38: 49-69.
13. López R, A Fernández, B Peteira, O León, T Bryngelsson. Construcción de una biblioteca ADN complementario sustractiva en caña de azúcar inoculada con roya. *Rev. Protección Veg.* 1999; 14 (3): 167-171
14. Fernández A, R López, B Peteira, O León, T Bryngelsson. Utilización de la reacción en cadena de la polimerasa para el análisis de genes relacionados con la defensa de la interacción roya - caña de azúcar. *Rev. Protección Veg.* 1999; 14 (3): 173-175.
15. Agrios GN. *Plant Pathology.* Fifth Edition. Academic Press, San Diego. 2005. 948 págs.
16. Martínez B, A Bernal, S Pérez, Y Muñiz. Variabilidad patogénica de aislamientos de *Alternaria solani* Sor. *Rev. Protección Veg.* 2002; 17: 45-53.
17. García P, E Solórzano, B Peteira, O León, Y Rodríguez. Inducción de actividad peroxidasa y quitinasa por *Alternaria solani* en cinco variedades de tomate con diferentes grados de susceptibilidad frente a este hongo. *Rev. Protección Veg.* 1998; 13 (2): 91-95.
18. Fernández A, E Solórzano, B Peteira, O León. Proteínas relacionadas con la patogénesis en plantas de tomate infectadas con *Alternaria solani*. *Rev. Protección Veg.* 1998; 13 (3): 157-163.
19. Solórzano E, A Fernández, B Peteira, O León. Inducción de isoenzimas de polifenol oxidasas y quitinasas en plantas de tomate infectadas con *Alternaria solani*. *Rev. Protección Veg.* 1999; 14 (1): 7-12.
20. Solórzano E, M del P Rodríguez. Inducción de lipoxigenasas en células de tomate tratadas con el hongo *Alternaria solani*. *Rev. Protección Veg.* 2003; 18(3): 196-199.
21. Solórzano E, A Fernández, B Peteira, O León. Evaluación de indicadores bioquímicos en variedades de tomate resistentes y susceptibles al tizón temprano. *Rev. Protección Veg.* 2006; 21 (2): 101-108.
22. Burketová, L, L Trdá, P Ott, O Valentová. Bio-based resistance inducers for sustainable plant protection against pathogens. *Biotechnology Advances.* 2015; 33: 994-1004.
23. Wu T, D Cheng, M He, S Pan, X Yao, X Xu. Antifungal action and inhibitory mechanism of polymethoxylated flavones from *Citrus reticulata* Blanco peel against *Aspergillus niger*. *Food Control.* 2014; 35: 354-359.
24. Adnan M, A Umer, I Ahmad, K Hayat, SN Shakeel. *In vitro* evaluation of biological activities of *Citrus* leaf extracts. *Sains Malaysiana.* 2014; 43: 185-194.
25. Ojito K. Actividad antifúngica de extractos de hojas de *Citrus* spp. frente a *Alternaria solani* Sor., agente causal del tizón temprano en *Solanum lycopersicum*. [Tesis doctoral presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agronomía. Villa Clara, Cuba. 2016. 94 págs.

26. Magarey R, B Croft, K Braithwaite, A James. A smut incursion in the major Eastern-Australian sugarcane production area. Proc. Interl. Symp. On Technologies to improve Sugar Productivity in Developing countries, Guilin, P.R. China. 2004; 333- 336.
27. Jorge H, R González, I Jorge, R Almeida, I Santana. Impacto del programa de mejoramiento de la caña de azúcar en Cuba. Ediciones Publinia, España. 2003: 254 p.
28. La O M, A Arencibia, R López, R Acevedo, O León, E Rodríguez. Proteínas relacionadas con la defensa en la Interacción *Sporisorium scitamineum* - caña de azúcar. Agronomía Mesoamericana. 2007; 18(2): 197-203.
29. Acevedo R, M La O, M Fajardo, R López, E Rodríguez, O León. Detección de glucanasas y quitinasas por técnicas inmunológicas en la interacción caña de azúcar - *Ustilago scitaminea*. Cuba & Caña. 2004; 1: 47-51.
30. La O M, R López, O León, E Rodríguez, R Acevedo, J Mesa. Determinación de isoenzimas superóxido dismutasas en la interacción *Sporisorium scitamineum* (Piepenbr., M. Stoll & Oberw.) - Caña de azúcar. Cuba & Caña. 2008; 1: 78-81.
31. La O M, A Arencibia, ER Carmona, R Acevedo, E Rodríguez, O León, I Santana. Differential expression analysis by cDNA - AFLP of *Saccharum* spp. after inoculation with the host pathogen *Sporisorium scitamineum*. Plant Cell Rep. 2008; 27: 1103-1111.
32. La O M, F Vinagre, M Fernández, R Acevedo, R López, E Rodríguez, et al. Advances on genomic analysis during *Saccharum* spp. - *Sporisorium scitamineum* interactions: involvement of oligosaccharides in the plant response. Proc. Internl. Symp. on Technologies to Improve Sugar Productivity in Developing Countries, Guilin PR. China, 2006: 302-312.
33. García A, Hernández J, Almaguel L, Sandoval I, Botta E, Arteaga I. Influencia del ácaro *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae) y del hongo *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams & Hawks, sobre el vaneado y manchado de los granos de arroz. En Memorias del Segundo Encuentro Internacional de Arroz, 10 al 12 de Julio del 2002. Ciudad de La Habana, Cuba. Pag. 189- 193.
34. Fernández A, B Peteira, MC González, LY Llanes. Actividad peroxidasa, polifenoloxidasa, fenilalanina amonio liasa y glucanasa en somaclones y mutantes de Arroz. Rev. Protección Veg. 2003; 18(3): 183-188.
35. Fernández A, B Peteira, MC González. Diferenciación de somaclones y mutantes de arroz mediante isoenzimas de esterasas y superóxido dismutasa. Rev. Protección Veg. 2003; 18(1): 67-69.
36. Fernández A, B Peteira, MC González, LY Llanes. Caracterización de somaclones y mutantes de arroz mediante el uso de marcadores isoenzimáticos. Rev. Protección Veg. 2003; 18(3): 189-195.
37. Peteira B, A Fernández, Y Fraga, B Pino, MC González, I Miranda. Diferenciación molecular de algunos somaclones y mutantes de arroz por RAPD. Rev. Protección Veg. 2004; 19(1): 51-56.
38. Fernández A, E Solórzano, I Miranda. Actividad peroxidasa, glucanasa, polifenol oxidasa y fenilalanina amonio liasa en variedades de arroz con diferente grado de susceptibilidad al ácaro *Steneotarsonemus spinki*. Rev. Protección Veg. 2005; 20(2): 132-136.
39. Fernández A, E Solórzano, I Miranda. Mecanismos bioquímicos de defensa en variedades de arroz infestadas con *Steneotarsonemus spinki*. Rev. Protección Veg. 2006; 21(1): 43-50.
40. Fernández A, I Miranda. Contenido de compuestos fenólicos y actividad fenilalanina amonio liasa en variedades de arroz con diferente grado de susceptibilidad a *Steneotarsonemus spinki*. Rev. Protección Veg. 2006; 21(2): 95-100.
41. Karban R, AA Agrawal. Herbivore offense. Ann. Review of Ecol. and Systematics. 2002; 33: 641- 664.
42. Peteira B, A Fernández, H Rodríguez, González E. Efecto del BION y del Fitomas como inductores de resistencia en plantas de arroz infestadas con *Steneotarsonemus spinki*. Rev. Protección Veg. 2008; 23(1): 32-37.
43. Gozzo F. Systemic acquired resistance in crop protection from nature to a chemical approach. J. Agric. Food Chem. 2003; 51: 4487-4503.
44. Fernández A, B Peteira, L Marrero, MA Martínez. Inducción de sistemas enzimáticos en granos de soya inoculados con chinches pentatómidas. Rev. Protección Veg. 2005; 20(1): 44-49.
45. García-Martínez S, García-Gusano M, Valero M, Anastasio G, Ruiz JJ. Estudio de la eficacia de un marcador molecular CAPS en la selección de plantas tolerantes a TYLCV. Actas de Horticultura 2004; 41:115-118.
46. EPPO. 2005. Plant quarantine. Disponible en: www.eppo.org/Quarantine/virus/TYLCV_virus/TYLC00map.htm. Consultado: 12-12-07.
47. Mejia L, Teni RE, Vidavski F, Czosnek H, Lapidot M, Nakhla MK, Maxwell DP. Evaluation of tomato germplasm and selection of breeding lines for resistance to Begomovirus in Guatemala. Acta Hort. 2005; 251-256. DOI: [10.17660/ActaHortic.2005.695.27](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.695.27)

48. Herrera L, Guerra O, Ramos PL, Peral R, Echemendía A L, Ramírez N, Doreste V, Oramas P. Molecular techniques for detection of Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) in infected plants and viruliferous whiteflies. *Biotechnología Aplicada*. 1999; 16(4): 237-242.
49. Ji Y, Scott JW, Hanson P, Graham E, Maxwell DP. Sources of resistance, inheritance, and location of genetic loci conferring resistance to members of the tomato infecting begomoviruses. En: Czosnek H (Ed.). *Tomato yellow leaf curl virus disease: Management, molecular biology, breeding for resistance*. 2007. Dordrecht, Kluwer. Pg 343-362.
50. Dueñas F, Y Martínez, M Álvarez, C Moya, B Peteira, Y Arias, *et al.* Caracterización agromorfológica y evaluación de la resistencia al TYLCV en nuevos genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) como apoyo al programa de mejoramiento genético de la hortaliza para la enfermedad. *Cultivos Tropicales*. 2008; 29(1): 53-60.
51. Dueñas F, Y Martínez, M Álvarez, C Moya, B Peteira, Y Arias. Identificación de los genes *TY-2* y *TY-3* de resistencia a begomovirus y su grado de homocigosis en nuevas accesiones de tomate. *Cultivos Tropicales*. 2009; 30(1): 61-64.
52. Arias Y, I González, O Pino, Y Sánchez, I Miranda, Y Martínez, *et al.* Caracterización bioquímica de seis genotipos promisorios de tomate obtenidos en programas de mejoramiento genético para la resistencia al TYLCV. *Rev. Protección Veg.* 2011; 26 (1): 40-44.
53. FAOSTAT 2011. Food and Agriculture Organization of the United Nations, disponible en <http://faostat.fao.org> (consulta Agosto 2013).
54. Churchill AC. Pathogen profile *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular Plant Pathology*. 2011; 12: 307-328.
55. Vidal A. Sigatoka negra en Cuba. En nuevos focos de plagas y enfermedades. *Boletín Fitosanitario de la FAO*. 1992; 40: 1-2.
56. Pérez L, JM Alvarez, M Pérez. Economic impact and management of black leaf streak disease in Cuba. En: Jacome L, *et al.* (Eds.) *Mycosphaerella leaf spot diseases of bananas: present status and outlook*. Proceedings of the 2nd International Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases. INIBAP, San José, Costa Rica. 2003. pp. 71-84.
57. Mendoza M, A Sánchez, M Acosta, B Roque, O Portal, E Jiménez. Construcción y secuenciación parcial de una biblioteca sustractiva en 'Calcutta 4' (*Musa AA*) en estadio temprano de infección con *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Biotechnología Vegetal*. 2006; 6(4): 213 - 217.
58. Mendoza M, A Sánchez, O Portal, M Acosta, B Roque, M Hofte, *et al.* Identificación de secuencias que se expresan diferencialmente en la interacción no compatible *Musa acuminata* - *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Biotechnología Vegetal*. 2008; 8(1): 21 - 29.
59. Mendoza MF. Caracterización molecular de la interacción *Musa acuminata* - *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. [Tesis doctoral presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Instituto de Biología de Las Plantas. Cuba. 2013. 94 págs.,
60. Mendoza M, O Portal, B Ocaña, M Acosta, B Roque, M Höfte, *et al.* Expression analysis of three phenylpropanoid-related genes during *Musa* spp.-*Mycosphaerella fijiensis* interaction and in response to ethephon. *Biotechnología Vegetal*. 2010; 10(4): 229 - 236.
61. Sánchez C, Y Alvarado, M Acosta, M Cruz, M Leiva, B Roque. Effect of artificial inoculation of *Mycosphaerella fijiensis* on the induction of defence-related enzymes in two *Musa* genotypes. *Biotechnología Vegetal*. 2009; 9 (3): 169-176.
62. Sánchez C, M Cruz, Y Alvarado, L Rojas, M Leiva, M Acosta, *et al.* Detección y cuantificación de quitinasa en hojas de banano (*Musa* spp.) inoculadas con *Mycosphaerella fijiensis*. *Biotechnología Vegetal*. 2012; 12(2): 119-124.
63. Sánchez C, Y Alvarado, M Cruz, M Acosta, M Leiva, B Roque. Detección de compuestos bioquímicos relacionados con la respuesta defensiva en plantas de *Musa* spp. inoculadas artificialmente con *Mycosphaerella fijiensis*. *Biotechnología Vegetal*. 2010; 10: 89-97.
64. Sánchez C, Y Alvarado, M Acosta, M Leiva, M Cruz, B Roque. Quantification of phenols in lesions caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet in 'Cavendish naine'. *Rev. Protección Veg.* 2013; 28 (2): 149-152.
65. Gottwald TR. Current epidemiological understanding of *Citrus* Huanglongbing. *Annu. Rev. Phytopathology*. 2010; 48:119-139.
66. Wang N, Trivedi P. Citrus Huanglongbing: a newly relevant disease presents unprecedented challenges. *Phytopathology*. 2013; 103: 652-665.
67. Coll Y. Determinación del papel de los brasinoesteroides en la respuesta de los cítricos frente a la infección con *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Las). [Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias]. Universidad de La Habana, Facultad de Química, Centro de Estudio de Productos Naturales, Laboratorio de Bioproductos. Cuba. 2015. 96 págs.
68. Arias Y, I González, S Gorrita, I Miranda, D Hernández, B Peteira. Comportamiento de enzimas relacionadas con la defensa en

- dos cultivares de frijol común parasitados por *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. Rev. Protección Veg. 2018; 33(2): 1-6.
69. Solorzano E, AR Meneses, Y Rodríguez, E Pérez, A Fernández, B Peteira, *et al.* Inducción de cinco sistemas enzimáticos en la simbiosis Tomate - Micorriza Arbuscular (MA). Rev. Protección Veg. 2001; 16(1): 30-39.
70. Rodríguez Y, E Pérez, RM Lara, F Fernández, B De la Noval Blanca, I de la Providencia. Polimorfismo bioquímico de siete especies de hongos micorrizógenos arbusculares inoculados en sorgo. Cultivos Tropicales. 2002;23(1): 25-28.
71. Rodríguez Y, B De la Noval, E Pérez, F Fernández. Peroxidase and polyphenoloxidase expression in sorghum bicolor roots, inoculated with different arbuscular mycorrhizal fungus species. Cultivos Tropicales. 2003; 24(2): 23-28.
72. Pérez E, Y Rodríguez, M de los A Hernández, B De la Noval. Dinámica de la inducción de algunos sistemas de defensa en la interacción HMA - tomate var. 'Amalia'. I. Inducción de PR2, PR3, y Fenilalanina amonio liasa en raíces de tomate. Cultivos Tropicales. 2004; 25(2): 37-44.
73. Dinámica de la inducción de algunos sistemas de defensa en la interacción HMA - tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) var. 'Amalia'. II. Inducción y expresión de peroxidasas y polifenol oxidasas en raíces de tomate. Cultivos Tropicales. 2004; 25(2): 45-52.
74. Rodríguez Y, E Pérez, E Solórzano, AR Meneses, F Fernández. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in tomato roots inoculated with *Glomus clarum* or *Glomus fasciculatum*. Cultivos Tropicales. 2001; 22(2): 11-16.
75. Rodríguez Y, B De la Noval, F Fernández, P Rodríguez. Estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de hongos micorrízicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum* M. var 'Amalia'). Ecología Aplicada. 2004; 3(1,2): 162-171.
76. De la Noval B, E Pérez, V Olalde, JP Délano, N Martínez. Inducción de β -1,3-glucanasas y quitinasas en plántulas de tomate por hongos micorrízicos arbusculares y sistemina. Cultivos Tropicales. 2004; 25(1): 5-12.
77. De la Noval B, E Pérez, B Martínez, O León, N Martínez, J Delano. Exogenous systemin has a contrasting effect on disease resistance in mycorrhizal tomato (*Solanum lycopersicum*) plants infected with necrotrophic or hemibiotrophic pathogens. Mycorrhiza. 2007. DOI [10.1007/s00572-007-0122-9](https://doi.org/10.1007/s00572-007-0122-9).
78. Gómez L, MG Rodríguez, B De la Noval, I Miranda, MA Hernández. Interacción entre el Ecomic® y una población cubana de *Meloidogyne incognita* en tomate. Rev. Protección Veg. 2008; 23 (2): 90-98.
79. Hernández MA. Interacción de *Glomus mosseae* - *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* y *Meloidogyne incognita* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). [Tesis presentada en opción al Título Académico de Maestro en Ciencias en Nutrición de las Plantas y Biofertilizantes]. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas - Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Mayabeque, Cuba. 2009. 63 págs.
80. Pérez E, B De la Noval, B Martínez, W De la Noval, A Medina, A Hernández, *et al.* Inducción de mecanismos de defensa en plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) micorrizadas frente al ataque de *Oidiopsis taurica* (Lev.) Salm. Cultivos Tropicales. 2015; 36(1): 94-102.
81. De la Noval B, O León, NA Martínez, E Pérez, J Délano. Patrón de la actividad de las β -1,3-glucanasas y quitinasas en la interacción HMA-sistemina en tomate. I. Fase presimbótica. Cultivos Tropicales. 2017; 38(4): 84-91.
82. De la Noval B, O León, NA Martínez, E Pérez, J Délano. Patrón de la actividad de las β -1,3-glucanasas y quitinasas en la interacción HMA-sistemina en tomate. II. Fase temprana de la simbiosis. Cultivos Tropicales. 2017; 38(3): 36-43.
83. Puertas A, B De la Noval, B Martínez, I Miranda, F Fernández, L Hidalgo-Díaz. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita*. Rev. Protección Veg. 2006; 21 (2): 80-89.
84. Rodríguez Y, A Fernández, E Solórzano, B Peteira, F Fernández. Inducción de enzimas de defensa en dos variedades de arroz (*Oryza sativa*) por el hongo micorrizógeno arbuscular *G. mosseae*. Revista Colombiana de Biotecnología. 2006; VIII (002): 35-49.
85. Pérez S, D Cabezas, D Hai-Tao. Large-scale Identification of Expressed Sequence Tags (ESTs) from *Nicotiana tabacum* by Normalized cDNA Library Sequencing. Beitrage zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research. 2006; 22(2): 114-124.
86. Pérez S, D Cabezas, O Chacón, E Valera, O Borrás, O León. Expresión de cuatro genes de defensa en dos variedades de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) frente al virus del mosaico del tabaco (TMV). Rev. Protección Veg. 2009; 24 (1): 29-34.
87. Pérez S, D Cabezas, Y Domínguez, O. Coto, H. García. Evaluación genómica de los genes *PR1* y *TCTP* en especies y variedades de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). Rev. Protección Veg. 2011; 26(3): 164-169.
88. Pérez S, D Cabezas, Y Domínguez, O Coto, H García. Caracterización molecular de los genes *pr1* y *tpt1* en especies y variedades cubanas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). Rev Colombiana Biotecol. 2012; XIV (1): 191-199.

Conflicto de intereses: Los autores no poseen conflicto de intereses

Contribución de los autores: Belkis Peteira Delgado: **Conceptualización, Curación de datos, Investigación, Escritura - borrador original, Redacción: revisión y edición.** Ondina León: **Conceptualización, Curación de datos, Investigación, Escritura parcial - borrador original**

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)