Artículo

Evaluación de inductores de resistencia al TMV en tomate

Ramiro Hernández-Santiago^{1§} Mateo Vargas-Hernández¹ Erika Janet Zamora-Macorra²

¹Departamento de Parasitología Agrícola-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Texcoco, Estado de México, México. CP. 35230. Tel. 595 9521608. (rhsmpv16@gmail.com; mateovargas@hotmail.com). ²Departamento de Preparatoria Agrícola-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Texcoco, Estado de México, México. CP. 56230. Tel. 595 9521677. (erikazam@gmail.com).

Resumen

Se realizaron aplicaciones de los inductores de resistencia: Messenger gold[®], Virus Stop[®], Actigard[®], Virablock[®], Kendal[®], fosfito de potasio, Stymulus[®] Maxx, *Bacillus subtilis* y MC Cream[®] en el año 2018, de forma individual y combinados en secuencias, para evaluar su efecto sobre la concentración viral (densidad óptica), crecimiento, longitud de raíz, severidad, peso seco total, número y peso de frutos en el cultivo de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) infectado con *Tobacco mosaic virus* (TMV). La secuencia de los inductores Messenger gold[®]+ Messenger gold[®]+ MC Cream[®] redujeron la concentración de TMV a los 38 días después de la inoculación, determinada mediante DAS-ELISA. La aspersión de Virablock[®] obtuvo la mayor altura promedio. Las plantas tratadas con la secuencia Virus Stop[®] + Virus Stop[®] + fosfito de potasio + fosfito de potasio obtuvieron la menor severidad promedio. Las plantas asperjadas con Messenger gold[®] + Messenger gold[®] + MC Cream[®] registraron la mayor longitud de raíz, mayor peso seco total y el segundo mayor número y peso promedio de frutos que no mostraron síntomas de TMV en frutos.

Palabras claves: Elisa, inductores de resistencia, solanaceae.

Recibido: enero de 2020 Aceptado: marzo de 2020

[§]Autor para correspondencia: rhsmpv16@gmail.com.

Introducción

El jitomate (tomate) (*Solanum lycopersicum* L.) es económicamente uno de los cultivos hortícolas más importantes en todo el mundo; sin embargo, enfermedades causadas por virus pueden causar daños graves y pérdidas económicas, de entre 5 al 90% (Hanssen *et al.*, 2010; Sikora, 2011). En el año 2017 se cosecharon 5 226 ha con 3 469 707 t de producción en México (SIAP, 2018).

La producción mundial en el año 2016 fue 177 042 359 t, China, el principal productor produjo 56 308 914 t (31.81%) (FAOSTAT, 2018). En México, la producción de tomate rojo creció a una tasa promedio anual de 3.6% entre 2007 y 2017, se mostró como el principal exportador de tomate en términos de volumen 1.68 millones de toneladas en 2018 y abasteció 84.9% del volumen de tomate fresco importado por Estados Unidos de América. Por otra parte, el consumo per cápita de tomate en México se ubica en 16 kg año⁻¹ y el promedio mundial per cápita fue 19 kg (FIRA, 2019).

Las enfermedades de origen viral en jitomate son muy importantes en el país debido a las pérdidas que pueden ocasionar en la producción, así como al elevado costo que implica su manejo. En muchas zonas productoras, el impacto de estas enfermedades ha sido devastador y en casos extremos la superficie cultivada ha disminuido considerablemente (Bautista *et al.*, 2010). El virus mosaico del tabaco se encuentra distribuido en prácticamente todas las zonas productoras de jitomate en México (Ley y García, 1998).

La inducción de resistencia contra patógenos, como la resistencia sistémica adquirida (RSA) y resistencia sistémica inducida (RSI)e, ha observado de diversos elicitores contra hongos, nematodos, plantas parásitas y virus (Vallad y Goodman, 2004). Existen una diversidad de moléculas que participan en la resistencia a enfermedades que son promovidas con la aplicación exógena de elicitores como ácido salicílico (AS), etileno (E), acibenzolar S-metil y oligosacáridos que se han empleado en diversos cultivos en campo e invernadero (Schreiber y Desveaux, 2008). Vallad y Goodman (2004); Pieterse y Van Wees (2015) encontraron algunas características para diferenciar, la resistencia sistémica adquirida (RSA) y resistencia sistémica inducida (RSI).

La (RSA) es inducida por elicitores bióticos o abióticos, induce proteínas PR, utiliza rutas de señalización que pueden involucrar al ácido salicílico (AS) y su señal viaja sistémicamente a sitios distales de donde ocurrió la infección. La (RSI) es potencializada por bacterias rizógenas promotoras del crecimiento (BPCV), no involucra la síntesis de proteínas PR y la ruta de señalización la realiza a través de jasmonatos y etileno. El término elicitor se usa comúnmente para compuestos que estimulan cualquier tipo de defensa en plantas (Ebel y Cosio, 1994).

Eventualmente, la inducción de respuestas de defensa puede conducir a una resistencia mejorada (Thakur y Singh, 2012). En investigaciones anteriores en plantas de jitomate tratadas con Acibenzolar S-metil (ASM) y ácido acetil salicílico (ASA), presentaron los menores niveles de incidencia y severidad de virosis en las distintas fechas de evaluación bajo condiciones de invernadero (Pérez *et al.*, 2017). En calabacita se encontró que la aplicación de *Bacillus subtilis* aumentó el crecimiento y redujo la concentración de *Cucumber mosaic virus* (Maldonado *et al.*, 2008).

Ramírez *et al.* (2006) observaron en plantas de jitomate a los 50 días después de la inoculación que disminuyó la concentración de tomato spotted wilt virus (TSWV) con la aspersión de ASA, miel, melaza o la combinación de ASA + melaza y ASA + miel. Mejía *et al.* (2009) encontraron que cuando el inductor de resistencia ASM (Boost[®]) se aplicó antes de la inoculación del virus, redujo 50% la incidencia de virosis en tomate de árbol.

Se ha reportado el efecto de *Bacillus* spp. en la reducción de la expresión de síntomas ocasionados por enfermedades de origen viral, además de un aumento en la altura y el peso fresco de las plantas, puede ser atribuido a la resistencia sistémica inducida (Samaniego, 2017). En relación con lo anterior, es importante evaluar estrategias de manejo dirigidas a la aplicación de inductores de resistencia debido a que la información sobre resistencia/tolerancia a enfermedades causadas por virus es escasa.

El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de inductores de resistencia en la concentración viral (densidad óptica), longitud de raíz, altura, severidad, peso seco total (hoja+tallo+raíz), número y peso de frutos en plantas infectadas con TMV en el cultivo de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Materiales y métodos

El desarrollo del cultivo fue bajo túnel en el municipio de Tlapa de Comonfort, estado de Guerrero, de enero a abril 2018. Para preparar el sustrato se realizó una mezcla homogénea de 4 bultos de perlita más 1 bulto de peat moss (4:1 v/v) y se llenaron las macetas de plástico terracota de 6" con el sustrato. Se trasplantaron las plántulas de jitomate el 16 de enero de 2018. Antes del trasplante se asperjó al follaje Confol (imidacloprid) a una dosis de 1 mL 1 000 plántulas⁻¹, para el control de insectos plaga.

El inóculo se obtuvo de *Nicotiana occidentalis* infectada por *Tobacco mosaic virus* (TMV) procedentes del invernadero de virus fitopatógenos, Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, se corroboró la patogenicidad de TMV mediante inoculaciones en plantas de *Nicotiana glutinosa* (plantas indicadora)donde fue capaz de infectar y desarrollar los síntomas de lesiones locales (Holmes, 1929).

La inoculación de TMV se realizó mecánicamente de la siguiente manera: primero se maceró en una bolsa de plástico (11×17 cm) 1 g de tejido de hoja de la planta enferma con TMV que mostraba los síntomas, más 10 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.025M pH 7.2 +DIECA (ácidodietilditiocarbámico de sodio), como estabilizador, posteriormente se aplicó carborundum 600 mallas sobre 3 foliolos de jitomate (uno de la parte apical y dos de la parte media de la planta).

Después con un algodón se tomó extracto con el virus y se aplicó sobre los foliolos previamente espolvoreados, mediante frotado en las plantas de todos los tratamientos excepto en el testigo absoluto (planta sana). Tres días antes de la inoculación del TMV se aplicaron al follaje los inductores de resistencia (para tener una planta con mayor defensa a la infección viral) y después de la inoculación se asperjaron cada 12 días, por tres veces en total.

Se obtuvieron 21 muestras compuestas del experimento a los 38 días después de la inoculación (ddi), de cada tratamiento y repetición consistio en tomar una muestra por las tres plantas de la unidad experimental, se realizó recolectando foliolos de los brotes apicales de cada una de las tres plantas donde se mostraban los síntomas hasta obtener un gramo de tejido vegetal, se colocó en una bolsa de plástico de 11×17 cm, se etiquetó por número de tratamiento, repetición y fecha.

El análisis serológico de las muestras se realizó en el Laboratorio de Virología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Se llevó a cabo la prueba de DAS-ELISA, utilizando antisuero, conjugado, positivo y negativo para TMV obtenidos de Agdia Inc. (Elkhart, Indiana) siguiendo el protocolo de Clark y Adams modificado por Sutula *et al.* (1986). Se registraron los valores de densidad óptica a una longitud de onda de 405 nm con un lector de placas ELISA (Dynatech, minireader II).

Los resultados se interpretaron de acuerdo con el siguiente criterio: la reacción se consideró como positiva (presencia de fitopatógeno) si la lectura de densidad óptica fue mayor o igual a tres veces la media del testigo negativo, y si el testigo negativo presenta en promedio valores de densidad óptica menores de 0.03, solo se considerarán positivos aquellas muestras con densidades ópticas mayores a 0.1 (SAGAR, 1997).

Se utilizó un diseño completamente al azar con 7 tratamientos y tres repeticiones, dentro de los cuales se evaluaron dos testigos, el testigo negativo sin inoculación y sin aplicación de inductores de resistencia, y un testigo positivo con inoculación y sin aplicación de inductores (Cuadro 1). En el análisis estadístico, se realizaron análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias usando la diferencia significativa honesta de Tukey con nivel de significancia al 5%. La unidad experimental fueron 3 plantas de jitomate.

Cuadro 1. Tratamientos en jitomate.

Tratamiento	AP	12*	24	36
Tratamiento	Ar	12	24	30
1	M	M	MC	MC
2	VS	VS	F	F
3	A	BS	M	VB
4	VB	VB	VB	VB
5	KD	SM	A	VS
6		TN	1	
7		TP	•	

M= Messenger gold®; VS= Virus Stop®; A= Actigard®; VB= Virablock®; KD= Kendal®; SM= Stymulus® Maxx; BS= *Bacillus subtilis*; MC= MC Cream®; F= Fosfito de Potasio; TN= testigo negativo; TP= testigo positivo. AP= aplicación preventiva de inductores 3 días antes de la inoculación de TMV; *= días depués de la inoculación, aplicación de inductores de resistencia.

Resultados y discusión

Concentración viral valores de densidad óptica (DO)

En el análisis de varianza se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos en la concentración viral de TMV, el agrupamiento de medias de Tukey mostró para el tratamiento 1 con la secuencia de Messenger gold[®] (ia. proteína harpin aβ) + Messenger gold[®] + MC Cream[®] +

MC Cream[®] la concentración más baja de TMV (0.11 unidades de DO) la cual fue estadísticamente diferente de los demás tratamientos 5, 2, 3, 4 y testigo positivo (Figura 1). Chuang *et al.*, 2014 mencionaron a la proteína harpin en la mejora de la resistencia a las enfermedades de las plantas.

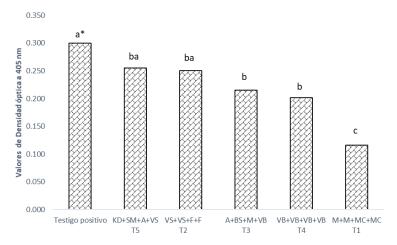


Figura 1. Concentración viral (densidad óptica) de TMV a los 41 días después de la inoculación en jitomate cv. Toro F1, tratadas con inductores de resistencia. M= Messenger gold®, VS= Virus Stop®; A= Actigard®; VB= Virablock®; KD= Kendal®; SM= Stymulus® Maxx; F= fosfito de potasio; BS= Bacillus subtilis; MC= MC Cream.

La proteína harpin son aquellos fragmentos de bacterias patógenas que las plantas reconocen como bacterias, los receptores de harpin pueden encontrarse en todas las partes de la planta excepto en la corteza leñosa, la proteína harpin aß activa rápidamente reacciones en la planta después de ser reconocida por los receptores de la misma. Estos receptores envían respuestas hipersensitivas (HR) o mensaje; a través, de la planta iniciando una secuencia de reacciones como la inducción de defensa contra diversos patógenos (Barón 2001; Fontanilla *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2013).

La respuesta de resistencia podría deberse a la interacción específica de genes de resistencia (R) de la planta con los correspondientes genes de avirulencia (Avr) de los patógenos (García y Lozoya, 2004). Esta reacción de defensa inducida en la planta, puede ser para hacer frente a condiciones de estrés biótico causado por TMV.

Peso seco

Para la variable peso seco de hoja se obtuvieron diferencias significativas, el mayor peso (7.33 g) se registró con la aspersión de inductores de resistencia, T1 (Messenger gold[®] + Messenger gold[®] + MC Cream[®]); no obstante, fue estadísticamente no diferente al T2 (Virus Stop[®] + Virus Stop[®] + fosfito de potasio + fosfito de potasio) y diferente estadísticamente a los tratamientos 3, 4, 5 y testigo positivo donde ocurrió el menor peso (Cuadro 2).

No hubo diferencias significativas en el peso del tallo; sin embargo, el mayor peso (3.64 g) se observó con los inductores (Virus Stop® + Virus Stop® + fosfito de potasio + fosfito de potasio) T2 (Cuadro 2). En la variable peso seco de la raíz, se encontró una ligera ventaja con las aspersión de (Messenger gold® + Messenger gold® + MC Cream® + MC Cream®); sin embargo, fue estadisticamente similar a los tratamientos (T2 y T3) y fue estadísticamente diferente al testigo positivo (Cuadro 2).

< 0.0001

0.0003

	9 /	, ,	, ,	J	
Tratamiento	Peso hoja (g)	Peso tallo (g)	Peso raíz (g)	Peso seco total (g)	Longitud de raíz (cm)
T1	7.33 a*	3.46 a	8.95 a	19.74 a	43.74 a
T2	7.01 a	3.64 a	8.93 ba	19.59 a	39.97 ba
T3	4.51 b	3.02 a	6.52 bac	14.05 b	38.78 ba
T4	4.91 b	3.46 a	6.27 bc	14.64 b	38.78 ba
T5	5.29 b	3.25 a	6.14 c	14.68 b	29.67 bc
T7 (testigo positivo)	2.86 c	2.39 a	3.41 d	8.66 c	23.63 с
DSH	1.42	1.42	2.65	4.53	10.66

Cuadro 2. Peso seco de hoja, tallo, raíz, total y longitud de raíz en jitomate cv. Toro F1.

La variable peso seco total, mostró incremento en el peso con los inductores de resistencia T1 (Messenger gold® + Messenger gold® + MC Cream® + MC Cream®) y T2 (Virus Stop® + Virus Stop® + fosfito de potasio + fosfito de potasio), mientras el testigo positivo registró el menor peso, 8.66 g.Resultados de investigaciones mencionan a los elicitores o inductores de resistencia que promovieron la acumulación de biomasa total e incrementaron la altura, en el cultivo de tomate inoculado con Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici (García et al., 2018).

Maldonado et al. (2008) mediante inductores de resistencia reportaron aumento de tamaño y peso de biomasa fresca en plantas de calabacita inoculadas con Cucumber mosaic virus que fueron tratadas con B. subtilis aplicado al suelo y ácido acetil salicílico aplicado al follaje.

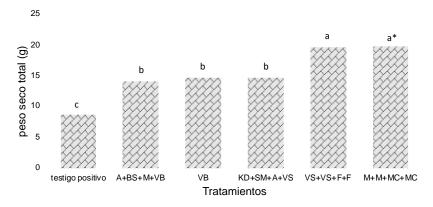


Figura 2. Peso seco total (g) en jitomate cv. Toro f1. Los inductores de resistencia se identifican con las siguientes claves: M= Messenger gold[®], VS= Virus Stop[®], A= Actigard[®], VB= Virablock[®], KD= Kendal[®], SM= Stymulus[®] Maxx, F= fosfito de potasio, BS= Bacillus subtilis, MC= MC Cream.

Longitud de raíz

Probabilidad

0.0002

0.11

Se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos en el análisis de varianza. El inductor de resistencia Messenger gold[®] en secuenciación con MC Cream[®] (T1) obtuvieron la mayor longitud de raíz, en comparación con el testigo positivo el cual mostró la menor longitud (Cuadro

^{0.0001} *= medias con la misma letra por columnas, no son estadísticamente diferentes con la prueba de Tukey a p=0.05.

2). Esto pudiera ser debido a que Messenger gold[®] activa genes para el crecimiento y desarrollo de la planta (PHC, s/f). Se ha reportado que inductores de resistencia promueven el crecimiento de raíz, se observó aumento de crecimiento de raíz mediante la imbibición de las semillas de tomate en soluciones de quitosana (González *et al.*, 2014).

Altura

Se encontraron diferencias significativas en el análisis combinado a través de las tres evaluaciones, se encontró la mayor altura 39.63 cm mediante los inductores de resistencia T4 (Virablock®+ Virablock®+ Virablock®+ Virablock®); sin embargo fue estadísticamente no diferentes a los tratamientos 3, 1 y 2, en comparación con el testigo positivo incrementó 7.95 cm (Figura 3).

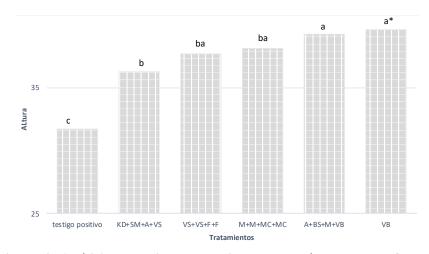


Figura 3. Análisis de varianza combinado a través de las tres fechas de evaluación de la altura en jitomate. M= Messenger gold[®]; VS= Virus Stop[®]; A= Actigard[®]; VB= Virablock[®]; KD= Kendal[®]; SM= Stymulus[®] Maxx; F= fosfito de potasio; BS= *Bacillus subtilis*; MC= MC Cream.

Resultados de trabajos con inductores de resistencia mostraron incrementos en altura, González *et al.* (2015) quienes observaron un incremento de 14.3% con la aplicación del extracto de *H. longipes* (metabolitos inductores) en plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum*. García *et al.* (2018) encontraron que las aplicaciones del elicitor de origen natural incrementó la altura en tomate. Salamanca y Alvarado (2012) obtuvieron la mayor altura con aspersiones de inductor de resistencia (proteína har).

Se observaron diferentes síntomas después de la inoculación de TMV, un mosaico amarillo irregular en los foliolos del brote superior de la planta, despues se mostró el mosaico en la parte media de la hoja, los frutos presentaron bordes irregulares en forma de anillos, manchas amarillas de color intenso cubriendo al fruto, frutos deformados, caida y marchitamiento de flores, enanismo, distorsión de hoja y reducción del rendimiento (Figura 4).

La sintomalogía observada concuerda parcialmente a lo mencionado por Velásquez *et al.* (2012) quienes encontraron enanismo, clorosis, deformación de hojas (ampollado, bordes ondulados o rizados, hojas lanceoladas, de tamaño reducido), defoliación, necrosis foliar y ramas unidas en plantas de chile. Delgado (1974) incluye mosaico, hojas de consistencia coriacea, y aborto de botones, síntomas similares a lo encontrado en el presente estudio.



Figura 4. A), B) y C) foliolos con clorosis y mosaico; D) enanismo de la planta; E) distorsión de la hoja; F) aborto de flores; G) frutos con anillos; H) frutos con manchas amarillas; y I) frutos deformados.

Severidad

Los resultados del analisis de varianza para severidad mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. En el análisis de medias se observa diferencias significativas entre los inductores de resistencia, se encontró que las secuencias de aplicaciones T2 (Virus Stop® + Virus Stop® + fosfito de potasio + fosfito de potasio) y T3 (Actigard® + *Bacillus subtilis* + Messenger gold® + Virablock®) registraron la menor severidad después de tres evaluaciones, en comparación con T5 y el testigo positivo (Figura 5).

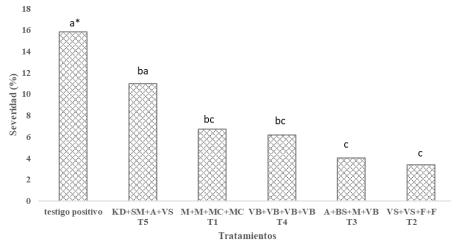


Figura 5. Análisis de varianza combinado a través de las tres fechas de evaluación de la severidad (%) en jitomate.

Probablemente pudiera deberse a los inductores de resistencia provocaron varias reacciones de defensa, tales como la producción de fitoalexinas, proteínas antimicrobianas, proteínas relacionadas con la patogenicidad, reacciones de oxidación y cambios estructurales a nivel de la pared celular (García y Lozoya, 2004; Riveros, 2001).

Número de frutos

En el Cuadro 3, se muestran los resultados del analisis de varianza de la variable número de frutos, del primero, segundo y tercer corte de acuerdo a la síntomatologia observada en los frutos. En el primer corte al realizar la aplicación de inductores, Messenger gold[®] + Messenger gold[®] + MC Cream[®] + MC Cream[®] (T1) obtuvo 1.67 frutos con manchas amarillas, estadisticamente diferente al testigo positivo. Se encontró frutos que no presentaron síntomas con los inductores T1 (Messenger gold[®] + Messenger gold[®] + MC Cream[®] + MC Cream[®]) y T4 (Virablock[®]) y estadísticamente no diferente al testigo negativo (T6) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de varianza individual del número de frutos de acuerdo con los síntomas, primero, segundo y tercer corte en jitomate.

Trat	Primer corte			Segundo corte				Tercer corte			
	FD	FCMA	FNPS	FD	FCA	FCMA	FNPS	FD	FCA	FCMA	FNPS
T1	0.33 a*	1.67 bc	2.33 ba	0 b	0.67 a	0 b	2 ba	1.33 a	0.33 a	2.33 ba	2.33 ba
T2	0.33 a	3.67 ba	1 b	0 b	0.33 a	1.33 ba	1.33 ba	1.67 a	0.67 a	1.33 ba	3.33 ba
T3	0 a	3.33 ba	1 b	0 b	0 a	0.33 ba	1.33 ba	0.67 a	0 a	2 ba	1.33 b
T4	0 a	2.33 b	2.33 ba	0 b	0 a	0.67 ba	0.33 ba	2.33 a	0 a	0.67 ba	1.67 b
T5	0 a	2.67 b	2 b	0 b	0.67 a	0.67 ba	0.67 ba	2.67 a	0.67 a	2.66 a	0.67 b
T6	0 a	0 c	5 a	0 b	0 a	0 b	3.33 a	0 a	0 a	0 b	7.67 a
T7	0 a	5 a	0 b	1 a	1 a	3.33 a	0 b	2.33 a	1 a	3.67 a	0 b
DSH	0.86	2.02	2.72	0	1.05	3.276	3.1	3.33	1.49	3.276	5.771
Prob.	0.56	< 0.0001	0.0007	< 0.0001	0.027	0.0445	0.0384	0.1328	0.1883	0.0287	0.009

FD = frutos deformados; FCMA= frutos con manchas amarillas, FNPS= frutos que no presentaron síntomas; FCA= frutos con anillos; *= medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba Tukey a una p=0.05.

En el segundo corte la aplicación de inductores no registró frutos deformados en comparación con el testigo positivo. La variable número de frutos con anillos en la comparación de medias no muestra diferencias estadisticas. La secuencia de inductores (Messenger gold® + Messenger gold® + MC Cream® + MC Cream®) (T1) no registró frutos con manchas amarillas y fue estadisticamente diferente al testigo positivo. El uso de inductores de resistencia mostró resultados estadisticamente similares a la planta sana (testigo negativo) en el número de frutos sin síntomas (Cuadro 3).

En el tercer corte el uso de inductores de resistencia no influyó en el número de frutos deformados, frutos con anillos, frutos con manchas amarillas y frutos que no presentaron síntomas. Sin embargo, en la variable frutos que no presentaron síntomas se muestra un ligera ventaja numéricamente mediante el uso de inductores de resistencia de las secuencias (Virus $Stop^{®} + Virus Stop^{®} + fosfito de potasio + fosfito de potasio) (T2) obtuvieron 3.33 frutos, estadisticamente no diferente al testigo negativo (planta sana) (T6) (Cuadro 3).$

En el análisis de varianza combinado se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en las variables número de frutos con manchas amarillas, número de frutos que no presentaron síntomas y número de frutos con anillos (Cuadro 4). En la variable frutos deformados, las aplicaciones de inductores de resistencia (Actigard® + *Bacillus subtilis* + Messenger gold® + Virablock®) del T3 mostraron una ventaja numéricamente con el menor promedio de frutos deformados (0.22).

Cuadro 4. Analisis de varianza combinado del número y peso de frutos de acuerdo a los síntomas en jitomate.

Tuot	Número				Peso			
Trat	FD	FCMA	FNPS	FCA	FD	FCMA	FNPS	FCA
T1	0.55 a*	1.33 cb	2.22 b	0.5 ba	8.67 a*	43.22 bc	73.78 b	15 ba
T2	0.67 a	2.11 b	1.89 b	0.5 ba	17.22 a	58.67 ba	39.67 cb	16.34 ba
T3	0.22 a	1.89 b	1.22 b	0 b	3.78 a	57.89 ba	27.11 cb	0 b
T4	0.78 a	1.22 cb	1.44 b	0 b	12.22 a	35.22 bc	36.55 cb	0 b
T5	0.89 a	2 b	1.11 b	0.67 ba	13.11 a	53.56 ba	28.11 cb	20 ba
T6	0 a	0 c	5.33 a	0 b	0 a	0 c	153.13 a	0 b
T7	1.11 a	4 a	0 b	1 a	19.67 a	97.56 a	0 c	32 a
DSH	1.14	1.61	2.29	0.82	19.75	45.07	52.4	25.75
prob.	0.065	< 0.0001	< 0.0001	0.0022	0.045	< 0.0001	< 0.0001	0.0019

FD= frutos deformados; FCMA=frutos con manchas amarillas; FNPS= frutos que no presentan síntomas; FCA= frutos con anillos; * = medias con la misma letra por columnas, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey a una p= 0.05.

Se encontró el menor número de frutos con manchas amarillas (1.22) con la aplicación de Virablock® (T4), estadisticamente diferente al testigo positivo. Se obtuvieron 2.22 frutos que no presentaron síntomas mediante la aspersión de inductores (Messenger gold® + Messenger gold® + MC Cream® + MC Cream®) (T1), estadisticamente no diferente a los demas inductores (T2, T3, T4, y T5). Los tratamientos T3 (Actigard® + *Bacillus subtilis* + Messenger gold® + Virablock®) y T4 (Virablock®) mostraron 0 frutos con anillos, estadisticamente diferente al testigo positivo.

Los resultados encontrados sugieren que las aplicaciones de inductores de resistencia en el cultivo de jitomate reducen el número de frutos con expresión de síntomas de TMV. Como indican Baysal et al. (2003) uno de los métodos potenciales de reducir la severidad de las enfermedades causadas por patógenos, es la inducción de resistencia en la planta y González et al. (2015) reportan 80% de disminución de la severidad de Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici sobre síntomas de marchitamiento en tomate mediante el uso de metabolitos inductores (extracto de Heliopsis longipes).

Peso de frutos

Se obtuvieron los análisis de varianza del primero, segundo y tercer corte del peso de frutos en base a los síntomas que presentaron los frutos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Análisis de varianza individual del peso (g) de frutos de acuerdo con los síntomas, primero, segundo y tercer corte en jitomate.

Tuest	Primer corte			Segundo corte				Tercer corte			
Trat	FD	FCMA	FNPS	FD	FCA	FCMA	FNPS	FD	FCA	FCMA	FNPS
T1	8.33 a*	66.33ba	95.33 b	0 b	23.33a	0 b	71 ba	17.67a	6.67 a	63.33ba	55 b
T2	12.67a	115 a	27 cb	0 b	10 a	32.33ba	27 ba	39 a	22.67a	28.67ba	65 ba
T3	0 a	117.67a	16 c	0 b	0 a	6.33 b	39 ba	11.33a	0 a	49.67ba	26.33 b
T4	0 a	82.67 a	60 cb	0 b	0 a	9.67 ba	9.33 b	36.67a	0 a	13.33ba	40.33 b
T5	0 a	85 a	52.33cb	0 b	25 a	10 ba	20 ba	39.33a	15 a	65.67ba	12 b
T6	0 a	0 b	179.39a	0 b	0 a	0 b	106.67a	0 a	0 a	0 b	173.33a
T7	0 a	124.33a	0 c	15.67 a	36.67a	61.67 a	0 b	43.33a	27.33a	106.67a	0 b
DSH	27.67	73.479	76.47	4.26	37.13	52.69	91.214	54.119	40.62	93.49	109.69
Prob.	0.55	0.0007	< 0.0001	< 0.0001	0.02	0.012	0.016	0.0958	0.1556	0.0252	0.002

FD= frutos deformados; FCMA= frutos con manchas amarillas; FNPS= frutos que no presentan síntomas; FCA= frutos con anillos; * = medias con la misma letra por columnas, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey a una p= 0.05.

El análisis de varianza del primer corte mostró diferencias significativas entre tratamientos en dos variables peso de frutos con mancha amarilla y peso de frutos que no presentaron síntomas. Los inductores de resistencia no influyeron en peso de frutos deformado y peso de frutos con manchas amarillas, sin embargo numéricamente en la variable peso de frutos con manchas amarillas, se encontró el menor peso 66.33 con la secuencia de inductores (Messenger gold[®] + Messenger gold[®] + MC Cream[®]).

En comparación al tratamiento testigo positivo donde ocurrió el mayor peso 124.33 g y en la variable frutos que no presentaron síntomas mostró a los inductores del tratamiento 1 (Messenger gold®+ Messenger gold®+ MC Cream®+ MC Cream®) el cual registró 95.33 g, estadisticamente diferente al testigo positivo (Cuadro 5). En el segundo corte los inductores de resistencia no influyeron para las variables peso de frutos deformados, peso de frutos con anillos, peso de frutos con manchas amarillas y peso de frutos que no presentaron síntomas.

Sin embargo, se observó para la variable frutos con anillos se encontró 0 g con la aspersión de inductores de resistencia del T3 (Actigard[®] + *Bacillus subtilis* + Messenger gold[®] + Virablock[®]) y T4 (Virablock[®]). En el peso de frutos con manchas amarillas se obtuvieron 0 frutos en el T1 (Messenger gold[®] + Messenger gold[®] + MC Cream[®] + MC Cream[®]) y fue estadisticamente diferente al testigo positivo.

La variable peso de frutos que no presentaron síntomas muestra que las aplicaciones de inductores de resistencia del T1 (Messenger gold® + Messenger gold® + MC Cream® + MC Cream®) obtuvieron el segundo mayor peso 71 g. En relación a los frutos deformados las aplicaciones de inductores mostraron 0 g (Cuadro 5). En el tercer corte se obtuvieron diferencias numéricamente con las aplicaciones de inductores de resistencia, para las variables peso de frutos deformados, peso de frutos con anillos, peso de frutos con manchas amarillas y peso de frutos que no presentaron síntomas.

Se encontró en el análisis de varianza combinado diferencias significativas entre tratamientos en las variables peso de frutos deformados, peso de frutos con manchas amarillas, peso de frutos que no presentaron síntomas, y peso de frutos con anillos; sin embargo la aspersión de inductores de resistencia mostraron diferencias numéricamente (Cuadro 4). Se registró el menor peso de frutos deformados 3.78 g en la secuencia (T3) (Actigard®+*Bacillus subtilis*+Messenger gold®+Virablock®).

El inductor Virablock[®] (T4) obtuvo el menor peso de frutos con manchas amarillas registró 35.22 g, en peso de frutos que no presentaron síntomas, los inductores de resistencia Messenger gold[®]+Messenger gold[®]+MC Cream[®]+MC Cream[®] (T1) obtuvieron el segundo mayor peso 73.78 g; en relación a la variable peso de frutos con anillos se obtuvieron 0 g mediante los inductores del T3 (Actigard[®]+ *Bacillus subtilis*+Messenger gold[®]+Virablock[®]) y T4 (Virablock[®]) (Cuadro 4).

Los resultados obtenidos a traves de la aplicación de inductores de resistencia muestran menor número y peso en frutos en comparación con el testigo inoculado con TMV y sin aplicaciones de inductores. Se han encontrado resultados favorables en manejo mediante la aplicación de inductores de resistencia en plantas de jitomate como mencionaron Pérez *et al.* (2017) que trataron con Acibenzolar S-metil (ASM) y ácido acetil salicílico (ASA), los cuales presentaron menores niveles de incidencia y severidad de virosis en distintas fechas de evaluación bajo invernadero.

Conclusiones

Los inductores (Messenger gold[®] + Messenger gold[®] + MC Cream[®] + MC Cream[®]) del tratamiento uno, a los 38 días después de la inoculación redujeron la concentración de *Tobacco mosaic virus* en base a los resultados de ELISA. La aspersión de Virablock[®] después de las tres evaluaciones obtuvo mayor altura promedio. Los inductores de resistencia (Virus Stop[®] + Virus Stop[®] + fosfito de potasio + fosfito de potasio) obtuvieron la menor severidad promedio.

Se obtuvo el mayor peso seco total con los inductores (Messenger gold® + Messenger gold® + MC Cream® + MC Cream®) y la mayor longitud de raíz al final del cultivo; presentó el segundo mayor número y peso promedio de frutos que no mostraron síntomas de *Tobacco mosaic virus*, después de los tres cortes.

Literatura citada

- Barón, J. 2001. Estrategias de manejo de la resistencia. IR-4 Project. Eden Bioscience, WA, USA. 35 p.
- Bautista, N.; Chavarrín, C. y Valenzuela, F. 2010. Jitomate: tecnología para su producción en invernadero. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. 49-63 pp.
- Baysal, Ö.; Soylu, E. M. and Soylu, S. 2003. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-Smethyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. michiganensis. Reino Unido. Plant Pathol. 52(6):747-753.
- Choi, M. S.; Kim, W.; Lee, C. and Oh, C. S. 2013. Harpins, multifunctional proteins secreted by gram-negative plant-pathogenic bacteria. Molecular plant-microbe interactions. 26(10):1115-1122.

- Chuang, H.; Chang, P. y Syu, Y. 2014. Harpin protein, an elicitor of disease resistance, acts as a growth promoter in Phalaenopsis orchids. J. Plant Growth Regul. 33(4):788-797. Doi: 10.1007 / s00344-014-9425-1.
- Delgado, S. S. 1974. Los virus que atacan el cultivo del chile en México; sus implicaciones, identificación, transmisión y medidas de combate. Agric. Téc. Méx. 3(1):317-325.
- Ebel and Cosio, E. G. 1994. 'Elicitors of plant defense responses' International Review of Cytology. 148(1):1-36.
- FAO-FAOSTAT. 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Trade. Recuperado de la red: http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx.
- FIRA. 2019. Panorama Agroalimentario. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. Tomate rojo. México. 25 p.
- Fontanilla, M.; Montes, M. and De Prado. R.2005. Effects of the foliar-applied protein "Harpin (Ea)" (messenger) on tomatoes infected with *Phytophthora infestans*. Communications in Agric. Appl. Bio. Sci. 70(3):41-45.
- García, E. E. L.; Robledo, O. A.; Benavides, M. A.; Solís, G. S. y González, M. S. 2018. Efecto de elicitores de origen natural sobre plantas de tomate sometidas a estrés biótico. Rev. Mex. Cienc. Agríc. Pub. Esp. 20:4211-4221.
- García, P. E. y Lozoya, G. E. 2004. Genes de resistencia a enfermedades en plantas. Rev. Mex. Fitopatol. 3(22):414-422.
- González, M. S.; Benavides, M. A.; García, E. E. L.; Rodríguez, C. E. M. y Flores, O. A. 2015. Efecto de las alcamidas como inductores de tolerancia al estrés biótico en tomate. Rev. Mex. Cienc. Agríc. Pub. Esp. 12:2371-2382.
- González, P. D.; Costales, D.; y Falcón, A. B. 2014. Influencia de un polímero de quitosana en el crecimiento y la actividad de enzimas defensivas en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Cultivos Tropicales. 35(1):35-42.
- Hanssen, I. M.; Lapidot, M. and Thomma, B. P. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. Mol Plant Microbe Interact. 23(5):539-548.
- Holmes, F. O. 1929. Local Lesions in *Tobacco Mosaic*. Botanical Gazette. 87(1):39-55.
- Ley, F. J. H. y García, E. R. S. 1998. Virus que afectan al cultivo de jitomate. *In*: enfermedades de las hortalizas, Cruz, O. J. E.; García, E. R. S. y Carrillo, F. J.A. (Eds.). Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México. 79-83 pp.
- Maldonado, C. E.; Ochoa, M. D. L. y Tlapal, B. B. 2008. Efecto del ácido acetil salicílico y *Bacillus subtilis* en la infección causada por *Cucumber mosaic* virus en calabacita. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 14(1):55-59.
- Mejía, D. M.; Rodas, E. I.; Patiño, L. F. y González, E. P. 2009. Efecto del acibenzolar-s-metil sobre el desarrollo de la virosis causada por potyvirus en tomate de árbol. Agron. Colomb. 27(1):87-93.
- Pérez, R. M.; García, E. P.; Durán, T. Y.; Luna, C. A.; Loera, A. E. y Pérez, R. A. 2017. Control alternativo de virosis en jitomate en un invernadero comercial de Zacatepec, Morelos. Rev. Mex. Fitosanidad. 1(1):1-12.
- PHC. s/f. Plant Health Care De México. PHC® Messenger Gold®. http://www.phcmexico.com.mx/pdfs/biopesticidas/Messenger%20Gold.pdf.
- Pieterse C., Van Wees S. 2015. Resistencia a enfermedades inducidas. *In*: Lugtenberg B. (Eds.). Principios de interacciones planta-microbio. Springer Cham. 123-133 pp. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_14.

- Ramírez, F. J.; Ochoa, M. D. L.; Rodríguez, M. M. N. y Mora, A. G. 2006. Efecto del ácido acetil salicílico, miel y melaza en la movilidad y concentración de TSWV. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 12(2):239-243.
- Riveros, A. A. S. 2001. Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica. 61:4-10.
- SAGAR. 1997. Subsecretaria de Agricultura y Ganadería. Guía ilustrada de la prueba de inmunoadsorción con enzimas ligadas para la detección de fitopatógenos. México. 22 p.
- Salamanca, C. M. and Alvarado, G. A. 2012. Effect of harpin protein and potassium phosphite in control powdery mildew (*Frysiphe polygoni* D. C.) in tomato of Sutamarchán (Boyacá). Ciencia y Agricultura. 9(2):65-75.
- Samaniego, G. B.; Reyes, R. A.; Moreno, V. O. A. y Tun, S. J. M. 2017. Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria *Bacillus* spp. Rev. Protección Veg. 32(1):10-22.
- Schreiber, K., and Desveaux, D. 2008. Message in a bottle: chemical biology of induced disease resistance in plants. Plant Pathol. J. 24(3): 245-268.
- SIAP. 2018. Anuario estadístico de la producción agrícola 2003-2016. Recuperado de la red: http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/.
- Sikora, E. J. 2011. Virus diseases of tomato. Alabama Cooperative Extension System. ANR-0836. Department of Plant Pathology. Alabama A & M and Auburn Universities. 6 p. https://docplayer.net/22918775-Virus-diseases-affect-tomato-production-to-some.html.
- Sutula, CH. L.; Gillett, J. M.; Morrisey, S. M. y Ramsdell, D. C. 1986. Interpreting ELISA Data and Establishing the Positive Negative Threshold. Plant Dis. 70(8):722-726.
- Thakur y Singh, 2012. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. ISRN Biochemistry. ID 762412, 10 p.
- Vallad, G. E. and Goodman, R. M. 2004. Review & interpretation in conventional agriculture. Crop Sci. 44(6):1920-1934.
- Velásquez, V. R.; Reveles, T. L. R. y Mena, C. J. 2012. Incidencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de chile seco en Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas, México. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 2(3):381-390.