

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Agave striata* y *Fouquieria splendens* SOBRE *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Tesis

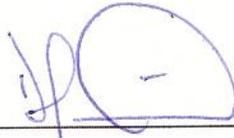
Que presenta JESÚS EDUARDO RAMÍREZ MÉNDEZ

Como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Agave striata* y *Fouquieria splendens* SOBRE *Clavibacter michiganensis* Subsp. *michiganensis*

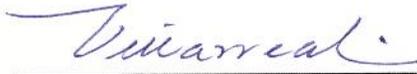
Tesis

Elaborada por JESÚS EDUARDO RAMÍREZ MÉNDEZ como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo.

Asesor principal



Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla

Asesor



Dr. Marco Antonio Tucuch Pérez

Asesor externo



Asesor externo

Dr. Roberto Arredondo Valdés



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente

Subdirector de Postgrado

UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A LA UAAAN:

Gracias a mi Alma Terra Mater por abrirme sus puertas y haberme brindado las herramientas necesarias para continuar mi formación como profesionista. Gracias a mis maestros por transmitirme sus conocimientos y sabios consejos para hacer de mi un mejor profesionista. Gracias al personal de esta universidad los cuales me ayudaron en el proceso de mi formación academica.

A MI DIRECTOR ACADEMICO Y ASESORES:

Gracias a mi director de tesis el Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo por permitirme realizar mi trabajo de investigación con usted, bajo su mentoría, su apoyo y sus consejos. Así como al resto de mis asesores: Dr. Marco Antonio Tucuch Pérez, Dr. José Angel Villarreal Quintanilla y el Dr. Roberto Arredondo Valdés, gracias a todos ustedes por ser parte de mi formación profesional.

A MIS COMPAÑEROS:

Gracias a mis compañeros Issac, Nazareth, Benjamin, Laura y Monica con los que conviví a lo largo de estos 2 años, los cuales me apoyaron en mi proyecto de investigación .

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	ixx
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
Objetivo General	3
Objetivos Específicos	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Origen, distribución e importancia del tomate.....	4
Generalidades del cultivo del tomate.....	4
Importancia económica del tomate en el mundo	5
Producción de Tomate en México	5
Género <i>Clavibacter</i>	6
Descripción de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	6
Sintomatología	7
Ciclo de Vida de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	8
Distribución Geográfica de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	9
Control del Cáncer Bacteriano	10
Control cultural	10
Control químico	10
Control biológico	11
Control con extractos vegetales	11
Extractos vegetales para el control de bacterias fitopatógenas	12
Importancia de la Agricultura Orgánica.....	13
Producto orgánico "Biobacter O®"	14
<i>Agave striata</i> subsp. <i>striata</i> Zucc.....	15
Clasificación taxonómica	15
Descripción botánica	15
Habitat y distribución	15
Actividad biológica de <i>Agave striata</i>	16
<i>Fouquieria splendens</i> Engelm	17
Clasificación taxonómica	17

Hábitat y distribución	17
Descripción botánica	18
Propiedades biológicas de <i>Fouquieria</i>	18
Actividad biológica de las propiedades de <i>Fouquieria splendens</i>	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
Colecta de Plantas	20
Preparación de los extractos	20
Análisis de Compuestos Fitoquímicos	21
Aislamiento de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	21
Identificación molecular de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	22
Efectividad Antibacteriana de los Extractos de Plantas sobre <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> <i>in vitro</i>	23
Ensayo de microdilución	23
Porcentaje de inhibición	24
Análisis estadístico.....	25
Efectividad biológica de los extractos metanólicos de <i>Agave striata</i> y <i>Fouquieria splendens</i> contra <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> bajo condiciones de inverndadero	25
Establecimiento del experimento.....	25
Material vegetativo y Sustrato	25
Diseño experimental.....	25
Inoculación y trasplante.....	26
Aplicación de los tratamientos.....	27
Variables evaluadas.....	27
Evaluación de incidencia y severidad de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> en plantas de tomate	27
Peso fresco de la biomasa aérea y de raíz (g)	28
Peso seco de la biomasa aérea y de raíz (g).....	28
Altura de planta (cm).....	28
Longitud de raíz (cm)	28
Diámetro de tallo (mm).....	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
Identificación Bioquímica de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	29
Identificación molecular de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	29

Fitoquímicos identificados en los extractos metanólicos de <i>Agave striata</i> y <i>Fouquieria splendens</i>	30
Efectividad biológica de los extractos metanólicos de <i>Agave striata</i> y <i>Fouquieria splendens</i> contra <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> <i>in vitro</i>	32
Efectividad biológica de los extractos metanólicos de <i>Agave striata</i> y <i>Fouquieria splendens</i> contra <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> y sobre el desarrollo del cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero.	34
Incidencia y severidad de la enfermedad	34
Parámetros morfométricos evaluados	35
CONCLUSIONES	37
LITERATURA CITADA	38

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Formulación del producto “Biobacer O®”	14
Cuadro 2. Tratamientos empleados para determinar su efectividad biológica contra <i>Cmm</i> bajo condiciones de invernadero.	26
Cuadro 3. Pruebas bioquímicas realizadas a cepa “CV1”	29
Cuadro 4. Fitoquímicos identificados en extractos metanólicos.	32
Cuadro 5. Concentraciones de Cl_{50} y Cl_{90} de los extractos de <i>Agave striata</i> y <i>Fouquieria splendens</i> sobre <i>Clavibacter michiganensi</i> subsp. <i>michiganensis in vitro</i>	32
Cuadro 6. Incidencia y Severidad en follaje en las plantas de tomate por <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> con diferentes tratamientos.	35
Cuadro 8: Parámetros morfométricos de plantas de tomate inoculadas con <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> tratadas con diversos tratamientos bajo condiciones de invernadero.	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de infección de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> en tomate..	9
Figura 2. Distribución de <i>Agave striata</i> subsp. <i>striata</i> Zucc. (Trejo <i>et al.</i> , 2016).....	16
Figura 3. Distribución de <i>Fouquieria splendens</i> (Nevárez-Prado <i>et al.</i> , 2021).....	17
Figura 4. Tallos y hojas colectados con síntomas característicos de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> en tomate.....	22
Figura 5. Arreglo de los extractos de plantas y concentraciones en microplacas.	23
Figura 6. Identificación molecular de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	30
Figura 7. Porcentaje de inhibición de los extracto de <i>Agave striata</i> y <i>Fouquieria splendens</i> contra <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	33

RESUMEN

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Agave striata* y *Fouquieria splendens* SOBRE *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

POR

JESÚS EDUARDO RAMÍREZ MÉNDEZ

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

DR. FRANCISCO DANIEL HERNÁNDEZ CASTILLO – ASESOR

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

El cancro bacteriano es una de las enfermedades del tomate (*Solanum lycopersicum*), la cual es causada por la bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*). En el presente trabajo se realizó la identificación de *Cmm* mediante PCR de punto final utilizando los primers CMM5F y CMM6R. Se evaluó la efectividad de los extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre *Cmm in vitro* y bajo condiciones de invernadero, también se obtuvo información acerca de la composición de fitoquímicos presentes en las plantas. El ensayo *in vitro* se realizó mediante la técnica de microdilución en placa desde los 3.9 mg/L a 1000 mg/L, se determinó la CI_{50} y CI_{90} de cada extracto. En el experimento en invernadero se evaluó el efecto de los extractos y un producto orgánico “Biobacter” contra *Cmm*, se evaluó la incidencia, severidad y parámetros morfométricos. Los resultados *in vitro* indicaron que los extractos de *F. splendens* y *A. striata* presentan inhibición sobre el fitopatógeno, desde concentraciones de 62.5 y 125 mg/L respectivamente. El ensayo en invernadero demostró que la incidencia, severidad y parámetros morfométricos fue menor con el extracto de *F. splendens*, así después el producto Biobacter, y por último el extracto de *A. striata*.

Palabras clave: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, tomate, extractos metanólicos, efectividad biológica.

ABSTRACT

**BIOLOGICAL EFFECTIVENESS OF EXTRACTS OF *Agave striata* and
Fouquieria splendens AGAINST *Clavibacter michiganensis* subsp.
*michiganensis***

BY

JESÚS EDUARDO RAMÍREZ MÉNDEZ

**MASTER'S DEGREE IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

DR. FRANCISCO DANIEL HERNÁNDEZ CASTILLO - ADVISER

Saltillo, Coahuila

July 2022

The bacterial canker is one of the tomato (*Solanum lycopersicum*), caused by the bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*). In the present work, the identification of *Cmm* was carried out by end-point PCR using the primers CMM5F and CMM6R. The efficacy of methanolic extracts of *Agave striata* and *Fouquieria splendens* on *Cmm in vitro* and under greenhouse conditions was evaluated, as well as some information about the composition of phytochemicals present in plants was obtained. The *in vitro* assay was performed using the plate microdilution technique from 3.9 mg/L to 1000 mg/L, the CI_{50} and CI_{90} of each extract was determined. In the greenhouse experiment, the effect of the extracts and an organic product "Biobacter" against *Cmm* was evaluated, the incidence, severity and morphometric parameters were evaluated. The *in vitro* results indicated that the extracts of *F. splendens* and *A. striata* showed inhibition on the phytopathogen from concentrations of 62.5 and 125 mg/L, respectively. The greenhouse trial showed that the incidence, severity and morphometric parameters were lower with *F. splendens* extract, subsequently with Biobacter product, and lastly with *A. striata* extract.

Keywords: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, tomato, methanolic extracts, biological effectiveness.

INTRODUCCIÓN

El tomate es uno de los principales cultivos a nivel mundial debido a su elevado consumo, su rendimiento varían en función de las tecnologías empleadas, desde el cultivo a campo abierto, hasta la producción en invernaderos de alta tecnología con sistemas automatizados de riego, nutrición y control fitosanitario (FIRA, 2019), sin embargo, este cultivo presenta un gran número de enfermedades que afectan su rendimiento y productividad.

Las enfermedades de este cultivo son causadas por organismos fitopatógenos como hongos, nematodos virus y bacterias (Arie *et al.*, 2007). En este sentido, las enfermedades bacterianas son un grave problema en los diferentes sistemas de producción. Siendo *Ralstonia solanacearum* (*Rs*), *Pseudomonas syringae* pv. tomato (*Pst*), *Agrobacterium tumefaciens* (*At*), *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (*Xcv*) y *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) las principales especies bacterianas que ocasionan pérdidas en este cultivo (Koike *et al.*, 2007; López, 2016).

Cmm es conocida como “el cáncer” o “cancro bacteriano” (Davis *et al.*, 1984), la cual es una de las principales especies de interés económico por el alto grado de pérdidas que ocasiona en el cultivo de tomate (de León *et al.*, 2011; Nandi *et al.*, 2018), las cuales pueden acabar con el cultivo en caso de no ser controlado (EFSA, 2014; Hadas *et al.*, 2014; FIRA, 2016). La propagación por semillas, trasplantes de plantas, y restos de la planta localizada en el suelo infectadas son sus principales fuentes de inóculo (Kawaguchi *et al.*, 2010). Esta especie muestra un alto grado de variabilidad en su virulencia (Alvarez *et al.*, 2004), y puede llegar a sobrevivir en restos de plantas hasta por al menos dos años (Fatmi y Schaad, 2002; Sen *et al.*, 2018).

Las principales estrategias de control disponibles para *Cmm* son la prevención y exclusión (Xu *et al.*, 2010; De León *et al.*, 2011), las soluciones se basan en la rotación del cultivo, buenas prácticas agrícolas y el uso de semillas sanas (Sen

et al., 2015; Tíreng-Karut *et al.*, 2019). El uso de productos químicos para su control no han sido eficientes (Balestra *et al.*, 2009). El uso de productos cúpricos y de antibióticos desarrollados a base compuestos sintéticos son los más usados como métodos de control (Milijacevic *et al.*, 2009), sin embargo, su uso puede causar toxicidad, además de ser acumulado en los suelos e inducir resistencia en los microorganismos fitopatógenos hacia los ingredientes activos, con lo cual esto no permite su uso en la agricultura en algunos países.

Debido a lo anteriormente mencionado, se han realizado trabajos de investigación para desarrollar alternativas orgánicas, que sean amigables con el ambiente y que no generen resistencia en los microorganismos (Basim *et al.*, 2000; Sarwar, 2015), como es el uso de extractos de plantas y sus principios activos, los cuales han sido estudiados por sus diversos efectos antimicrobianos (Scarpari *et al.*, 2017; Valdés *et al.*, 2017; Simonetti *et al.*, 2020; Bahaman *et al.*, 2021), siendo las plantas del género *Agave* una de las que han mostrado actividad antibacteriana (Fontanills, 2017; Krishnaveni, 2017; Rojas-Elizalde, 2017; López-Romero *et al.*, 2018; Camacho-Campo *et al.*, 2020); así también la especie de *Fouquieria splendens* (Rodríguez-Garza, 2010; Ávila-Reyes, 2013; Vega-Menchaca *et al.*, 2013).

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la efectividad antibacteriana de extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* para el control de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Objetivos Específicos

1. Aislar e identificar una cepa de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* de un cultivo de tomate con presencia de la enfermedad.
2. Identificar la presencia de fitoquímicos de las plantas de interés.
3. Determinar la efectividad antibacteriana de los extractos metanólicos en el control de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bajo condiciones *in vitro*.
4. Determinar la efectividad biológica de los extractos metanólicos en el control de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bajo condiciones de invernadero.

HIPÓTESIS

La composición fitoquímica de los extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* presentarán actividad biológica para el control de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en los ensayos *in vitro* y bajo condiciones de invernadero.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen, distribución e importancia del tomate

El cultivo de tomate, tiene su origen en la zona de los andes en sudamerica (Escobar y Lee, 2009), sin embargo, su domesticación se llevo a cabo en México y Centroamerica (Heuvelink, 2005; Blancard, 2011). Actualmente es un cultivo cosmopolita, el cual se utiliza principalmente para consumo fresco e industrializado (Torres, 2017), además de ser la segunda hortaliza mas importante en el mundo después de la papa (Blancard, 2011).

Además de su importancia social y económica, este cultivo es una rica fuente de minerales, azúcares, aminoácidos, fibras, antioxidantes y algunas vitaminas, componentes biológicamente activos que ayudan a mejorar la calidad de vida de las personas (Blancard, 2011).

Generalidades del cultivo del tomate

La planta de tomate es conciderada herbácea cuyo tallo es semileñoso, con un sistema radicular que está compuesto por una raíz principal de corta extensión ramificada en numerosas raíces secundarias. En la parte superior, al nivel del suelo, se desarrollan raíces adventicias que ayudan a mejorar el anclaje de la planta al suelo o sustrato. La raíz está compuesta por una epidermis en donde se encuentran pelos absorbentes. El tallo generalmente mide 2 a 4 cm de la base de la planta y es más delgado en la parte superior donde se están formando las nuevas hojas y racimos florales. Las hojas son imparimpinnadas con foliolos más o menos dentados alternos e impares que terminan en un foliolo individual en la parte apical. El número de hojas por tallo y la frecuencia de aparición están determinados por el tipo de hábito de crecimiento de la planta y la temperatura. Las flores poseen órganos femeninos y masculinos funcionales, con inflorescencias simples o ramificadas, en cada inflorescencia o racimo se forman varias flores constituidas por 5 a 8 sépalos, 5-8 pétalos, 5-8 estambres y un ovario

que comprende 2 a 10 carpelos. Los frutos son en realidad bayas, y estas tardan dos meses desde la antesis (cuajamiento) hasta el momento de la cosecha (Escobar y Lee, 2009; Blancard, 2011; Torres, 2017).

Importancia económica del tomate en el mundo

El tomate es una de las hortalizas más importantes a nivel mundial; la superficie cultivada de tomate a nivel mundial en 2020 fue de 5,051,983 ha, con una producción de un poco más de 186 millones de toneladas. Entre los principales países productores de tomate se encuentran China, India, Turquía, Estados Unidos y Egipto, por su parte México ocupa el noveno lugar en producción con un poco más de 4 millones de toneladas y una superficie sembrada de 84,926 ha (FAO, 2020). México contribuye con el 19% de volumen de las exportaciones a nivel mundial, lo cual lo posiciona como el principal país exportador por encima de España el cual contribuye con un 14% y Países Bajos con un 13% (FAOSTAT, 2020).

Producción de Tomate en México

En 2018, el tomate fue el segundo producto más importante en el valor de las exportaciones agropecuarias mexicanas. Durante la última década, las exportaciones de tomate crecieron a una tasa promedio anual de 4.7 por ciento, al ubicarse en 1.68 millones t (FIRA, 2019). Para el año 2019, en México se cosecharon 3 millones 442 mil t, siendo cinco estados los que representaron un poco más del 50% de la producción a nivel nacional de este cultivo, entre los cuales se encuentran: Sinaloa con 22.2%, San Luis Potosí con 11.4%, Michoacán con 8.1%, Zacatecas con 5.2% y Jalisco con 5.1% (SIAP, 2020). Para el ciclo de Primavera a Verano de 2021, se reportó una superficie sembrada de 9,886 hectáreas, la cual fue superior en 3,758 (61.3%) a la obtenida en 2020, con una producción de un total de 1,154,562 t para el mes de Mayo (SIAP, 2021).

Género *Clavibacter*

El género *Clavibacter* está integrado al Phylum Actinobacteria, Orden Actinomycetales y Familia Microbacteriaceae (Stackebrandt *et al.*, 1997), fue nombrada por primera vez por Davis *et al.* (1984), antes se agrupaba dentro del género *Corynebacterium* (Eichenlaub *et al.*, 2006). Actualmente sólo una especie es contemplada dentro del género *Clavibacter*, *Clavibacter michiganensis*, la cual comprende cinco subespecies que se basan en el hospedador al cual afectan (Yasuhara-Bell y Alvarez, 2015).

Las cinco especies descritas son: *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* (cáncer bacteriano del tomate), *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* (pudrición anular de la papa), *C. michiganensis* subsp. *insidiosus* (marchitez de la alfalfa), *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* (marchitez y tizón del maíz), y *C. michiganensis* subsp. *tessellarius* (mosaico y mancha bacteriana en trigo). Recientemente se han descrito otras subespecies, como *C. michiganensis* subsp. *phaseoli* la cual fue descrita como el agente causal del amarillamiento de hojas en frijol (González y Trapiello, 2014) y *C. michiganensis* subsp. *capsici* como el agente causal del cáncer bacteriano en chiles (Oh *et al.*, 2016).

Descripción de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Cmm es una bacteria que tiene forma de bacilo Gram-positiva, no móvil, la cual es estrictamente aeróbica, no produce endosporas, los medios selectivos de esta bacteria son NBY, YDC y KB, donde en dos a tres días forma colonias de 2-3 mm de diámetro, convexas, lisas, con borde entero, de color amarillo pálido a naranja, opaco, y mucoides, con un poco de brillo cuando son jóvenes; con el tiempo la intensidad de la pigmentación de las colonias amarillas tiende a aumentar. Su temperatura óptima de crecimiento *in vitro* es de 25 a 28° C. En cuanto a su morfología, los bacilos pueden aparecer individuales, pero también pueden

aglomerarse y hacer formas de V o Y entre estos (Schaad *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2001).

El cancro bacteriano puede crecer a temperaturas de 20 a 30°C, pero puede llegar a sobrevivir hasta temperaturas de 50 °C, su pH óptimo para el crecimiento de esta bacteria es oscila entre 7 y 8, pero también crece en el xilema de la planta a pH 5 (Eichenlaub *et al.*, 2006). La gama de hospedadores de *Cmm* comprende principalmente cultivos de solanáceas de importancia económica, tales como: el tomate, los pimientos (*Capsicum annuum*) y berenjenas (*Solanum melongena*) (Waleron *et al.*, 2011; Yim *et al.*, 2012; Kara *et al.*, 2018; Sen *et al.*, 2018), y recientemente se encontró en el cultivo de la papa (Ignatov *et al.*, 2019). Esta bacteria tiene cepas que muestran una gran variabilidad en la virulencia (Alvarez *et al.*, 2004). Las pérdidas de rendimiento varían dependiendo el año, la ubicación, el cultivo afectado y etapa fenológica de la infección del hospedador (Sen *et al.*, 2015).

Sintomatología

La sintomatología mostrada en plantas infectadas por *Cmm* puede ser diversa dependiendo del estado fenológico de la planta, la susceptibilidad del cultivar y virulencia de la cepa bacteriana, esto en conjunto de las condiciones ambientales en las que se desarrolle el cultivo. Los síntomas en las plantas infectadas por *Cmm* pueden ser de tipo sistémicos o localizados (Gleason *et al.*, 1993; de León *et al.*, 2011). Cuando las plantas se infectan como semillas o plántulas jóvenes, desarrollan infecciones primarias o también llamadas infecciones sistemicas, en el cual los síntomas pueden aparecer de 6 a 8 semanas (Gitaitis *et al.*, 1991). Por el contrario, las plantas más son fisiológicamente mas viejas suelen desarrollar infecciones foliares o llamadas infecciones secundarias, estas ocasionan clorosis de las hojas, lo cual puede afectar el rendimiento y la calidad del cultivo (Nandi *et al.*, 2018). Una vez que la bacteria penetró al tejido vascular a través de tricomas, heridas, estomas e hidátidos que se encuentran presentes en las hojas,

ocasiona un marchitamiento unilateral en los folíolos, apareciendo uno de los primeros síntomas en la planta, posteriormente aparecen estrías necróticas las cuales se extienden desde el pecíolo hasta la unión con el tallo (Gartemann *et al.*, 2008). El parénquima vascular en particular puede presentar un aspecto harinoso blanco.(EPPO, 2016). En etapas más avanzadas de la infección, ocasiona lesiones en los tallos que son conocidas como “chancros”, mientras que en los frutos aparecen pequeños puntos negros rodeados por un halo blanco a los cuales se les conoce como “ojo de pájaro”, estos síntomas finalizan hasta la muerte de la planta (Smith, 1920).

Ciclo de Vida de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Las semillas y los restos de plantas infectados son las principales fuentes de inóculo para su propagación (Gartemann *et al.*, 2003), así también se han reportado huéspedes alternativos como lo son algunas “malezas” estas pueden servir como fuentes de propagación de inóculo (Gleason *et al.*, 1993). La infección inicia cuando *Cmm* penetra la cubierta de la semilla y al endospermo a través del sistema vascular de un progenitor hembra infectado (Fatmi y Schaad, 1988). Las prácticas culturales ocasionan la infección secundaria de *Cmm*, esto puede llevarse a cabo una vez que el cultivo está establecido, esto ocurre principalmente por prácticas como el poda, recorte, contacto entre plantas enfermas y sanas, salpicaduras, entre otras. (Ricker y Riedel 1993; Carlton *et al.*, 1998; Tancos *et al.*, 2013). Las infecciones secundarias se producen través de las hojas por medio de los hidatodos y estomas, por las raíces y tejidos dañados (Carlton *et al.*, 1998; Tancos *et al.*, 2013). Una vez que la bacteria se estableció en la planta, *Cmm* invade los haces vasculares y se mueve a través del xilema por lo que llega a toda la planta del hospedero. Cuando la infección ocurre en plantas en estado de madurez, estas pueden pasar desapercibidas debido a que pueden ser asintomáticas o estar en un estado fenológico desarrollado en el cual la planta ya no muestre síntomas visibles, sin embargo, estas pueden ser una fuente de inóculo en siembras posteriores (Figura 1).



Figura 1. Ciclo de infección de *Cmm* en tomate. El inóculo primario es usualmente semilla infectada (1), la infección secundaria es causada por una transmisión del patógeno ya sea por la raíz (2), hojas (3), prácticas culturales (4), y los restos de plantas infectadas (fuente de contaminación primaria) se vuelven un nuevo inóculo (5) para el siguiente ciclo (6) (Sen *et al.*, 2015).

Distribución Geográfica de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

El cancro bacteriano se identificó por primera vez en tomate en Michigan (EE. UU.) en 1909 y ahora está muy extendido a otras partes del mundo. Su movimiento en largas distancias es facilitado por las semillas comercializadas (Ansari *et al.*, 2019), lo que explica su distribución en todas las regiones productoras de tomate del mundo (CABI, 2021; EPPO, 2022).

En México se detectó e identificó el cancro bacteriano en el Valle de Culiacán, y de 1994 a 1996 se extendió y se estableció en las principales áreas hortícolas de exportación de los estados de San Luis Potosí, Jalisco, Baja California Sur y Baja California Norte (Holguin-Peña *et al.*, 2006), así como en Sonora (Borboa *et al.*, 2009).

Control del Cáncer Bacteriano

Las estrategias de manejo para las enfermedades se pueden agrupar en cuatro categorías: control, erradicación, prevención y exclusión, estas últimas dos son las alternativas más importantes para el control de *Cmm* (Xu *et al.*, 2010; De León *et al.*, 2011). Así los métodos de control que actualmente se utilizan son: el control cultural, químico, biológico, físico y genético.

Control cultural

Se conocen varias formas para disminuir el daño de la enfermedad, pero el uso de semilla sana (libre de contaminación con la bacteria) es la más eficaz. *Cmm* puede ser prevenido con medidas higiénicas como el uso de materiales de propagación, plantas, agua y personal “libres de la bacteria” (Sen *et al.*, 2015). Así también el pH, como la solución nutritiva en el crecimiento del cultivo también pueden limitar el crecimiento bacteriano (Huang y Tu, 2001). Si bien las plantas enfermas puede reducirse utilizando estas prácticas, esta medida debe ser complementada dentro de un manejo integrado, si se quiere tener una mayor eficiencia del control de la enfermedad (Maeso y Walasek, 2015).

Control químico

Compuestos tales como el sulfato de cobre, hidróxido de cobre, y bactericidas como estreptomicina, mancozeb y sus combinaciones reducen la incidencia de la enfermedad (Hausbeck *et al.*, 2000 ; Kasselaki *et al.*, 2011). Sin embargo, actualmente ningún químico ha demostrado controlar por completo al patógeno (de León *et al.*, 2008), reportándose incluso efectos fitotóxicos por el uso de cobre (Yang *et al.*, 2002). Debido a esto se han implementado otros métodos fitosanitarios, como el tratamiento de semillas con ácido clorhídrico (Pradhanang y Collier, 2009), peróxido de hidrógeno y tratamiento del suelo con formaldehído, los cuales reducen el inóculo bacteriano como el desarrollo de síntomas, pero solo han demostrado ser parcialmente efectivos contra *Cmm* (Secor *et al.*, 1998;

Sharma y Kumar, 2000; Pradhanang y Colier , 2007; Kasselaki *et al.*, 2011). Además se ha demostrado que el uso de algunos compuestos ya no es eficiente en el control de esta bacteria, debido a la mutación de algunas cepas que les confiere una alta resistencia (Valenzuela *et al.*, 2019).

Control biológico

Este tipo de control ha sido utilizado como un método de manejo de la enfermedad; el tratamiento con el género *Bacillus* spp. a mostrado inhibición en el crecimiento de *Cmm* (Kasselaki *et al.*, 2011), así como *B. subtilis* (Utkhede y Koch, 2004), *Trichoderma* spp. y *T. harzianum* (Guerrero *et al.*, 2017), o la preinoculación con patógeno avirulento (Müller *et al.*, 2000), reducen la diseminación bacteriana, pero los mecanismos por el cual se inhibe la bacteria en el cultivo de tomate se desconoce. Abo-Elyousr *et al.* (2019) evaluaron la inhibición del cáncer bacteriano con bacterias del género *Bacillus* (*B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens*), y del género *Pseudomonas* (*P. fluorescens* y *P. aeruginosa*), las bacterias mostraron actividad antibacteriana contra *Cmm*. Moustaine *et al.* (2020) evaluaron el antagonismo de tres rizobacterias: *B. cereus*, *Pantoea agglomerans* y *Serratia proteamaculans*, los resultados mostraron que *P. agglomerans* redujo en un 70 % la aparición de los síntomas de la enfermedad, *S. proteamaculans* 45% y *B. cereus* 75%.

Control con extractos vegetales

Se han realizado trabajos de investigación dirigidos en desarrollar alternativas de control con el uso de productos orgánicos para el manejo de enfermedades de los cultivos que no dañen el ambiente (Basim *et al.*, 2000; Sarwar, 2015). Los extractos vegetales son una opción prometedora debido a sus principios activos, cuyos efectos son atribuidos a metabolitos secundarios (fenoles, saponinas terpenoides, alcanos, etc.) (Nevárez-Prado *et al.*, 2021), que han sido estudiados por sus diversos efectos antimicrobianos (Scarpari *et al.*, 2017; Valdés *et al.*, 2017; Simonetti *et al.*, 2020; Bahaman *et al.*, 2021).

Para el caso de *Cmm* se han encontrado potentes inhibidores las cuales son moléculas pequeñas, como las piperidinas, benzimidazoles, fenoles, fenoxi isopropanolaminas y pirrolidonas (Xu *et al.*, 2015). Borboa-Flores *et al.* (2010) evaluaron 19 aceites esenciales, de los cuales 6 mostrarán actividad bactericida, el tratamiento con *Lippia palmeri* silvestre inhibió significativamente el crecimiento de *Cmm* en diferentes dosis evaluadas. Zárare-Martínez *et al.* (2018), evaluaron los efectos de ácidos fenólicos contra *Cmm*, sus resultados indican que la aplicación de estos no promovió efectos en las variables agronómicas del cultivo; sin embargo, si se observó una disminución significativa en severidad de *Cmm*.

Extractos vegetales para el control de bacterias fitopatógenas

Los extractos vegetales son productos obtenidos de distintas partes de la planta, como lo son los tallos, raíz, hojas, flores, corteza, etc. Éstos están compuestos por sustancias orgánicas, que poseen propiedades antimicrobianas y se hallan en la fracción oleosa o aceites esenciales. Los cuales se extraen utilizando métodos como la destilación por arrastre de vapor, prendado en frío y extracción mediante solventes (Tongnuanchan y Benjakul, 2014; Herman *et al.*, 2019). El manejo de las enfermedades bacterianas en plantas se ha hecho mundialmente difícil debido a la resistencia a los productos químicos que durante muchos años han sido empleados en la agricultura (Chirinos *et al.*, 2013). Debido a lo anterior, los productos naturales como plaguicidas han tomado relevancia a nivel mundial, no obstante, a pesar de que se han realizado diversas investigaciones, aun no se cuenta con información suficiente para el uso de estos en el control de enfermedades bacterianas. Sin embargo, diversas investigaciones señalan que los extractos vegetales son una buena opción en el control o inhibición de bacterias fitopatógenas, además pueden constituirse en una herramienta para integrar a un manejo agroecológico de los cultivos (Stauffer *et al.*, 2000; Grillo *et al.*, 2001; Maselli *et al.*, 2008; Arredondo-Valdés *et al.*, 2020; Pérez-Pérez *et al.*, 2020; Arredondo-Valdés *et al.*, 2021).

En este sentido Arredondo-Valdés *et al.* (2020) realizaron ensayos *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Magnolia tamaulipana* contra las bacterias fitopatógenas del tomate *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), *Xanthomonas vesicatoria* (*Xv*), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*), *Ralstonia solanacearum* (*Rs*) y *Agrobacterium tumefaciens* (*At*), los resultados mostraron que el extracto inhibió a las cinco bacterias, la tasa de inhibición del crecimiento osciló entre 8,22 y 100%, por su parte Ramírez-Reyes *et al.* (2015) utilizaron extractos de *M. dealbata* los que inhibieron el crecimiento de *P. carotovorum*. Grillo *et al.* (2001) utilizaron extractos a base de alcohol de *Ruta chalapensis* Lin. y *Ocimum basilicum* Lin. contra *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* y *Erwinia carotovora*, sus resultados muestran que ambos extractos inhibieron el crecimiento bacteriano. Pérez-Pérez *et al.* (2020) evaluaron extractos metanólico, hexánico y de acetato de etilo a partir de raíces de *Jatropha dioica* Seseé (Sangre de drago), los cuales presentaron actividad antimicrobiana contra los fitopatógenos *Cmm*, *Pst* y *Xcv*.

Importancia de la Agricultura Orgánica

Hoy en día la agricultura orgánica emplea opciones tecnológicas con la finalidad de reducir y hacer recuperables los costos de producción, protegiendo la salud de los humanos, mejorando la calidad del ambiente, a la vez que promueve las interacciones biológicas y los procesos naturales beneficiosos de los agroecosistemas (Fernández, 2009; Durán y Waquil, 2019).

Este tipo de agricultura propone la conservación del principio de la biodiversidad y del mantenimiento de la fertilidad del suelo a través de la implementación de agroecosistemas altamente diversificados, donde se incluyen plantas compañeras y/o repelentes, cultivos asociados, planes de rotación de cultivos, así como el uso de insectos benéficos, nematodos, agentes microbiológicos entomopatógenos, nematógenos y antagónicos, insecticidas y fungicidas de origen botánico, permitiendo la utilización de algunos elementos minerales puros

como: azufre, cobre, cal, oligoelementos, de manera que ello contribuya a conservar el equilibrio de los agroecosistemas, manteniendo la actividad biológica del suelo, fortaleciendo los tejidos de las plantas para que soporten los ataques de los insectos plaga y patógenos, regulando sus poblaciones, para que se mantengan en niveles que no hagan daño a los cultivos, como también no afecten la salud del consumidor (Fernández, 2009).

Producto Organico “Biobacter O[®]”

El producto llamado “Biobacter O[®]” de la empresa GreenCorp con registro COFEPRIS RSCO-MEZC0301M-0279-012-10.5, tiene una formulación orgánica para la prevención, control e inducción de resistencia a enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas. Biobacter tiene un amplio espectro de acción y funciona a través de varios mecanismos de acción, incidiendo sobre bacterias tanto gram positivas como gram negativas, ha mostrado efectividad biológica en el manejo de la enfermedad pudrición blanda causada por *E. caratovora* en cebolla y en la mancha angular de la hoja *X. fragariae* en fresa, además de ser recomendado para el control de *Xanthomonas* y *Clavibacter* en los cultivos de chile, tomate, berenjena y papa.

Cuadro 1. Composición del producto “Biobacter O[®]”

Composicion química	%(P/V)
Aceites vegetales (Aceite de <i>Lippia graveolens</i> y aceite de ajo)	5.00%
Terpenos (Extracto de <i>Mimosa tenuiflora</i> y Extracto de <i>Larrea tridentata</i>)	1.00%
Ácidos grasos (Lecitina de soya)	2.00%
Estabilizador (Chitosan)	0.50%
Emulsificantes y acidificantes orgánicos	25.00%
Esporas de <i>Bacillus</i> spp (1 x10 ⁸ ufc/ml)	28.00%
Acondicionadores y duliyentes	38.50%

Agave striata* subsp. *striata

Clasificación taxonomica

División Angiospermae

Clase Monocotiledoneae

Orden Liliales

Familia Asparagaceae

Género *Agave*

Subgénero *Littaea*

Especie *A. striata*

(Zuccarini, 1833).

Descripción botánica

A. striata pertenece a la familia Asparagaceae y al subgénero *Littaea*, es una planta compacta, de tallo corto, con rosetas de muchas hojas que forma un grupo grande y denso que va del verde pálido al rojo o púrpura, de 50-100 cm. de alto por 50-120 cm. de ancho. Sus hojas generalmente miden de 0.5-1 cm. de ancho son lineales, gruesas, rígidas, rectas a arqueadas y convexas en la parte superior. Sus inflorescencias son apicadas, con racimos que van de 50 a 200 flores. Las flores son tubulares y largas, con tépalos cortos, pétalos de color amarillo verdoso o rojo a púrpura y anteras de bronce a pardusco (Gentry, 1982). Comúnmente se le nombra como: “espadín”, sin embargo también se le conoce como “espadillo”, “guapilla”, “soyata”.

Habitat y distribución

Esta especie suele encontrarse asociada con las comunidades de lechuguilla, y suele crecer en ambientes áridos y semiáridos. *A. striata* es también una de las pocas agaváceas no monocárpicas, por lo cual le permite una reproducción más acelerada (Gentry, 1982). Es una especie endémica de México, y su distribución se encuentra en el Desierto Chihuahuense desde el estado de Hidalgo hasta Coahuila (Figura 2) (Trejo *et al.*, 2016).

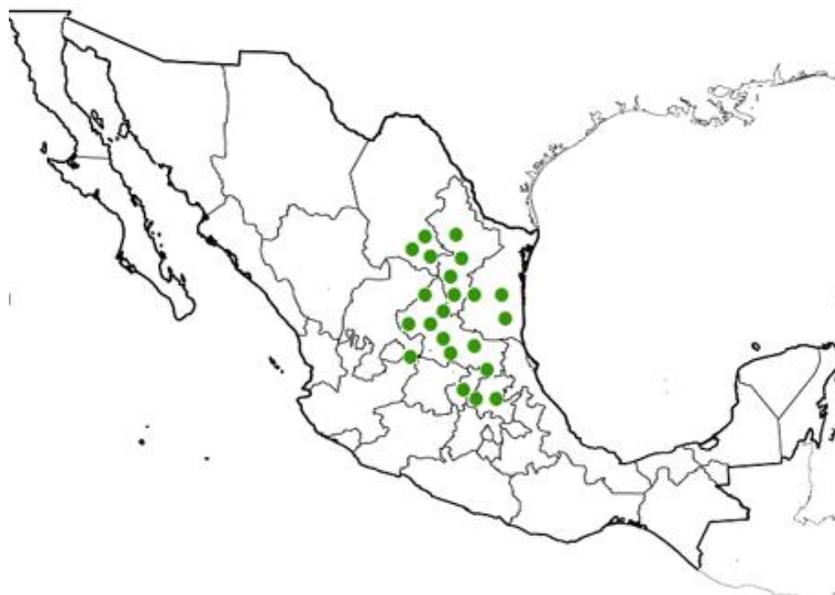


Figura 2. Distribución de *Agave striata* subsp. *striata* (Trejo *et al.*, 2016).

Actividad biológica de *Agave striata*

La actividad antimicrobiana de extractos de *A. striata* para el control de microorganismos fue señalada por Sánchez *et al.* (2005), dichos autores mencionan que el efecto inhibitorio de extractos etanólicos, metanólicos y acuosos sobre el crecimiento de *A. flavus* y *A. parasiticus*. Éstos exhibieron una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 0,5 a 2 mg/ml en medios de cultivo *in vitro*, así como una MIC de >30 mg/g cuando se examinó en granos de maíz. La mitad de la MIC inhibió el 99% de la producción de aflatoxinas y el 85% de ácido ciclopiazónico. Los extractos metanólicos tuvieron el mejor efecto antifúngico, en comparación con el etanólico y extractos acuosos.

Fouquieria splendens Engelm

Clasificación taxonómica

División Magnoliophyta

Clase Magnoliophyta

Subclase Asteridae

Orden Ericales

Familia Fouquieriaceae

Género *Fouquieria*

Especie *F. splendens*

(Kunt, 1824).

Hábitat y distribución

F. splendens es la especie más distribuida de la familia Fouquieriaceae y se puede encontrar desde el suroeste de los Estados Unidos, y en México se encuentra en los desiertos de Chihuahua y Sonora, desde San Luis Potosí y Tamaulipas hasta la parte sur de Zacatecas, Querétaro e Hidalgo (Figura 3) (Henrickson, 1972). Se le conoce comúnmente como: “ocotillo”, así también como “Rotilla” y “Albarda”.

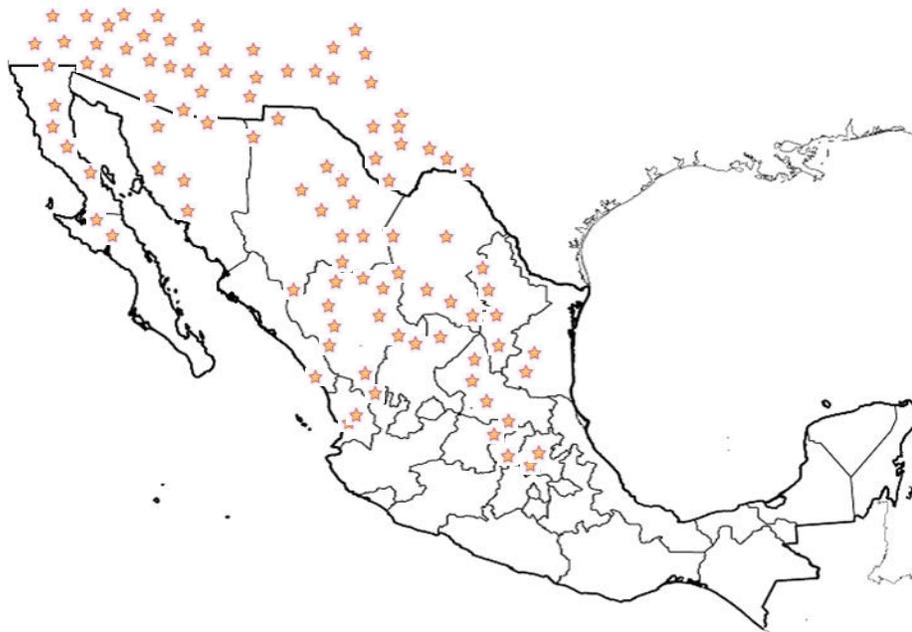


Figura 3. Distribución de *Fouquieria splendens* (Nevárez-Prado *et al.*, 2021).

Descripción botánica

F. splendens es la especie más conocida y representativa de la familia Fouquieriaceae, y del cual se asignó el nombre de “la familia de la madera de vela”. Se ha determinado que los ocotillos tienen una longevidad media de 51 años por lo que se considera una planta perenne de larga vida (Scott, 2021). Esta especie se considera como arbusto o árbol bajo, de 2 a 10 m de altura, tronco basal corto, de 15 a 25 cm de diámetro, ramificado cerca de la base en 6 a 30 tallos erectos o recurvados, corteza externa verde a café-amarillenta, exfoliante en pequeñas tiras, espinas de 15 a 25 mm de largo, rectas o curvas; hojas de los brotes cortos 4 a 11, lineares patuladas ampliamente obovadas, de 17 a 35 mm de largo, por 5 a 11 mm de ancho, agudas a redondeadas y emarginadas en el ápice, cuneadas en la base; sépalos anaranjado-rojizos, rosados a blanco-amarillentos, ampliamente ovados, oblongos a casi reniformes, de 4.5 a 6 mm de longitud, 3.5 a 5.5 mm de ancho, obtusos emarginados en el ápice; corola anaranjado-rojiza, rosado purpúrea, rosado-amarillenta a amarilla clara, de 10.5 a 28 mm de largo. La aparición de las hojas es de manera periódica no estacional ya que depende de la incidencia de la precipitación pluvial, la mayor parte del año las plantas se encuentran sin follaje, pero cuando llueve, las hojas se desarrollan rápidamente. Éstas no duran mucho tiempo sobre la planta, pues se caen pronto, por lo que la aparición de hojas en *F. splendens* es un indicador de que las lluvias han ocurrido recientemente. En sus hojas se presentan muchas traqueidas las cuales almacenan agua, lo cual es poco común en la mayoría de las especies dicotiledóneas (Henrickson, 1969; Lernsten *et al.*, 1974).

Propiedades biológicas de *Fouquieria*

El uso de los compuestos de las especies del género *Fouquieria* tiene efectos biológicos, como: bactericida (Rodríguez-Garza, 2010; Ávila-Reyes, 2013; Vega-Menchaca *et al.*, 2013), fungicida (Rodríguez-Garza, 2010), insecticida (Pérez-Leal *et al.*, 2020), atiparasitario (Rodríguez-Garza, 2010), y fitotóxico (Pérez-Leal

et al., 2020). El género *Fouquieria* ha mostrado diferentes actividades biológicas como ya se menciono, esto debido a que esta especie cuenta con un gran número fitoquímicos, como: flavonoides, ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido elágico, cumarina, escopoletina, grupos carbonilo, oxidrilos fenólicos, esteroides y metilesteroides, saponinas, taninos, antocianinas, carotenoides, entre otros (Bate-Smith, 1964; Rodríguez-Garza, 2010).

Actividad biológica de las propiedades de *Fouquieria splendens*

Son varias las propiedades encontradas en *F. splendens*, entre las que se encuentran: actividad insecticida sobre el crecimiento de *Spodoptera littoralis*, *Myzus persicae* y *Rhopalosiphum padi*, y generan una actividad fitotóxica contra *Lactuca sativa* y *Lolium perenne* (Pérez-Leal *et al.*, 2020). También se ha demostrado que *F. splendens* tiene actividad antifúngica contra los hongos *Microsporum gypseum*, *M. nanum*, *M. cookie* y *M. canis*, antiparasitaria contra trofozoítos de *Entamoeba histolytica*, y actividad bactericida contra *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *S. aureus* (Rodríguez-Garza, 2010). Por su parte Vega-Menchaca *et al.* (2013), determinaron la concentración letal media (DL₅₀) de los extractos obtenidos por maceración usando metanol como solvente, mediante el ensayo de letalidad contra *Artemia salina* con una (DL₅₀) > 1000 mg/mL, que los extractos metanólicos son inocuos por debajo de esta concentración, así también utilizaron extractos metanólicos de las hojas de *F. splendens* con el método de difusión en agar en donde tuvo efectos contra *S. aureus* and *E. coli* O157 con una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 25.0 y 27.1 mg/ml respectivamente, por su parte Ávila-Reyes (2013), utilizo extractos etanólicos de las hojas y corteza de *F. splendens* en la que inhibió el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de Plantas

Se colectaron muestras de plantas de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* en el municipio de General Cepeda, Coahuila, México (25°21'31.09"N y 101°27'54.91"O a 1525 m.s.n.m.), estas se depositaron en bolsas de papel estraza para su traslado al laboratorio de Micología y Biotecnología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. En el laboratorio las plantas se lavaron con agua corriente, se secaron y se separaron las partes aéreas y las raíces de las muestras. Posteriormente las plantas se colocaron en una estufa de secado a 60°C (Arsa AR-130D, México) hasta presentar peso constante. Finalmente, cada planta se trituró con un molino (Surtek, México), se procesaron en una licuadora (Mabe, México), y finalmente se tamizaron con un tamiz de 0.2 mm. para obtener partículas finas las cuales se guardaron en recipientes oscuros hasta su uso.

Preparación de los extractos

Los extractos se prepararon de acuerdo a el método reportado por Jasso de Rodríguez *et al.*, (2015), con algunas modificaciones, utilizando como solvente metanol al 96%; se depositaron 42 g del polvo de cada planta en matraces de 1 L y se agregó 750 mL del solvente; se colocaron en una parrilla de agitación (Thermo Scientific, USA) durante 72 h con agitación constante a una temperatura de 60 °C. Posteriormente el solvente se separó mediante un rotavapor (IKA RV 10 digital V, USA) a 150 RPM, a temperaturas de 70°C. Una vez obtenida la fracción metanólica esta se vertió en recipientes de vidrio y se colocaron en una estufa de secado (Arsa AR-130D, México) a 50°C durante 48 h para eliminar el metanol, quedando los extractos secos y así poder pulverizarlos, finalmente se obtuvieron los extractos y se colocaron en frascos ámbar para su posterior uso.

Análisis de Compuestos Fitoquímicos

Para la identificación de compuestos fitoquímicos de los extractos metanólicos de *A. striata* y *F. splendens*, los extractos se prepararon a 1000 mg/L y se realizó la detección de: alcaloides (Prueba de Dragendorf y Sonneschain); azúcares reductores (Prueba de Feling y Benedict); carbohidratos (Prueba de Molisch); carotenoides (H₂SO₄ y FeCl₃); cumarinas (Prueba de Erlich); esteroides y terpenos (Prueba de Liberman-Burchard y Rhosenthalert); flavonoides (Prueba de Shinoda y de NaOH); glicósidos cianogénicos (Prueba de Gringnard); purinas (Prueba de HCL); quinonas (Prueba de Hidróxido de amonio, H₂SO₄ y Borntrager); saponinas (Prueba de Espuma) y taninos (Prueba de Gelatina y FeCl₃, K₃[Fe(CN)₆]). Todas estas pruebas se realizaron siguiendo los métodos reportados por señaladas por Sahgal *et al.* (2009) y Usman *et al.* (2009).

Aislamiento de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

La cepa de *Cmm* se obtuvo de muestras de tallos y hojas de plantas de tomate Saladette variedad Rio grande con síntomas de la enfermedad (Figura 4), estos se obtuvieron de la zona productora del municipio de Ahome, en el Estado de Sinaloa. Se desinfectaron con una solución de cloro al 3 % durante 3 min, posteriormente se enjuagaron con agua destilada estéril tres veces y se dejó secar sobre papel estroza estéril. Una vez secas, las muestras se maceraron en bolsas de maceración, se tomó un tubo cónico con 9 ml de agua destilada estéril y se le agregó 1 mL de líquido de la maceración de las muestras, de este se realizó una dilución de 1×10^{-6} , y posteriormente se sembró en un medio King B (KB) y se re-aislaron las colonias con crecimiento similar al de *Cmm*, se eligieron las que presentaron morfología parecida a la cepa de interés y finalmente se les realizaron pruebas bioquímicas propuestas por Shaad (2001).



Figura 4. Tallos y hojas colectados con síntomas característicos de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en tomate.

Identificación molecular de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Se realizó la extracción de ADN de acuerdo con la metodología de Doyle & Doyle (1990), con algunas modificaciones. Para la reacción de la PCR de punto final se utilizaron los primers CMM5F (5'GCGAATAAGCCCATATCAA3') y CMM6R (5'CGTCAGGAGGTCGCTAATA3') específicos para este patógeno (Dreier *et al.*, 1995; Frías-Pizano *et al.*, 2016). Para la reacción de PCR se emplearon 7µL de Taq&GoT Mastermix (MB Biomedicals), 5µL de cada primer y 1µL de ADN. El programa de reacción fue: temperatura inicial de 95°C durante 3 min (primera etapa de desnaturalización), 94°C por 30 seg (segunda etapa de desnaturalización), 55°C por 1 min (alineamiento), 72°C por 1 min (extensión) y 72°C por 5 min, con un total de 30 ciclos, en un termociclador MaxyGene de la marca AxyGene. Posteriormente se realizó la electroforesis mediante un buffer TBE 1X con un gel de agarosa al 1.2%, para la visualización del gel se utilizó un fotodocumentador UVP.

Efectividad Antibacteriana de los Extractos de Plantas sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* *in vitro*

Ensayo de microdilución

Se realizó mediante la técnica de microdilución en placa descrita por Tucuch-Pérez *et al.* (2020), los tratamientos fueron los extractos resuspendidos metanólicos de las hojas de *A. striata* y tallos de *F. splendens*. Para esto se usaron microplacas de poliestireno de 96 pozos; en la Figura 5 se puede observar el arreglo de los tratamientos y las concentraciones utilizadas en el experimento, empleando una placa para cada extracto.

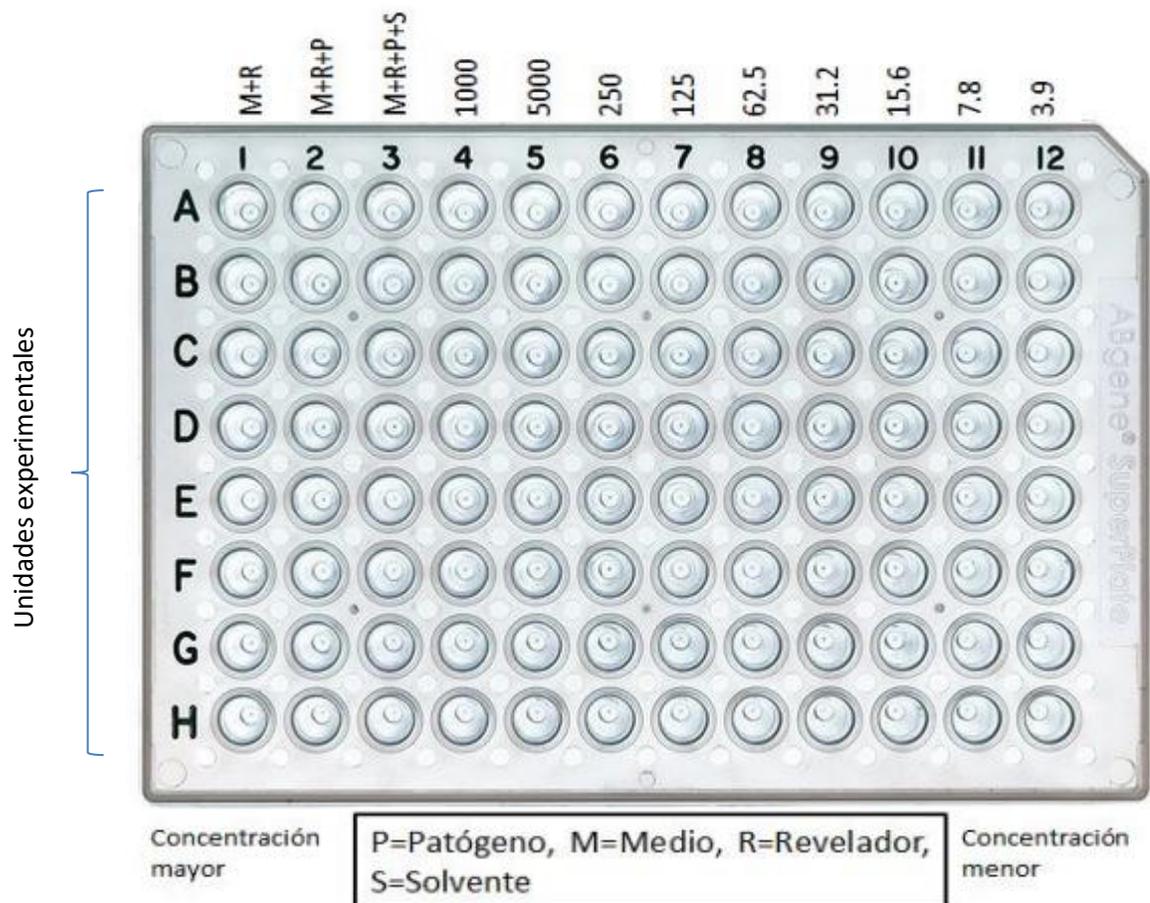


Figura 5. Arreglo de los extractos de plantas y concentraciones en microplacas.

El procedimiento para realizar el bioensayo fue el siguiente: en los 96 pozos se colocaron 100 μ L de medio líquido de Caldo Nutritivo y 40 μ l de cloruro de 2,3,5 trifeniltetrazolio al 0.01% como indicador de crecimiento; la columna uno correspondió al testigo negativo (medio + revelador), la columna dos correspondió al testigo positivo (medio + revelador + *Cmm*), la columna tres correspondió al testigo solvente el cual se preparo en una relación 1:1 (v/v) de agua y metanol (medio + revelador + *Cmm* + solvente); se preparó una solución de cada extracto a una concentración de 2000 mg/L y se colocaron 100 μ L del extracto a partir de la columna cuatro, se mezclaron y se transfirieron 100 μ L a la siguiente columna, así sucesivamente realizando diluciones seriadas al 50%, obteniendo concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.62, 7.81, 3.9 mg/L; finalmente a partir de la columna dos, a todos las cavidades se les agregó 10 μ L de una suspensión en caldo nutritivo de *Cmm* a una concentración de 1×10^6 unidades formadoras de colonias bacterianas (UFC) UFC/mL.

Cada microplaca se consideró una repetición con 8 unidades experimentales, y se realizaron tres repeticiones por tratamiento; se incubaron a 26°C por 48 h y finalmente se realizó una lectura de absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro (Thermo scientific multiskan go 51119200, USA). Se consideró crecimiento positivo de la bacteria (*Cmm*) a los tratamientos donde el pozo presentó un color rojizo a violeta y negativo a los que no presentaron ningún color, además de sus respectivos valores de absorbancia.

Porcentaje de inhibición

El porcentaje de inhibición se determinó mediante la fórmula propuesta por Arredondo-Valdés *et al.*, (2021):

$$\text{Porcentaje de inhibición} = (1 - (As/Ac)) (100)$$

Ac: Absorbancia de la solución control (crecimiento de la bacteria + solvente + medio en una relación 1:1 v/v)

As: Absorbancia de la solución muestra (Actividad del extracto metanólico de *A. striata* y *F. splendens* sobre el crecimiento de *Cmm*).

Análisis estadístico

Se determinó la CI_{50} y CI_{90} mediante un análisis Probit utilizando el software SAS V9.0., con los resultados obtenidos se realizó análisis de varianza con las concentraciones inhibitorias; en el estudio se evaluaron los tratamientos con tres repeticiones y se realizaron pruebas de rango de Tukey ($p < 0.05$)

Efectividad biológica de los extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bajo condiciones de invernadero

Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en el invernadero del Departamento de Parasitología (25°21'08.01"N y 101°01'38.00"O a 1788 m.s.n.m) perteneciente a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México, durante el ciclo otoño-invierno del 2021.

Material vegetativo y sustrato

Se utilizaron plantas de tomate tipo variedad Rio Grande, de 25 días después de la siembra (DDS) y con altura de 9 cm aproximadamente. Se prepararon vasos de unicel de 1 L, y se les agregó 800 g de sustrato; el cual prepararon con 45 % suelo (previamente pasteurizado), 45 % peat moss y 10% perlita.

Diseño experimental

Se estableció un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Los tratamientos con extractos vegetales fue la concentración

inhibitoria CI_{90} obtenida en el bioensayo *in vitro*. En el Cuadro 2 se pueden apreciar los tratamientos utilizados en este experimento. Todos los datos de las variables evaluadas se sometieron a análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Tratamientos empleados para determinar su efectividad biológica contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Concentración
T1. Testigo Absoluto	-
T2. Testigo Inoculado	<i>Cmm</i>
T3. Extractos de Hojas <i>A. striata</i>	<i>Cmm</i> + 1828 mg/L
T4. Extractos de Tallos <i>F. splendens</i>	<i>Cmm</i> + 1736 mg/L
T5. Biobacter [®]	<i>Cmm</i> + 1 L/ha

Inoculación y trasplante

Las plántulas fueron inoculadas después de una semana del trasplante en los vasos de unicel. Para esto, se les realizaron heridas en la superficie de las primeras dos hojas verdaderas y el tallo con un hisopo, posteriormente se asperjaron las heridas con una solución de 400 μ L de *Cmm* a una concentración de 1×10^6 UFC/mL. Posteriormente las plantas se dejaron reposar por 20 min. para después aplicar los tratamientos con un volumen total de 3 000 μ L/aplicación con los extractos y el producto comercial Biobacter, una vez que fueron aplicados los tratamientos a las plantas se les colocaron vasos de plástico de un litro con agujeros de modo que actuara como cubierta, y se le colocó una tela tipo organza (de manera que la planta pudiera transpirar), esto para contener el efecto de los tratamientos aplicados. Este vaso se dejó por un día, posteriormente se retiró y solo se colocó después de cada aplicación.

Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos se aplicaron mediante bombas aspersoras de 1L. Se realizaron tres aplicaciones, la primera se realizó después de la inoculación de la bacteria; las otras aplicaciones se realizaron a los 7 y 14 días después de la primera aplicación, dirigiendo la aspersion a la parte aérea y base del tallo.

Variables evaluadas

Se evaluó la incidencia y severidad de la enfermedad, tanto en follaje como los tallos de las plantas. De igual forma, se evaluaron parámetros morfométricos, tales como: peso fresco y seco de la biomasa vegetal, altura de planta, longitud de raíz y diámetro de tallo.

Evaluación de incidencia y severidad de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en plantas de tomate

Se evaluó la incidencia de la enfermedad expresada como por ciento de plantas enfermas, y se determino de la siguiente manera:

$$\text{Incidencia (I)} = \text{No. de plantas enfermas} / \text{Total de plantas muestral} \times 100$$

Para la severidad de *Cmm* en la planta de tomate se contempló el porcentaje del órgano enfermo, en este caso las hojas afectadas variando de 0 a 100, parámetro que refleja con precisión la relación de la enfermedad con respecto al daño que provoca a la planta, se utilizó una escala cuantitativa de los síntomas de marchitamiento propuestas por Mohd Nadzir *et al.* (2019): 0 = Sin síntomas, 1 = 0-25 % de hojas marchitadas en la planta, 2 = 26-50 % de hojas marchitadas en la planta, 3 = 51-75 % de hojas marchitadas en la planta, 4 = 76-100 % de hojas marchitadas en la planta y 5 = Plantas muertas.

Peso fresco de la biomasa aérea y de raíz (g)

Se midió al final del ensayo, para esto se separó la parte aérea de las raíces, se procedió a pesarlas con una báscula digital Scot Pro marca Oahus con capacidad de 6000 g.

Peso seco de la biomasa aérea y de raíz (g)

Las plantas se depositaron en bolsas de papel estraza y se colocaron en una estufa de secado a 50 °C durante 5 días, pasado ese tiempo se procedió a pesarlas con una báscula digital Scot Pro marca Oahus con capacidad de 6000 g.

Altura de planta (cm)

Se midió al final del ensayo usando una regla de 30 cm de alcance, para la medición se tomó en cuenta desde la superficie del sustrato hasta el punto de abscisión de la última hoja emergida.

Longitud de raíz (cm)

La longitud de raíz se midió al final del ensayo; para esto las raíces se lavaron con agua para quitar el exceso de tierra, posteriormente se utilizó una regla de 30 cm de alcance, se midió desde el cuello del tallo donde empieza la raíz, hasta el otro extremo de las raíces.

Diámetro de tallo (mm)

Esta variable se midió utilizando un vernier digital al final del ensayo, se tomó el tallo a un centímetro del sustrato y se procedió a ajustar el vernier al tallo y se tomó la lectura.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación Bioquímica de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Se realizaron pruebas preliminares a las cepas aisladas de las muestras de las plantas de tomate con posible presencia del cancer bacteriano causado por *Cmm*, de las cuales la cepa nombrada “CV1” fue la que dio resultados positivos a los de la bacteria *Cmm* (Cuadro 3).

Cuadro 3. Pruebas bioquímicas realizadas a la cepa “CV1”

Prueba	Reacción CV1	Resultado
Crecimiento en B de King	+	+
Crecimiento a 28°C	+	+
Colonias amarillas, mucoides y convexas	+	+
Tinción de Gram	+	+
Prueba de RYU	-	+
Oxidasa	-	+
Catalasa	+	+
Hidrólisis de esculina	+	+

Identificación molecular de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

La PCR obtenida con los primers específicos CMM5F y CMM6R confirmó la especie *Cmm* (Fig 6) obteniendo productos amplificados del ADN de 608 pb (Dreier *et al.*, 1995; Frías-Pizano *et al.*, 2016).

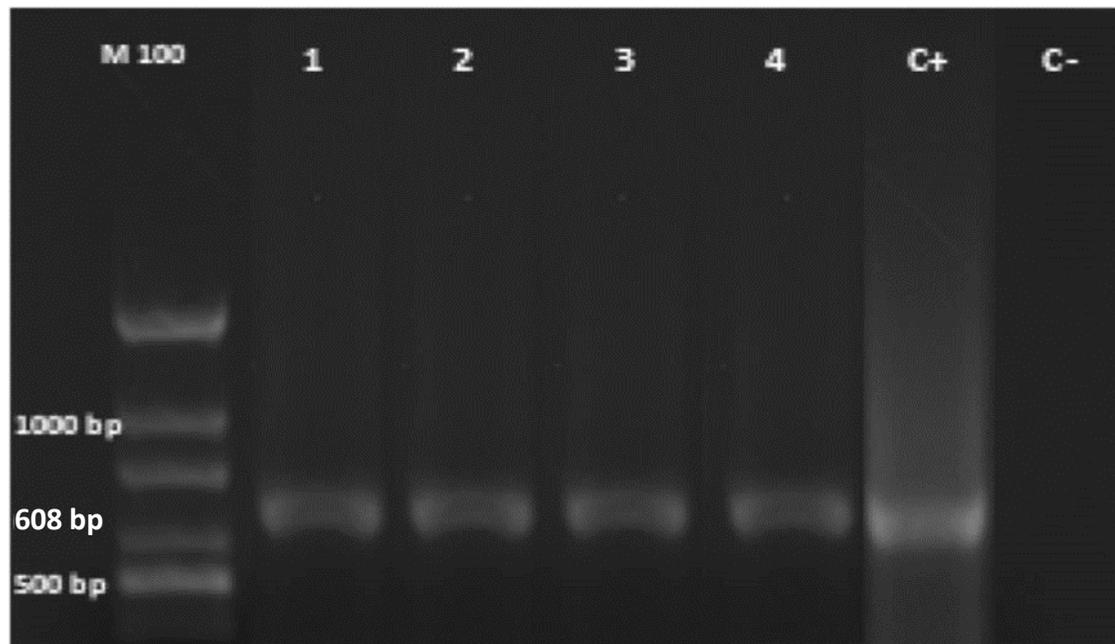


Figura 6. Identificación molecular de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Carril “M” corresponde al marcador molecular de 10, 000 bp, Carriles 1, 2, 3 y 4 corresponden a la misma cepa (CV1), extraída de las plantas de tomate colectadas con síntomas de *Cmm*, carril 5 corresponde a un control positivo (C+) (*Cmm*) y el carril 6 a un control negativo (C-) (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*). *Cepas control + (*Cmm*) y – (*X. campestris*) fueron obtenidas de la colección microbiológica del laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la UAAAN.

Fitoquímicos identificados en los extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens*

El extracto metanólico de *A. striata* presento: alcaloides, carbohidratos, flavonoides (flavonones, flavonas, flavononas y chalconas), saponinas (triterpenoides y esteroidales), taninos (fenoles), quinonas (antraquinonas y benzoquinonas), así como cumarinas (Cuadro 4). Se han encontrado en *A. striata* presencia de flavonoles (derivados de quercetina) (Almaraz-Abarca *et al.*, 2013), así como saponinas esteroidales (Marker y López, 1947). La presencia de saponinas esteroidales en el género *Agave* ha sido bien documentada (Scout, 1988; Dewick, 1997; Dueñas, 2016), así como compuestos alcaloides, flavonoides, terpenoides, cumarinas, azúcares reductores, inulina, fructanos, entre otros (Verástegui, 2000; Chigodi *et al.*, 2013; Almaraz-Abarca *et al.*, 2013). En las especies de *A. salmiana* y *A. fourcroydes* se han reportado saponinas, flavonoides, alcaloides, taninos

(Valdivia *et al.*, 2018; Delgado-Alvarado, 2021). Así también se han encontrado presencia de carbohidratos, azúcares reductores, quinonas y lactonas sesquiterpénicas en hojas de *A. Americana* (Cervantes-Tenorio y Reyna-Pizán, 2019), y glucósidos cardiotónicos en *A. americana* y *A. angustifolia* (Campos-Camacho *et al.*, 2020). Por su parte la especie *F. splendens* presentó: alcaloides, carbohidratos, flavonoides (flavonones, flavonas, flavononas y chalconas), azúcares reductores, saponinas (triterpenoides), taninos (derivados Ácido Galico, derivados Cateoles y fenoles) y quinonas (antraquinonas y benzoquinonas) (Cuadro 4). Bate-Smith (1964), describe que los constituyentes más característicos del género *Fouquieria* corresponden a flavonoides (leucocianidina, kaempferol y quercetina), ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido elágico, cumarina y escopoletina. Por su parte Rodríguez-Garza (2010), encontró en *F. splendens* presencia de grupos carbonilo, oxidrilos fenólicos, esteroides y metilesteroides, cumarinas, saponinas, sesquiterpenlactonas y flavonoides. Dentro de la composición del ocotillo se descubrió que tanto los tallos como las hojas producían soluciones amarillas producto de varios flavonoides como el kaempferol, ermanina y cetina, además flavonas apigenina, acetina, luteolina y crisoeriol. Entre estos, apigenina y ermanina, rutina y quercetina-3-O-glucósido fueron los principales compuestos fenólicos en las hojas (Wollenweber, 1994; Monreal-García *et al.*, 2019), también se han encontrado triterpenos, triterpenoides, saponinas esteroideas y compuestos iridoideos (Takhtajan, 2009), y dentro de las flores fitoesteroides y alcanos de cadena larga y corta; y en el tallo compuestos como el Dammaran-triterpeno, el fouquierol y el isofouquierol, así como el dammarendiol en las raíces (Hegnauer, 1989; Waterman 1985). Por otro lado, en el ocotillo se ha aislado el pyxinol y el ocotillool (Pokhilo y Uvarova, 1988; Bi Y. *et al.*, 2017).

Cuadro 4. Fitoquímicos identificados en extractos metanólicos.

	A	C	F			GC	AZ		S			T			Q			Cu	P	Ca
	F1	F2	F3	F4		Az1	Az2	S1	S2	T1	T2	T3	T4	Q1	Q2	Q3				
<i>A. striata</i> hoja	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	
<i>F. splendens</i> tallo	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	

+ = Fitoquímico presente, - = Fitoquímico ausente; A = Alcaloides, C = Carbohidratos, F = Flavonoides, GC = Glucósidos Cianogénicos, AZ = Azúcares Reductores, S = Saponinas, T = Taninos, Q = Quinonas, Cu = Cumarinas, P = Purinas, Ca = Carotenoides, F1 = Flavonones, F2 = Flavonas, F3 = Flavononas, F4 = Chalconas, Az1 = , Az2, S1 = Triterpenoides, S2 = Esteroidal, T1 = Gelatina, T2 = Derivados Ácido Galico, T3 = Derivados Cateoles, T4 = Fenoles, Q1 = Antraquinonas, Q2 = Benzoquinonas, Q3 = Antronas

Efectividad biológica de los extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in vitro.

Los extractos metanólicos obtenidos de las hojas de *A. striata* y de los tallos de *F. splendens* mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Cmm* (Figura 7 y Cuadro 5). Los resultados obtenidos muestran que *A. striata* inhibió desde 125 mg/L con 20.86%, mientras que *F. splendens* desde 62.5 mg/L con 7.69%, por su parte el análisis Probit estimó una CI_{50} y CI_{90} de 389.28 y 1828 mg/L para *A. striata*, y 308.82 y 1736 mg/L para *F. splendens*; estos últimos valores son estadísticamente más bajos a los obtenidos con *A. striata*.

Cuadro 5. Concentraciones de CI_{50} y CI_{90} de los extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in vitro.

Tratamientos	CI_{50}	CI_{90}
<i>A. striata</i>	389.28 mg/L ^a	1828 mg/L ^a
<i>F. splendens</i>	308.82 mg/L ^b	1736 mg/L ^b

*Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $p \leq 0.05$).

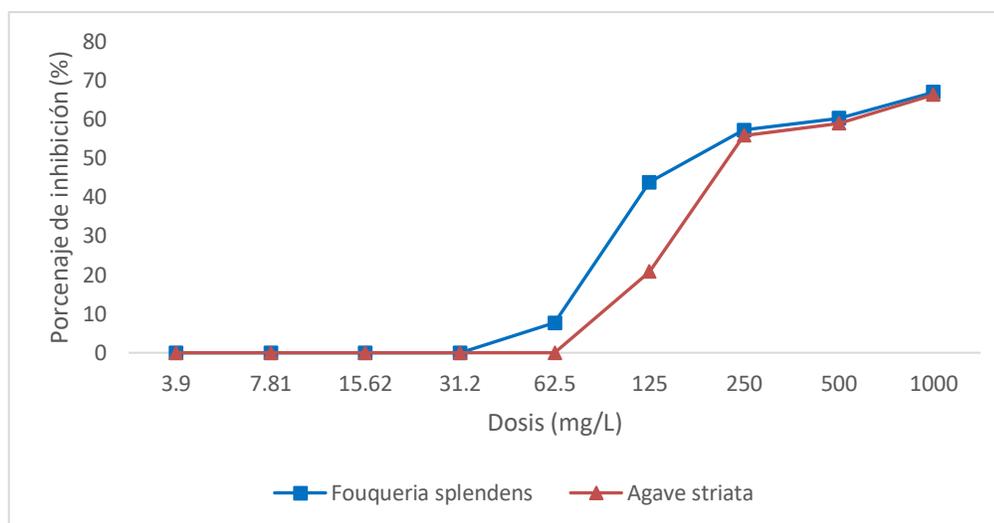


Figura 7. Porcentaje de inhibición de los extracto de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

El género *Agave* ha mostrado actividad antibacteriana con las especies de *A. argentium*, *A. stricta*, *A. americana* y *A. angustifolia* los cuales mostraron actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* que afectan la salud humana (Fontanills, 2017; Krishnaveni, 2017; López-Romero *et al.*, 2018; Camacho-Campo *et al.*, 2020). Así mismo la especie *F. splendens* ha mostrado efecto antibacteriano contra *S. aureus* y *E. coli* (Rodríguez-Garza, 2010; Vega-Menchaca *et al.*, 2013; Ávila-Reyes, 2013), *Klebsiella pneumoniae* (Ávila-Reyes, 2013) y contra *B. cereus*, *B. subtilis* (Rodríguez-Garza, 2010). Sin embargo, la actividad antibacteriana de extractos vegetales contra *Cmm* ya ha sido reportada por Arredondo-Valdés *et al.* (2020) con extractos etanólicos de hojas de *Magnolia tamaulipana* reportando una CI_{50} y CI_{90} de 64.75 y 76.73 mg/L; además Arredondo-Valdés *et al.* (2021) utilizaron extractos etanólicos de hojas de *Moringa oleifera* contra *Cmm*, obteniendo una CI_{50} de 350.48 mg/L. Pérez-Pérez *et al.* (2020) señalan que los extractos metanólicos, hexánico y de acetato de etilo a partir de raíces de *Jatropha dioica* Seseé, también inhibieron el crecimiento de *Cmm*, con una mejor respuesta con acetato de etilo con una CI_{50} de 2.0-mg/mL-

1. También se reporta actividad antibacteriana con extractos de *Calendula officinalis* y *Echinacea purpurea* sobre *Cmm* (Aksoy et al., 2021).

Efectividad biológica de los extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* y sobre el desarrollo del cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero.

Incidencia y severidad de la enfermedad

Los resultados obtenidos muestran que las plantas tratadas con el extracto de *F. splendens* son las que presentan la incidencia mas baja con 25 %, sin embargo, la incidencia es estadísticamente similar a la observada en el Testigo Comercial (Biobacter), al Testigo Inoculado y al extracto de *A. striata* (Cuadro 6). Del mismo modo, la severidad fue más baja en las plantas tratadas con el extracto de *F. splendens*, con un valor de 0.25 siendo estadísticamente similar a las plantas tratadas con el extracto de *A. striata* y Biobacter, pero estadísticamente inferior a la del Testigo Inoculado, el que alcanzo una severidad de 3.25 lo que representa un 51 a 75% de las hojas muertas de la planta. En este sentido el desarrollo de la enfermedad causada por *Cmm* fue alta, considerando que la incidencia y severidad obtenida en el Testigo Inoculado alcanzo el 100% de las plantas, con una severidad donde las plantas presentaban alrededor del 75% de las hojas marchitas. Bajo este contexto podemos indicar que la protección que los extractos de *F. splendens* y *A. striata* proveen en el control de la enfermedad del cáncer bacteriano es adecuada, sobresaliendo el extracto de *F. splendens* por presentar la incidencia y severidad más baja, incluso que el testigo comercial. El efecto obtenido sobre la disminución de la enfermedad de *Cmm* en las plantas tratadas puede ser debido a que los extractos de *A. striata* y *F. splendens* presentaron fitoquímicos tales como: alcaloides, carbohidratos, flavonoides, saponinas, taninos, quinonas, cumarinas, sin embargo, *F. splendens* también presento azucres reductores y mayor presencia de taninos. Dichos compuestos presentan actividad antibacteriana al degradar y alterar la pared celular, inhiben la actividad enzimática e inactiva tóxicos de origen microbiano (Sepúlveda-

Jiménez *et al.*, 2003; Ávalos *et al.*, 2009; Andrade-Bustamante *et al.*, 2016). La presencia de taninos hidrolizables, en su mayoría elagitaninos y galotaninos (precursores del ácido gálico) han mostrado efectividad antibacteriana, pues tienen la capacidad de formar enlaces con glicoproteínas presentes en las membranas bacterianas, causando inestabilidad e inhibición a varias funciones vitales de los microorganismos, como: protección celular, transporte de nutrientes o proteínas y obtención de energía (Rosero-Ortiz, 2021).

Cuadro 6. Incidencia y Severidad en follaje en las plantas de tomate por *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* con diferentes tratamientos.

Tratamientos	Incidencia	Severidad
1. Testigo Absoluto	0 ^a	0 ^a
2. Testigo Inoculado	100 ^b	3.25 ^b
3. <i>A. striata</i>	50 ^{ab}	1.00 ^a
4. <i>F. splendens</i>	25 ^{ab}	0.25 ^a
5. Biobacter [®]	50 ^{ab}	0.50 ^a

*Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $p \leq 0.05$).

Parámetros morfométricos evaluados

Los resultados obtenidos de los parámetros agronómicos evaluados, muestran que los tratamientos de *F. splendens* y Biobacter son similares estadísticamente con el testigo absoluto en diámetro de tallo, altura de tallo y tamaño de raíz (Cuadro 7), y solo Biobacter en peso seco presentó similitud estadística con testigo absoluto, esto se puede entender ya que el producto Biobacter en su formulación orgánica además de aceites orgánicos, está compuesto por esporas de *Bacillus* spp. los cuales promueven el desarrollo de la planta, por otro lado *A. striata* mostró similitud

estadística en diámetro de tallo con *F. splendens* y Biobacter. Considerando que *A. striata* mostro similitud estadística en altura de tallo, tamaño de raíz, peso fresco y peso seco con el Testigo Inoculado, se puede observar que no tuvo tanta eficacia en el control de la enfermedad, así también *F. splendens* mostro similitud estadística en peso fresco y peso seco con el testigo Inoculado, lo que podría indicar que estos extractos no tienen acción bioestimuladora de crecimiento en las plantas tratadas.

Cuadro 7: Parámetros morfométricos de plantas de tomate inoculadas con *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* tratadas con diversos tratamientos bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Diámetro de tallo (mm)	Altura de Tallo (cm)	Tamaño de raíz (cm)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
1. Absoluto	4.06±0.73 ^a	13.8±1.18 ^a	6.55±0.91 ^a	3.86±0.57 ^a	0.40±0.08 ^a
2. Inoculado	2.78±0.27 ^c	6.3±0.91 ^c	3.92±0.62 ^b	2.06±0.14 ^b	0.21±0.02 ^c
3. <i>A. striata</i>	3.54±0.23 ^b	9.25±1.08 ^{bc}	5.5±0.32 ^{ab}	2.39±0.51 ^b	0.26±0.03 ^{bc}
4. <i>F. splendens</i>	3.78±0.17 ^{ab}	12.9±0.56 ^a	6.75±0.75 ^a	2.81±0.19 ^{ab}	0.32±0.03 ^{abc}
5. Biobacter	3.18±0.14 ^{ab}	11.4±1.80 ^{ab}	5.57±0.25 ^a	3.24±0.97 ^{ab}	0.34±0.03 ^{ab}

*Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

- Los compuestos fitoquímicos determinados en los extractos metanólicos de *A. striata* y *F. splendens* pertenecen a las familias de los alcaloides, carbohidratos, flavonoides, saponinas, taninos, quinonas, cumarinas, sin embargo, *F. splendens* tuvo mayor presencia de taninos, flavonoides y presencia de azúcares reductores.
- En el ensayo *in vitro* ambos extractos mostraron actividad antibacteriana sobre *Cmm*, sin embargo el extracto con *F. splendens* mostró inhibición a menores concentraciones que con el extracto de *A. striata*.
- En el experimento bajo condiciones de invernadero el extracto de *F. splendens* mostró mayor reducción en la incidencia y severidad, seguido de Biobacter, y por último el extracto de *A. striata*. En cuanto a los parámetros morfométricos los tratamientos con mayor efectividad biológica contra *Cmm* fueron Biobacter y *F. splendens*.

LITERATURA CITADA

- Abo-Elyousr, K.A., Bagy, H.M.K., Hashem, M., Alamri, S.A. and Mostafa, Y.S. 2019. Biological control of the tomato wilt caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* using formulated plant growth-promoting bacteria. Egyptian Journal of Biological Pest Control 29(1): 1-8.
- Almaraz-Abarca, N., González-Elizondo, M., Campos, M., Ávila-Sevilla, Z.E., Delgado-Alvarado, E.A. and Ávila-Reyes, J.A. 2013. Variability of the foliar felon profiles of the *Agave victoriae-reginae* complex (Agavaceae). Botanical Sciences 91(3): 295-306.
- Alvarez, A.M., Kaneshiro, W.S. and Vine, B.G. 2004. Diversity of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* populations in tomato seed: What is the significance. Acta Horticulturae. 69: 205-214.
- Aksoy, H.M., Arslanoğlu, Ş.F., Edbeib, M.F., Kaya, Y. y Marakli, S. 2021. Actividad antibacteriana de los extractos de *Calendula officinalis* y *Echinacea purpurea* contra el agente causal del cancro bacteriano del tomate: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 20: 496-502.
- Andrade-Bustamante, G., García-López, A.M., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzim, C.E., Borboa-Flores, J. y Rueda-Puente, E.O. 2017. Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. 49(1):127-142.

- Arie, T., Takahashi, H., Kodama, M. and Teraoka, T. 2007. Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnology* 24(1): 135-147.
- Arredondo-Valdés, R., Chacón-Hernández, J.C., Reyes-Zepeda, F., Hernández-Castillo, F.D., Anguiano-Cabello, J.C., Heinz-Castro T.Q. and Mora-Ravelo S.G. (2020). *In vitro* antibacterial activity of *Magnolia tamaulipana* against tomato phytopathogenic bacteria. *Plant Protection Science* 56(4): 268–274.
- Arredondo-Valdés, R., Hernández-Castillo, F.D., Rocandio-Rodríguez, M., Anguiano-Cabello, J.C., Rosas-Mejía, M., Vanoye-Eligio, V., Ordaz-Silva, S., López-Sánchez, I.V., Carrazcvo-Peña, L.D., Chacón-Hernández, J.C. 2021. *In vitro* Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Ethanolic Extract against Tomato Phytopathogenic Bacteria. *Phyton* 90(3): 1299.
- Ávalos, G.A. y Pérez-Urria, C.E. 2009. Serie Fisiología Vegetal. *Reduca Biología* 2(3): 119-145.
- Balestra, G.M., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E. and Quattrucci, A. 2009. Antibacterial effect of *Allium sativum* and *Ficus carica* extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection* 28: 807-811.
- Bahaman, A.H., Wahab, R.A., Abdul-Hamid, A.A., Abd-Halim, K.B. and Kaya Y. 2021. Molecular docking and molecular dynamics simulations studies on β -glucosidase and xylanase *Trichoderma asperellum* to predict degradation order of cellulosic components in oil palm leaves for nanocellulose preparation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 39(7): 2628-2641.
- Basim, H., Yegen and O., Zeller, W. 2000. Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria/Die

antibakterielle Wirkung des ätherischen Öls von *Thymbra spicata* L. var. *spicata* auf phytopathogene Bakterien. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection 279(3): 279-284.

Bate-Smith E.C. 1964. Chemistry and taxonomy of *Fouquieria splendens* Engelm: A new member of the asperuloside group. Phytochemistry 3(5): 623–625.

Bi, Y., Liu, X.X., Zhang, H.Y., Yang, X., Liu, Z.Y., Lu, J., Lewis, P.J., Wang, Ch.Z., Xu, J.Y., Meng, Q.G., Ma, K. and Yuan, Ch.S. 2017. Synthesis and antibacterial evaluation of novel 3-substituted ocotillol-type derivatives as leads. Molecules 22(4): 1–10.

Blancard, D. 2011. Enfermedades del tomate. Identificar, conocer, controlar. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 212 pp.

Borboa-Flores, J., Rueda-Puente, E.O., Acedo-Félix, E., Ponce, J.F., Cruz, M., Grimaldo-Juárez, O. y García-Ortega, A.M. 2009. Detección de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en el tomate del estado de Sonora, México. Revista Fitotecnia Mexicana 32(4): 319-326.

Borboa-Flores, J., Rueda-Puente, E.O., Acedo-Félix, E., Ponce, J.F., Cruz-Villegas, M., García-Hernández, J.L. y Ortega-Nieblas, M.M. 2010. Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Tropicales y Subtropicales Agroecosistemas 12(3): 539-547.

CABI. 2021. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc

- Camacho-Campos, C., Pérez-Hernández, Y., Valdivia-Ávila, A., Rubio-Fontanills, Y. y Fuentes-Alfonso, L. 2020. Evaluación fitoquímica, antibacteriana y molusquicida de extractos de hojas de *Agave* spp. *Revista Cubana de Química* 32(3): 390-405.
- Carlton, W.M., Braun, E.J. and Gleason, M.L. 1998. Ingress of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* into tomato leaves through hydathodes. *Phytopathology* 88: 525–529.
- Cervantes-Tenorio, R.M. y Reyna-Pizán, T.N. 2019. Identificación fitoquímica y aislamiento de microorganismos endófitos de *Agave americana*. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú. 21-23 pp.
- Chigodi, M.O., Samoei, D.K. and Muthangya, M. 2013. Phytochemical screening of *Agave sisalana* Perrinele aves (waste). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 4(4): 200-204.
- Chirinos, J., Olivares, B. y Guevara, E. 2013. Efectividad biológica de extractos vegetales en el control *in vitro* de la bacteria fitopatógena *Xanthomona*. *Multiciencias* 13(2): 115-121.
- Davis, M.J., Gillaspie, A.G., JrVidaver, A.K. and Harris, R.W. 1984. *Clavibacter*: a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov, subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. *nov.*, pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and bermudagrass stunting disease. *International Journal of Systematicc and Evolutionary Microbiology* 34: 107–117.

- De León, L., Sivero, F., López, M. and Rodríguez, A. 2011. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, a seed born tomato pathogen: Healthy seeds are still the goal. *Plant Diseases* 95(11): 1328-1339.
- Delgado-Alvarado, E.A., Ávila-Reyes, J.A., Torres-Ricario, R., Naranjo-Jiménez, N., Chaidez-Ayala, A.I. y Almaraz-Abarca N. 2021. Caracterización fitoquímica de *Agave shrevei* Gentry. *e-CUCBA* (16): 56-59.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Dreier, J., Bermpohl, A. and Eichenlaub, R. 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology* 85: 462- 468.
- Durán, C.A. and Waquil, P.D. 2019. Agricultura orgánica, maíz criollo y extensión rural: percepciones de profesionales salvadoreños. *Realidad y Reflexión* 49(49): 106-126.
- EFSA (2014). Scientific opinion on the pest categorisation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al.* *EFSA Journal* 12(6): 1-26.
- Eichenlaub, R., Gartemann, K.H. and Burger, A. 2006. *Clavibacter michiganensis*, a group of Gram-positive phytopathogenic bacteria. In *Plant-Associated Bacteria* 14(07): 385–421.
- EPPO. 2016. PM 7/42 (3) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *European and Mediterranean Plant Protection Organization (EP Bulletin* 46: 202– 225.

- Escobar, H. y Lee, R. 2009. Manual de producción de tomate bajo invernadero (en línea). v.2. 2 ed. Bogotá, Colombia.
- FAO.2020. FOASTAT. [online] Available at: <http://www.fao.org/foostat/es/#home/>
- FAOSTAT. 2020. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Estadísticas. <http://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Fatmi, M. and Schaad, N.W. 1988. Semiselective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganense* ssp. *michiganense* from tomato seed. *Phytopathology* 78: 121–126.
- Fatmi, M. and Schaad, N.W. 2002. Survival of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in infected tomato stems under natural field conditions in California, Ohio and Morocco. *Plant Pathology* 51: 149-154.
- FIRA. 2016. Panorama Agroalimentario: Tomate rojo. Panorama Agroalimentario. 35.
- FIRA. 2019. Panorama Agroalimentario, tomate rojo 2019. <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/06/Panorama-Agroalimentario-Tomate-rojo-2019.pdf>
- Frías-Pizano, J., Acosta-García, G., Sánchez-Rico, K.F., González-Chavira, M.M., Guevara-González, R.G., Torres-Pacheco, I. y Guevara-Olvera, L. 2016. Detección de *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* por PCR en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(6): 1347-1357.
- Gartemann, K.H., Kirchner, O., Engemann, J., Gráfen, I., Eichenlaub, R. and Burger, A. 2003. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: first

steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. *Journal of Biotechnology* 106: 179–191.

Gartemann, K.H., Abt, B., Bekel, T., Burger, A., Engemann, J., Flügel, M., Gaigalat, L., Goesmann, A., Gräfen, I., Kalinowski, J., Kaup, O., MacHardy, A., Meyer, F., Pohlé, S., Ruckert, C., Schneiker, S., Zeller, E.M., Puhler, A. y Eichenlaub, R. 2008. The genome sequence of the tomatopathogenic Actinomycete *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382 reveals a large island involved in pathogenicity. *Journal of Biotechnology* 190: 2138-2149.

Gentry, H.S. 1982. *Agaves of continental North America*. University of Arizona Press, Tucson, Arizona, USA.

Gleason, M.L., Gitaitis, R.D. and Ricker, M.D. 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in Eastern North America. *Plant Disease* 77: 1069–1076.

Gitaitis, R.D., Beaver, R.W. and Voloudakis, A.E. 1991. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in symptomless tomato transplants. *Plant Disease* 75: 834-838.

Gonzalez, A.J. and Trapiello, E. 2014. *Clavibacter michiganensis* subsp. *Phaseoli* subsp. nov., pathogenic in bean. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64(Pt_5): 1752-1755.

Grillo, H., Castro, N., Díaz, A., Martín, J., Fajardo, E. y Púrez, A. 2001. Efectos de extractos alcohólicos de ruda (*Ruta chalepensis* L.) y albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sobre bacterias fitopatógenas. 28(03: 20-23.

- Guerrero, R., Mónaco, C.I., Stocco, M., Rolleri, J. y Guerrero, N. 2017. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. para el control del cáncer bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Amazónica Ciencia y Tecnología 6(1): 9-20.
- Hadas, R.G., Kritsman, Klietman, F., Gefen, T. and Manulis, S. 2014. Comparison of extraction procedures and determination of the detection threshold for *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds. Plant pathology 54(4): 643-649.
- Hausbeck, M.K., Bell, J., Medina-Mora, C., Podolsky, R. and Fulbright, D.W. 2000. Effect of bactericides on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomatoes in the greenhouse and on disease development and crop yield in the field. Phytopathology 90(1): 38-44.
- Hegnauer, R. 1989. Chemotaxonomie Der Pflanzen. In an overview of the distribution and the systematic importance of plant substances. Vol. 8. Birkhäuser-Verlag, Basel. 8: 684–689.
- Henrickson, J. 1969. Anatomy of periderm and cortex of Fouquieriaceae. Aliso 7(1): 97-126.
- Henrickson, J. 1972. A taxonomic revision of the Fouquieriaceae. Aliso 7: 439-537.
- Herman, R.A., Ayepa, E., Shittu, S., Fometu, S.S. and Wang, J. 2019. Essential oils and their applications-A mini review. Advances in Nutrition Food Science 4(4): 1-13.

- Holguín-Peña, R.J., Vázquez-Juárez, R.C. and Rueda-Puente, E.O. 2006. Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomato in the Baja California Peninsula of Mexico. *Plant Disease* 90(12): 1550-1550.
- Huang, R. and Tu, J.C. 2001. Effects of nutrient solution pH on the survival and transmission of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in hydroponically grown tomatoes. *Plant Pathology* 50(4): 503-508.
- Jasso de Rodríguez, D., Trejo-González, F.A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jimenez, M.L.V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F.D., Villarreal-Quintanilla, J.A. and Peña-Ramos, F.M. 2015. Antifungal activity *in vitro* of *Rhizoglyphus* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Industrial Crops and Products* 75: 150-158.
- Jones, J.B., Jones, J.P., Stall, R.E. y Zitter, T.A. 2001. Plagas y Enfermedades del tomate. Sociedad Americana de Fitopatología. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 26-32 pp.
- Kara, S., Horuz, S., Cetinkaya, Yildiz, R. and Aysan, Y. 2018. Bacterial pathogens on eggplant in Turkey. In: IX International Scientific Agriculture Symposium. Jahorina, Bosnia. 727 pp.
- Kasselaki, A.M., Goumas, D., Tamm, L., Fuchs, J., Cooper, J. and Leifert, C. 2011. Effect of alternative strategies for the disinfection of tomato seed infected with bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences* 58(3-4): 145-147.

- Kawaguchi, A., Tanina, K. and Inoue, K. 2010. Molecular typing and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouses in Japan. *Plant Pathology* 59: 76–83.
- Koike, S.T., Gladders, P. and Paulos, A.O. 2007. *Vegetables Diseases*. London, U.K: Manson Publishing. 320-448 pp.
- Krishnaveni, V. 2017. Investigation of phytochemical and anti-bacterial activity on *Agave americana* methanolic extract for medical applications. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 8(3): 500-505.
- Kunth, C.S. 1824. *Synopsis Plantarum Aequinoctialium*. Vol. 3, F. G. Levrault, Paris. 496.
- Lernsten, N.R. y Carrey, K.A. 1974. "Leaf anatomy of ocotillo (*Fouquieria splendens*: Fouquieriaceae) specially vein endings and associated veinlet elements". *Canadian Journal of Botany* 52: 2017-2021.
- López, M.L. 2016. *Manual técnico del cultivo del tomate (Solanum lycopersicum)*. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria. San José, Costa Rica. 76-80 pp.
- López-Romero, J.C., Ayala-Zavala, J.F., Peña-Ramos, E.A., Hernández, J. and González-Ríos, H. 2018. Antioxidant and antimicrobial activity of *Agave angustifolia* extract on overall quality and shelf life of pork patties stored under refrigeration. *Journal of food science and technology* 55(11): 4413-4423.
- Maeso, D. y Walasek, W. 2015. Evaluación de desinfectantes para prevenir la transmisión de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en tomate mediante tijeras de poda. *Agrociencia Uruguay* 19(1): 77-83.

- Marker, R.E. y López, J. 1947. Sapogeninas esteroides. N° 162. Kappogenina y Furcogenina. *Journal of American Society* 69(10): 2380-2383.
- Maselli, A., Méndez, R., García, J., Briceño, G., Solano, A., Alemán, L., Rosales, L.C. y Velázquez, L. 2008. Evaluación de extractos vegetales para el control de bacterias fitopatógenas de los géneros *Xanthomonas* y *Erwinia*. *Fitosanidad* 12(3): 164.
- Milijasevic, S., Todorovic, B., Potocnik, I., Rekanovic, E. and Stepanovic M. 2009. Effects of copper-based compounds, antibiotics and a plant activator on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouse tomato seedlings. *Pesticide and Phytomedicine* 24: 19-27.
- Mohd-Nadzir, M.M., Vieira-Lelis, F.M., Thapa, B., Ali, A., Visser, R.G.F., van Heusden, A.W. and van der Wolf, J.M. 2019. Development of an *in vitro* protocol to screen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* pathogenicity in different *Solanum* species. *Plant pathology* 68(1): 42-48.
- Monreal-García, H., Almaraz-Abarca, N., Ávila-Reyes, J., Torres-Ricario, R., González-Elizondo, S., Herrera-Arrieta, Y. and Gutiérrez-Velázquez M. V. 2019. Phytochemical variation among populations of *Fouquieria splendens* (Fouquieriaceae). *Botanical Science* 97(3): 398–412.
- Moustaine, M., El Kahkahi, R., Benbouazza, A. and Benkirane, R. 2019. Potential of biological treatments for control of bacterial canker of tomato incited by *Clavibacter michiganensis* spp. *michiganensis* in Morocco. *EurAsian Journal of BioSciences* 13(2): 1481-1488.
- Müller, J., Völksch, B., Eisbein, K. and Griesbach, E. 2000. Induction of resistance to bacterial pathogens in the pathosystem tomato/*Clavibacter*

michiganensis subsp. *michiganensis*: III. Characterization of the resistance induction in tomato cell cultures. *Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection* 107(05): 561-573.

Nandi, M., MacDonald, J., Liu, P., Weselowski, B. and Yuan, Z.C. 2018. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: Bacterial Canker of Tomato, Molecular Interactions and Disease Management. *Molecular Plant Pathology* 19(8): 1-47.

Nevárez-Prado, L.O., Rocha-Gutiérrez, B.A., Néder-Suárez, D., Córdova-Lozoya, M.T., Ayala-Soto, J.G., Salazar-Balderrama, M.I., Ruiz-Anchondo, T.J. and Hernandez-Ochoa, L.R. 2021. El género *Fouquieria*: una revisión de aspectos etnobotánicos, fitoquímica y actividad biológica: The genus *Fouquieria*: description and review of ethnobotanical, phytochemical, and biotechnological aspects. *Tecnociencia, Chihuahua* 15(3): 186-220.

Oh, E.J., Bae, C., Lee, H.B., Hwang, I.S., Lee H.I., Yea M.C., Yim K.O., Lee S., Heu, S., Cha J.S. and Oh, S.C. 2016. *Clavibacter michiganensis* subsp. *capsici* subsp. nov., causing bacterial canker disease in pepper. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66: 4065–4070.

Perez-Leal, R., Torres-Ramos, M., Flores-Cordova, M.A., Gonzalez-Franco, A.C., Hernandez-Rodriguez, A., Soto-Parra, J.M. and Robles-Hernandez, L. 2020. Phytotoxic and dissuasive activity of Chihuahua desert plants. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48(1): 426-435.

Pérez-Pérez, J.U., Guerra-Ramírez, D., Reyes-Trejo, B., Cuevas-Sánchez, J.A. y Guerra-Ramírez, P. 2020. Actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos de *Jatropha dioica* Seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. *Polibotánica* 49: 125-133.

- Pokhilo, N.D. and Uvarova, N.I. 1988. Isoprenoids of various species of the genus *Betula*. *Chemistry of Natural Compounds* 24(3): 273–285.
- Pradhanang, P.M. and Collier, G. 2007. How effective is hydrochloric acid treatment to control *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* contamination in tomato seed?. In II International Symposium on Tomato Diseases 808: 81-86.
- Pradhanang, P.M. and Collier, G. 2009. How effective is hydrochloric acid treatment to control *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* contamination in tomato seed? *Acta Horticulturae* [Proceedings of the Second International Symposium on Tomato Diseases, Kusadasi, Turkey, 8-12.
- Ramírez-Reyes, T., Luna-Rodríguez, M., Noa-Carrazana, J.C., Díaz-Fleischer, F., Sánchez-Velásquez, L.R. and Flores-Estévez, N. 2015. Influence of season and organ on antibacterial activity of *Magnolia dealbata* Zucc. against two phytopathogenic bacteria. *Chemistry and Ecology* 31(1): 47-52.
- Rodríguez-Garza, R.G. 2010. Tamizaje fitoquímico y actividad biológica de *Fouquieria splendens* (Engelmann), *Ariocarpus retusus* (Scheidweiler) y *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lemaire). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma De Nuevo León. Nuevo León, México, 32-35.
- Rosero-Ortiz J.N. 2021. Revisión actualizada sobre las actividades farmacológicas y aplicaciones de los taninos. Artículo Profesional. Facultad de Ciencias Químicas. Quito, Ecuador. 29-35.

- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M.N., Ismail, S. and Mansor, S.M. 2009. Phytochemical and antimicrobial activity of *Swietenia mahagoni* crude methanolic seed extract. *Tropical Biomedicine* 26(3): 274-279.
- Sánchez, E., Heredia, N. and García, S. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species. *International Journal of Food Microbiology* 98(3): 271-279.
- Sarwar, M. 2015. Biopesticides: an effective and environmental friendly insect-pests inhibitor line of action. *International Journal of Engineering and Advanced Research Technology* 1(2): 10-15.
- Scarpari, M., Reverberi, M., Parroni, A., Scala, V., Fanelli, C., Pietricola, C., Zjalic, S., Maresca, V., Tafuri, A., Ricciardi, M.R., Liccheta, R., Mirabilli, S., Sveronis, A., Cescutti, P. y Rizo, R. 2017. 2017. Tramesan, a novel polysaccharide from *Trametes versicolor*. Structural characterization and biological effects. *PloS one* 12(8), e0171412.
- Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. St Paul, Minnesota, USA. APS Press. 398 p.
- Scott, P.E. 2021. Long-term survival and flowering of ocotillo (*Fouquieria splendens*) in Texas: A 33-year perspective. *Journal of Arid Environments*. 193: 104552.
- Secor, G.A., DeBuhr, L. and Gudmestad, N.C. 1988. *Plant Disease* 72(7): 585–588.
- Sen, Y., Van der Wolf, J., Visser, R.G.F. and Van Heusden, S. 2015. Bacterial canker of tomato: current knowledge of detection, management, resistance, and interactions. *Plant Disease* 99(1): 4-13.

- Sen, Y., Aysan, Y., Mirik, M., Ozdemir, D., Meijer-Dekens, F., van der Wolf, J.M., Visser, R.G.F. and van Heusden, S. 2018. Genetic characterization of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* population in Turkey. *Plant Dis* 102: 300–308.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H. y Rocha-Sosa, M. 2003. La participación de metabolitos secundarios en la defensa de plantas. *Revista mexicana de Fitopatología* 21(3): 354-363.
- SIAP. 2020. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Agricultura protegida. <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>
- SIAP. 2021. Escenario mensual de productos agroalimentarios. Jitomate Rojo. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/653162/Escenario_jitomate_jun21.pdf
- Simonetti, G., Pucci, N., Brasili, E., Valletta, A., Sammarco, I., Carnevale, E., Pasqua, G. and Loreti, S. 2020. *In vitro* antimicrobial activity of plant extracts against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causal agent of bacterial canker in kiwifruit. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 154(1): 100-106.
- Smith, E.F. 1920. Bacterial canker of tomato. *Introduction to Bacterial Diseases of Plants*. Ed. Saunders. Philadelphia, USA. 202-222.
- Stackebrandt, E., Rainey, F.A. and WardRainey, N.L. 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 47: 479–491.

- Stauffer, B.A., Orrego, A. y Aquino, A. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. *Revista de Ciencia y Tecnología* 1(2): 29-33.
- Takhtajan, A. (Ed.) 2009. Class Magnoliopsida (Dicotyledons). *Flowering Plants* Springer. Ámsterdam, Netherlands. 7–588.
- Tancos, M.A., Chalupowicz, L., Barash, I., Manulis-Sasson, S. and Smart, C.D. 2013. Tomato fruit and seed colonization by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* through external and internal routes. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(22): 6948-6957.
- Tíreng-Karut, S., Horuz, S. and Aysan, Y. 2019. Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' in tohumda aranması ve tohum uygulamalarının patojen gelişimine etkisinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 16(3): 284-296.
- Tongnuanchan, P. and Benjakul S. 2014. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science* 79(7): 1231-1249.
- Tucuch-Pérez, M.A., Arredondo-Valdés, R. and Hernández-Castillo, F. D. 2020. Antifungal activity of phytochemical compounds of extracts from Mexican semi-desert plants against *Fusarium oxysporum* from tomato by microdilution in plate method. *Nova Scientia* 12(25): 1-19.
- Trejo, L., Alvarado-Cárdenas, L.O., Scheinvar, E. and Eguiarte, L.E. 2016. Population genetic analysis and bioclimatic modeling in *Agave striata* in the Chihuahuan Desert indicate higher genetic variation and lower

differentiation in drier and more variable environments. *American journal of botany* 103(6): 1020-1029.

Usman, H., Abdulrahman, F.I. and Usman, A. 2009. Qualitative phytochemical screening and *in vitro* antimicrobial effects of methanol stem bark extract of *Ficus thonningii* (Moraceae). *African Journal Traditional Alternative Medicines* 6(3): 289-295.

Utkhede, R. and Koch, C. 2004. Biological treatments to control bacterial canker of greenhouse tomatoes. *Biocontrol* 49(3): 305-313.

Valdés, R.A., Castillo, F.D., Cabello, J.C., Fuentes, M.O., Morales, G., Cantú, D.J. and Aguilar, C.N. 2017. Review of antibacterial activity of plant extracts and growth-promoting microorganism (GPM) against phytopathogenic bacterial tomato crop. *European Journal of Biotechnology and Genetic Engineering* 4(1): 11-27.

Valdivia, A.L., Fontanills, Y.R., Álvarez, L.M., Rabelo, J.J., Hernández, Y.P. y Tundidor, Y.P. 2018. Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de los extractos de las hojas de *Agave fourcroydes* Lem.(henequén). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 23(2): 130-143.

Valenzuela, M., Méndez, V., Montenegro, I., Besoain, X. and Seeger, M. 2019. Streptomycin resistance in *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* strains from Chile is related to an rpsL gene mutation. *Plant Pathology* 68(3): 426-433.

Vega-Menchaca, M.C., Rivas-Morales, C., Verde-Star, J., Oranday-Cárdenas, A., Rubio-Morales, M.E., Núñez-González, M.A. and Serrano-Gallardo, L.B. 2013. Antimicrobial activity of five plants from Northern Mexico on

medically important bacteria. *African Journal of Microbiology Research* 7(43): 5011-5017.

Verástegui, M.A. 2000. Evaluación de la actividad antimicrobiana de compuestos de *Agave* y su acción sobre el tigmotropismo y dimorfismo de *Candida albicans*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. San Nicolas de los Garza.

Waleron, M., Waleron, K., Kamasa, J., Przewodowski, W. and Lojkowska, E. 2011. Polymorphism analysis of housekeeping genes for identification and differentiation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *European Journal of Plant Pathology* 131: 341–354.

Waterman, P.D. 1985. Triterpenes from the stem bark of *Commiphora Dalzielii*. *Phytochemistry* 23(12): 2925–2928.

Wollenweber, E. 1994. External Flavonoids of Ocotillo (*Fouquieria splendens*). *Journal of Biosciences* 689–690.

Xu, X., Miller, F., Baysal-Gurel, K., Gartemann, R., Eichenlaub, K. and Rajashekara, G. 2010. Bioluminescence imaging of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection in tomato seeds and plants. *Applied Environmental Microbiology* 76: 3978-3988.

Xu, X., Kumar, A., Deblais, L., Pina-Mimbela, R., Nislow, C., Fuchs, J.R. Miller S.A. and Rajashehara, G. 2015. Discovery of novel small molecule modulators of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Frontiers in Microbiology* 6.

Yasuhara-Bell, J. and Alvarez, A.M. 2015. Seed-associated subspecies of the genus *Clavibacter* are clearly distinguishable from *Clavibacter*

michiganensis subsp. *michiganensis*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 65(Pt_3): 811-826.

Yim, K.O., Lee, H.I., Kim, J.H., Lee, S.D., Cho, J.H. and Cha, J.S. 2012. Characterization of phenotypic variants of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* isolated from *Capsicum annuum*. European Journal of Plant Pathology 133(3): 559-575.

Zárate-Martínez, W., González-Morales, S., Ramírez-Godina, F., Robledo-Olivo, A. y Juárez-Maldonado, A. 2018. Efecto de los ácidos fenólicos en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) inoculadas con *Clavibacter michiganensis*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 9(spe20): 4367-4379.