



Biotecnia

ISSN: 1665-1456

Universidad de Sonora, División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Ramírez Méndez, Jesús Eduardo; Hernández Castillo, Francisco Daniel; Tucuch Pérez, Marco Antonio; Camacho Aguilar, Isaac Irving; Arredondo Valdés, Roberto; Villarreal Quintanilla, José Ángel
Efectividad biológica de extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*
Biotecnia, vol. 25, núm. 1, 2023, Enero-Abril, pp. 34-42
Universidad de Sonora, División de Ciencias Biológicas y de la Salud

DOI: <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i1.1751>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672978754007>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

UNAM  redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Efectividad biológica de extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* contra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Biological effectiveness of *Agave striata* and *Fouquieria splendens* extracts against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Jesús Eduardo Ramírez Méndez¹, Francisco Daniel Hernández Castillo^{1*}, Marco Antonio Tucuch Pérez¹, Isaac Irving Camacho Aguilar¹, Roberto Arredondo Valdés², José Ángel Villarreal Quintanilla³

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista. CP. 25315. Saltillo, Coahuila, México.

² Universidad Autónoma de Coahuila Facultad de Ciencias Químicas Departamento de Nanobiociencias. Saltillo, Coahuila, México. Ing. J. Cardenas Valdez S/N, Col. República, CP. 25280. Saltillo, Coahuila, México.

³ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Botánica. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista. CP. 25315. Saltillo, Coahuila, México.

RESUMEN

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* e invernadero, así 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 calculó 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, sin embargo, el extracto de *F. splendens* mostro control a menores concentraciones que con *A. striata*. El ensayo en invernadero demostró que la incidencia, severidad y parámetros morfométricos fue menor con el extracto de *F. splendens*, así después con el producto Biobacter.

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

ABSTRACT

Bacterial canker is one of the tomatoes (*Solanum lycopersicum*) diseases caused by the bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm). In this study, Cmm was identified 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* under greenhouse conditions was evaluated, as well as information about the composition of phytochemicals present in plants. 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 on incidence, severity, and

morphometric parameters. The *in vitro* results indicated that the extracts of *F. splendens* and *A. striata* showed inhibition on the phytopathogen. The greenhouse trial showed that the incidence, severity and morphometric parameters were lower with *F. splendens* extract, subsequently, with Biobacter product.

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

INTRODUCCIÓN

El tomate es una de las hortalizas más importantes a nivel mundial; con una superficie cultivada durante el 2020 de 5,051,983 ha y una producción de 186,821,216 t. Los principales países productores de tomate son China, India, Turquía, Estados Unidos y Egipto, en tanto que México ocupa el noveno lugar en producción de 4,137,342 t y una superficie sembrada de 84,926 ha (FAO, 2020). México contribuye con el 19 % de volumen de las exportaciones a nivel mundial, ubicándolo como el principal país exportador por encima de España (14 %) y Países Bajos (13 %) (FAOSTAT, 2020). La producción del cultivo del tomate es afectada por diversos problemas fitosanitarios causados por plagas insectiles y microorganismos fitopatógenos tales como hongos, nematodos, bacterias y virus (Arie *et al.*, 2007). Las enfermedades bacterianas son unas de las principales problemáticas debido a su capacidad de infectar y la dificultad para ser controladas en los sistemas de producción (Calleros, 2013). Entre las principales especies bacterianas responsables de enfermedades en el tomate se encuentran *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst), *Ralstonia solanacearum* (Rs), *Agrobacterium tumefaciens* (At), *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv) y *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) (Koike *et al.*, 2007; López, 2017). Cmm es conocida como "el cáncer" o "cancro bacteriano" (Davis *et al.*, 1984), 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 alcanzar el 100 % si no es controlada (EFSA, 2014; Hadas *et al.*, 2014; FIRA, 2016). Su principal fuente de inóculo es la propagación por medio de semillas infectadas, trasplantes de plantas infectadas, y restos de la planta localizada

en el suelo (Gartemann *et al.*, 2003; Kawaguchi *et al.*, 2010). Esta especie muestra una gran variabilidad en la virulencia (Alvarez *et al.*, 2004), pudiendo sobrevivir en restos de plantas hasta por dos años (Fatmi y Schaad, 2002; Sen *et al.*, 2018). Las estrategias de control disponibles para *Cmm* son principalmente 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). Por su parte los productos químicos no han sido eficientes (Balestra *et al.*, 2009), siendo el uso de compuestos cúpricos y de antibióticos los que han mostrado mayor efecto sobre el patógeno (Milijacevic *et al.*, 2009), sin embargo, sus efectos tóxicos, su potencial de acumulación en los suelos y su capacidad para inducir resistencia en los microorganismos fitopatógenos hacia los ingredientes activos, no permite su uso en la agricultura de algunos países. Debido a lo anteriormente mencionado, se realizan trabajos de investigación para desarrollar alternativas orgánicas, amigables con el medio ambiente y que no generen resistencia en los microorganismos (Basim *et al.*, 2000; Sarwar, 2015), mediante extractos de plantas y sus principios activos 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 (Krishnaveni, 2017; López-Romero *et al.*, 2018; Camacho-Campo *et al.*, 2020); así también como la especie *Fouquieria splendens* (Rodríguez-Garza, 2010; Vega-Menchaca *et al.*, 2013). *Agave striata* es una especie endémica de México, y su distribución se encuentra en el Desierto Chihuahuense desde el estado de Hidalgo hasta Coahuila (Trejo *et al.*, 2016), por su parte *Fouquieria 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 (Nevárez-Prado *et al.*, 2021). Los objetivos del presente trabajo son; determinar la presencia de fitoquímicos en los extractos metanólicos de las hojas de *A. striata* y de los tallos de *F. splendens*, y determinar su actividad antibacteriana *in vitro* e invernadero contra *Cmm* en tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de *Cmm*

La cepa de *Cmm* se obtuvo de plantas de tomate Saladette variedad Rio grande, de la zona productora de tomate del municipio de Ahome, en el Estado de Sinaloa. Se obtuvieron muestras de tallos y hojas con síntomas característicos de la enfermedad, ya que mostraban presencia de chancros en los tallos y marchitamiento marginal en los folíolos (Gartemann *et al.*, 2008), en el laboratorio de Micología y Biotecnología del Departamento de Parasitología de la UAAAN las muestras 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 con agua destilada estéril, posteriormente 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 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 las colonias amarillas, mucoides convexas, a las cepas aisladas se les realizaron pruebas bioquímicas, propuestas por Shaad *et al.* (2001).

Identificación molecular de *Cmm*

Se realizó la extracción de ADN de acuerdo con la metodología de Doyle y Doyle (1990), con algunas modificaciones. Para la reacción de la PCR de punto final se utilizaron los primers marca Probiotek CMM5F (5'GCGAATAAGCCCATATCAA3') y CMM6R (5'CGTCAGGAGGTCGCTAATA3') específicos para este patógeno, derivados del gen de patogenidad pat-1 (serina proteasa) presente en el plásmido pCM2, cuyo tamaño de amplicón es de 614 pb aproximadamente (Dreier *et al.*, 1995). En la reacción de PCR se emplearon 7 µL de Taq&GoT Mastermix (MB Biomedicals), 5 µL de cada primer y 1 µL de ADN. Las condiciones para realizar la amplificación requieren de una temperatura inicial de 95 °C durante 3 min, 94° por 30 seg, 55 °C por 1 min, 72 °C por 1 min y 72 °C por 5 min, con un total de 30 ciclos, en un termociclador MaxyGene (AxyGen, USA). 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.

Colecta de plantas

Se colectaron plantas de *A. striata* y *F. splendens*, ubicadas 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.), durante el mes de Mayo del 2021. Se depositaron en bolsas de estroza para su traslado al laboratorio de Micología y Biotecnología del departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). En el laboratorio las plantas se lavaron con agua corriente, se secaron y se separaron las partes aéreas de las raíces. Posteriormente las partes aéreas de las plantas se colocaron en una estufa de secado (Arsa AR-130D, México) a 60 °C hasta presentar peso constante. Finalmente, cada planta se trituró con un molino (Surtek Mogra1, México), se pasaron por una licuadora (Mabe, México); finalmente se tamizaron con un tamiz de 0.2 µm para guardarse en recipientes oscuros debidamente identificados 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 1L adicionando 750 mL del solvente; se colocaron en una parrilla de agitación (Thermo Scientific Cimarec, USA) durante 72 h a una temperatura de 60 °C. Posteriormente el solvente se separó mediante un rotavapor (IKA RV 10 digital V, USA) a 150 r.p.m 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, finalmente se obtuvieron los extractos y se colocaron en frascos ámbar para su posterior uso.

Análisis de compuestos fitoquímicos

Para la identificación de los compuestos fitoquímicos los extractos se prepararon a concentración de 1000 mg/L, y posteriormente se realizó el análisis de presencia de: alcaloides (Prueba de Dragendorf y Sonneschain); azúcares reductores (Prueba de Feling y Benedict); carbohidratos (Prueba de Molisch); carotenoides (H_2SO_4 y $FeCl_3$); cumarinas (Prueba de Erlich); esteroides y terpenos (Prueba de Liberman-Burchard y Rhosenthalert); flavonoides (Prueba de Shinoda y de NaOH); glicósidos cianogénicos (Prueba de Grignard); purinas (Prueba de HCl); quinonas (Prueba de Hidróxido de amonio, H_2SO_4 y Borntrager); saponinas (Prueba de Espuma) y taninos (Prueba de Gelatina y $FeCl_3$, $K_3[Fe(CN)_6]$) (Sahgal *et al.*, 2009; Usman *et al.*, 2009).

Efectividad antibacteriana de los extractos metanólicos de plantas sobre *Cmm* *in vitro*

Ensayo *in vitro*

Se utilizó la metodología descrita por Tucuch-Pérez *et al.* (2020) mediante microplacas de poliestireno de 96 pozos; en ellas, la primera columna (testigo negativo) se le agregaron 110 μ L de caldo nutritivo (medio) y 40 μ L de cloruro de 2,3,5 trifeniltetrazolio (revelador), a la segunda columna (testigo positivo) se le agregaron 100 μ L de medio más 10 μ L de suspensión bacteriana de *Cmm* a concentración de 1×10^6 unidades formadoras de colonias bacterianas (UFC) UFC/mL y 40 μ L de revelador, la tercera columna (testigo solvente) se preparó con 100 μ L de medio y solvente (metanol) en una relación 1:1 (v/v) más 10 μ L de suspensión bacteriana y 40 μ L de revelador, a partir de la columna cuatro, se agregaron 100 μ L del extracto a una concentración de 2000 mg/L, quedando en la columna cuatro a 1000 mg/L, se mezcló y se transfirieron 100 μ L a la siguiente columna, así sucesivamente hasta la columna doce, obteniendo concentraciones de 1000 a 3.9 mg/L. El siguiente paso consistió en agregar 40 μ L de revelador, y finalmente se adicionaron 10 μ L de una suspensión bacteriana de *Cmm* a concentración de 1×10^6 . Cada microplaca se consideró una repetición con ocho 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).

Porcentaje de inhibición

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

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

Ac: Absorbancia de la solución control.

As: Absorbancia de la solución muestra.

Actividad biológica de los extractos metanólicos de *A. striata* y *F. splendens* contra *Cmm* bajo condiciones de invernadero

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

Inoculación y trasplante

Se utilizaron plantas de tomate variedad Rio Grande, con desarrollo de 25 días después de la siembra y con altura de 9 cm aproximadamente al momento del trasplante. Se prepararon vasos de unicel de 1L, y se les agregó 800 gramos de sustrato; el cual consistió de 45 % suelo (previamente pasteurizado), 45 % peat moss y 10 % perlita. Se realizaron heridas en la superficie de las primeras dos hojas verdaderas y el tallo con un hisopo estéril, posteriormente se asperjaron las heridas con una solución de 400 μ L de *Cmm* a concentración de 1×10^6 UFC/mL, una vez inoculadas se dejaron reposar por 20 min, para después aplicar los tratamientos de los extractos de *F. splendens*, *A. striata* y el producto comercial Biobacter O°.

Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos utilizados fueron T1 = Testigo absoluto, T2 = Testigo inoculado, T3 = Extracto de hojas de *A. striata* (1828 mg/L), T4 = Extracto de tallos de *F. splendens* (1736 mg/L) y T5 = Testigo comercial (Biobacter O° 1 L/ha). En relación a los extractos vegetales la concentración utilizada se seleccionó tomando la CI_{90} del experimento *in vitro*. Estos se aplicaron por aspersión mediante bombas aspersoras de 3 L (J.H. Company 10344, USA). Se realizaron tres aplicaciones, la primera se realizó después la inoculación de la bacteria; las otras aplicaciones se realizaron a los 7 y 14 d después de la primera aplicación, estas se realizaron directamente en la planta, en cada aplicación se asperjaron tres veces en la parte aérea y tres veces en la parte 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 variables agronómicas, tales como: peso fresco y seco de la biomasa aérea y de la raíz, altura de planta, longitud de raíz y diámetro de tallo. La incidencia de la enfermedad se determinó utilizando la siguiente fórmula:

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

La severidad se evaluó mediante la escala propuesta por Mohd Nadzir *et al.* (2019), la cual mide de un rango del 0 al 5 donde: 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.

Análisis estadístico

En el ensayo *in vitro* se realizó un análisis Probit para determinar la concentración inhibitoria al 50 % y al 90 % (Ci_{50} - Ci_{90}) de cada extracto utilizando el programa estadístico Statistical AnalysisSys, 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 Duncan ($p < 0.05$). Para el experimento bajo condiciones de invernadero se realizó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Los datos de las variables evaluadas (incidencia, severidad y parámetros morfométricos) se sometieron a ANVA y pruebas de comparación de medias de Duncan ($p < 0.05$), con el programa estadístico Statistical AnalysisSys, V9.0, cumpliéndose los supuestos de normalidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas preliminares para identificación de *Cmm*

A las cepas previamente aisladas de las muestras de las plantas de tomate con la posible presencia de *Cmm* se les realizaron pruebas bioquímicas, propuestas por Shaad *et al.* (2001), en donde la cepa denominada "CV1" mostro similitud con las reportadas para esta bacteria (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de puebas bioquímicas correspondientes a la cepa "CV1".

Table 1. Results of biochemical tests corresponding to the "CV1" strain.

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	+	+

Identificación molecular de *Cmm*

Se confirmó que la cepa denominada "CV1" amplificó con los primers CMM5F/CMM6R específicos para *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Figura 1) mediante la técnica de PCR de punto final.

Análisis de los Fitoquímicos identificados en *A. striata* y *F. splendens*

El extracto metanólico de *A. striata* presentó: alcaloides, carbohidratos, flavonoides (flavonones y chalconas), saponinas (triterpenoides y esteroidales), taninos (fenoles), quinonas (an-

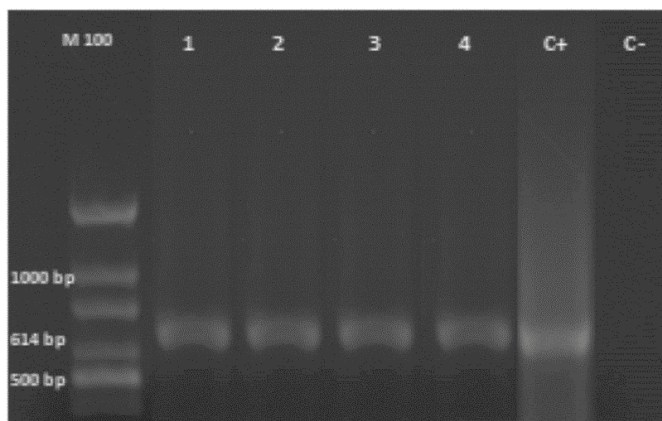


Figura 1. Visualización del segmento de 614 bp. Carril "M" corresponde al marcador molecular de 10,000 bp; Carriles 1, 2, 3 y 4 corresponden a la misma cepa "CV1", aislada de las plantas de tomate colectadas con síntomas de *Cmm*; carril 5 corresponde a un control positivo (C+) (*Cmm*); y el carril 6 a un control negativo (C-) (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*). *Cepas control + (*Cmm*) y - (*Xcv*) obtenidas de la colección microbiológica del laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la UAAAN.

Figure 1. Visualization of the 614 bp segment. Lane "M" corresponds to the 10,000 bp molecular marker; Lanes 1, 2, 3 and 4 correspond to the same strain "CV1", isolated from tomato plants collected with *Cmm* symptoms; lane 5 corresponds to a positive control (C+) (*Cmm*); and lane 6 to a negative control (C-) (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*). *Control strains + (*Cmm*) and - (*Xcv*) obtained from the microbiological collection of the Phytopathology laboratory of the Department of Parasitology of UAAAN.

traquinonas y benzoquinonas), así como cumarinas (Tabla 2). 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 y Eagleson, 1988) así los como compuestos alcaloides, flavonoides, terpenoides, cumarinas, azúcares reductores, inulina, fructanos, entre otros (Chigodi *et al.*, 2013; Almaraz-Abarca *et al.*, 2013). En las especies de *A. salmiana* y *A. fourcroydes* encontraron 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), así como glucósidos cardiotónicos en *A. angustifolia* (Camacho-Campos *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 Acido

Tabla 2. Fitoquímicos identificados en extractos metanólicos.

Table 2. Phytochemicals identified in methanolic extracts.

	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>	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
<i>F. splendens</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-

+ = Fitoquímico presente, - = Fitoquímico ausente; A = Alcaloides, C = Carbohidratos, F = Flavonoides, GC = Glucósidos Cianogenicos, 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 Acido Gálico, T3 = Derivados Catecoles, T4 = Fenoles, Q1 = Antraquinonas, Q2 = Benzoquinonas, Q3 = Antronas.

Galico, derivados de catecol y fenoles) y quinonas (antraquinonas y benzoquinonas) (Tabla 2). Bate-Smith (1964), describe que los constituyentes más característicos del género *Fouquieria* corresponden a la flavonoides (leucocianidina, kaempferol y quercetina), ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido elágico, cumarina y escopoletina. 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, acacetina, luteolina y crisoiol. 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 iridoides (Takhtajan, 2009), y dentro de las flores los 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 ocotillol, el último es una saponina triterpenoides el cual presenta actividades interesantes como la inhibición del crecimiento de bacterias con bajas tasas de toxicidad (Pokhilo y Uvarova, 1988; Bi Y. et al., 2017).

Efectividad antibacteriana *in vitro*

Los extractos de las hojas de *A. striata* y de los tallos de *F. splendens* presentaron efecto inhibitorio en el crecimiento de *Cmm* (Figura 2 y Tabla 3), se observó que *A. striata* inhibió desde 125 mg/L y *F. splendens* desde 62.5 mg/L con 20.86 % y 7.69 % respectivamente, 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* (Tabla 4).

No se encuentra en la literatura científica reportes sobre el efecto de extractos de *A. striata* y *F. splendens* en la inhibición de *Cmm*. El género *Agave* ya ha mostrado efecto bactericida con las

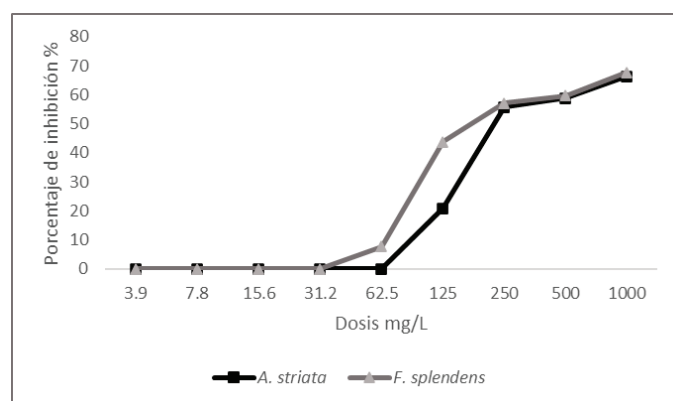


Figura 2. Inhibición de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* por extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* determinado por el método de microdilución en placa.

Figure 2. Inhibition of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by extracts of *Agave striata* and *Fouquieria splendens* determined by the plate microdilution method.

especies de *A. argentium*, *A. stricta*, *A. americana* y *A. angustifolia* los cuales mostraron actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *E. coli* que afectan la salud humana (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), 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 IC_{50} y IC_{90} de 64.75 – 176.73 ppm; además Arredondo-Valdés et al. (2021) utilizaron extractos etanólicos de hojas de *Moringa oleifera* contra *Cmm*, obteniendo una IC_{50} fue de 350.48 ppm. Pérez-Pérez et al. (2020) señalan que los extractos metanólicos, hexánico y de acetato de etilo a partir de raíces de *Jatropha dioica* Seseé (Sangre de drago), también inhibieron el crecimiento de *Cmm*, con una mejor respuesta con acetato de etilo con una CI_{50} de 2.0 ± 0.43 mg mL⁻¹. De igual manera se reportan con los extractos metanólicos de hojas de *Calendula officinalis* y *Echinacea purpurea* actividad inhibidora contra *Cmm* (Aksoy et al., 2021).

Efectividad biológica de los extractos metanólicos de *A. striata* y *F. splendens* contra *Cmm* en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero

Incidencia y severidad de la enfermedad

Los resultados mostraron que no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos, a excepción del tratamiento con *F. splendens* contra el tratamiento inoculado. Siendo la incidencia de *F. splendens* 25 %, *A. striata* y Biobacter 50 % y el testigo inoculado 100 %. (Tabla, 5). Por su parte, la severidad no mostró diferencias significativas entre tratamientos, a excepción del testigo inoculado el cual presentó una severidad de 3.25, siendo superior a la presentada por los tratamientos aplicados, los cuales mostraron una severidad de 1, 0.5 y 0.25 en el caso de *A. striata*, *F. splendens* y Biobacter. 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 presentó azúcares 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 y Pérez, 2009; Andrade-Bustamante et al., 2017). 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), estos se encuentran presentes en los extractos de *F. splendens*, debido a esto pudo haber sido mayor la eficacia en el control de *F. splendens* contra *Cmm*.

Tabla 3: Porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones de los extractos metanólicos de hojas de *Agave striata* y tallos de *Fouquieria splendens*.**Table 3:** Inhibition percentage of the different concentrations of methanolic extracts from leaves of *Agave striata* and stems of *Fouquieria splendens*.

Tratamientos	1000 mg/L	500 mg/L	250 mg/L	125 mg/L	62.5 mg/L	31.2 - 3.9 mg/L
A. striata	66.34	58.89	55.81	20.86	0	0
F. splendens	67.74	59.67	57.10	43.82	7.69	0

Tabla 4. Valores de las concentraciones inhibitorias al 50 y 90 % (CI_{50} y CI_{90}) de los extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* In Vitro.**Table 4.** Inhibitory concentration at 50 and 90 % (IC_{50} and IC_{90}) of *Agave striata* and *Fouquieria splendens* extracts on *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* In Vitro.

Tratamientos	CI_{50}	CI_{90}
A. striata	389.28 mg/L	1828 mg/L
F. splendens	308.82 mg/L	1736 mg/L

Tabla 5: Incidencia y Severidad en follaje de plantas de tomate inoculadas con *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens*.**Table 5:** Incidence and Severity in tomato plants foliage inoculated with *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and treated with *Agave striata* and *Fouquieria splendens* extracts.

Tratamientos	Incidencia	Severidad
1. Tratamiento Absoluto	0 ^a	0 ^a
2. Tratamiento Inoculado	100 ^b	3.25 ^b
3. Tratamiento con extracto de A. striata	50 ^{ab}	1.00 ^a
4. Tratamiento con extracto de F. splendens	25 ^a	0.25 ^a
5. Tratamiento producto comercial "Biobacter O"	50 ^{ab}	50 ^a

*Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Duncan, $p < 0.05$).

Parámetros morfométricos evaluados

Los resultados obtenidos en los parámetros morfométricos evaluados (Tabla 6), muestran que los tratamientos (A. striata, F. splendens y Biobacter) mostraron similitud estadística con el testigo absoluto en diámetro de tallo, para altura de planta F. splendens y Biobacter mostraron relación estadística con el testigo absoluto, para tamaño de raíz los tratamientos no mostraron diferencias significativas entre ellos, y solo F. splendens mostró similitud con el testigo absoluto, para peso fresco tampoco se observaron diferencias entre los tratamientos y solo Biobacter mostró similitud con el testigo absoluto, para el peso seco el mejor tratamiento fue Biobacter el cual se separó estadísticamente de los tratamientos de A. striata y F. splendens, esto se puede entender ya que el producto Biobacter en su formulación orgánica además de extractos vegetales, por esporas de bacterias bioestimuladoras de *Bacillus* spp. Por su parte F. splendens mostro similitud estadística en diámetro de tallo, altura de planta y tamaño de raíz con el testigo absoluto, lo que podría indicar que este extractos pudiera tener acción bioestimuladora de crecimiento en las plantas tratadas.

Tabla 6: Parámetros morfométricos de plantas inoculadas de tomate con *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* bajo condiciones de invernadero.**Table 6:** Morphometric parameters of tomato plants inoculated with *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, treated with *Agave striata* and *Fouquieria splendens* extracts under greenhouse conditions.

Tratamientos	Diámetro de tallo (mm)	Altura de tallo (cm)	Tamaño de raíz (cm)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
Absoluto	4.06 ± 0.73 ^a	13.8 ± 1.18 ^a	6.55 ± 0.91 ^a	3.86 ± 0.57 ^a	0.36 ± 0.08 ^a
Inoculado	2.78 ± 0.27 ^c	6.3 ± 0.91 ^c	3.92 ± 0.62 ^c	2.06 ± 0.14 ^c	0.18 ± 0.02 ^d
A. striata	3.54 ± 0.23 ^{ab}	9.25 ± 1.08 ^b	5.5 ± 0.32 ^b	2.39 ± 0.51 ^{bc}	0.26 ± 0.03 ^c
F. splendens	3.78 ± 0.17 ^{ab}	12.9 ± 0.56 ^a	6.75 ± 0.75 ^{ab}	2.81 ± 0.19 ^{bc}	0.27 ± 0.03 ^c
5. Biobacter	3.18 ± 0.14 ^{ab}	11.4 ± 1.80 ^a	5.57 ± 0.25 ^b	3.24 ± 0.97 ^{ab}	0.31 ± 0.03 ^b

*Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Duncan, $p < 0.05$).

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 preceñica de azúcares reductores. En el ensayo in vitro ambos extractos mostraron actividad antibacteriana sobre Cmm, sin embargo, 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. Los resultados muestran que la presencia de fitoquímicos en los extractos puede estar relacionado con la eficiencia en el control de Cmm, ya que F. splendens presento mayor número de fitoquímicos que A. striata.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, mediante el proyecto de asignación 2020-000026-02NACF-17358, y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro con clave 38111-425101001-2455.

REFERENCIAS

- Aksoy, H.M., Arslanoğlu, Ş.F., Edibeib, 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.

- Almaraz-Abarca, N., González-Elizondo, M., Campos, M., Ávila-Sevilla, Z.E., Delgado Alvarado, E.A. y 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. y Vine, B. G. 2004. Diversity of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* populations in tomato seed: What is the significance. Acta Horticulturae. 695:205-214.
- 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., y 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., Mora-Ravelo S.G. 2020. *In vitro* antibacterial activity of *Magnolia tamulipana* 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., Carrascosa-Peña, L.D. y Chacón-Hernández, J.C. 2021. *In vitro* Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Ethanolic Extract against Tomato Phytopathogenic Bacteria. Phytom. 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. y 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. y 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, O. y 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. y Yuan, Ch.S. 2017. Synthesis and antibacterial evaluation of novel 3-substituted ocotillol-type derivatives as leads. Molecules. 22(4):1-10.
- Calleros, G.V. 2013. Manejo y Control de las Enfermedades Bacterianas en Productos Agrícolas. XL Congreso Nacional y XV Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Revista Mexicana de Fitopatología. 31: 74-75.
- Camacho-Campos, C., Pérez-Hernández, Y., Valdivia-Ávila, A., Rubio-Fontanills, Y. y Fuentes-Alfonso, L. 2020. Evaluación fitoquímica, antibacteriana y moluscicida de extractos de hojas de *Agave* spp. Revista Cubana de Química. 32(3): 390-405.
- Cervantes-Tenorio, R.M. y Reyna-Pizán, T.N. 2019. Identificación fitoquímica y aislamiento de microorganismos endófitos de *Agave americana*. Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú. 21-23 pp.
- Chigodi, M.O., Samoei, D.K. y Muthangya, M. 2013. Phytochemical screening of *Agave sisalana* Perrinele aves (waste). International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. 4(4): 200-204.
- Davis, M.J., Gillaspie, A.G., JrVidaver, A.K. y 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 Systematic and Evolutionary Microbiology. 34: 107-117.
- De León, L., Sivero, F., López, M. Y 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. y Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 12: 13-15.
- Dreier, J., Bempohl, A. y Eichenlaub, R. 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Phytopathology. 85:462-468.
- EFSA (2014). Scientific opinion on the pest categorisation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al. EFSA Journal. 12(6): 1-26.
- Fatmi, M. y 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.
- FAO [Consultado 12 Marzo 2022] 2020. FAOSTAT. Disponible en: <http://www.fao.org/foostat/es/#home/>.
- FAOSTAT [Consultado 13 Marzo 2022] 2020. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Estadísticas. Disponible En: <http://www.fao.org/faostat/es/#home>.
- FIRA. 2016. Panorama Agroalimentario: Tomate rojo. Panorama Agroalimentario. 2-10 pp.
- Gartemann, K.H., Kirchner, O., Engemann, J., Gräfen, I., Eichenlaub, R. y 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., Kirchner, O., Krause, L., Linke, B., MacHardy, A., Meyer, F., Pohlé, S., Ruckert, C., Schneiker, S., Zellermann, E.M., Puhler, A. y Eichenlaub, R. 2008. The genome sequence of the tomatopathogenic Actinomycete *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382 reveals a large island involved in pathogenicity. Journal of Bacteriology. 190: 2138-2149.
- Hadas, R.G., Kritsman, Klietman F., Gefen, T. y Manulis, S. 2014. Comparison of extraction procedures and determination of the detection threshold for *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds. Plant pathology. 54: 643-649.

- Hegnauer, R. 1989. Chemotaxonomie Der Pflanzen. In an overview of the distribution and the systematic importance of plant substances. Birkhäuser-Verlag, Basel. 8: 684-689.
- Jasso de Rodríguez, D., Trejo-González, F.A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M.L.V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F.D., Villarreal-Quintanilla, J.A. y Peña-Ramos F.M. 2015. Antifungal activity *in vitro* of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Industrial Crops and Products. 75: 150-158.
- Kawaguchi, A., Tanina, K. y 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. y Paulos, A.O. 2007. Vegetables Diseases. London, U.K: Manson Publishing. 320 pp.
- Krishnaveni, V. 2017. Investigation of phytochemical and antibacterial activity on *Agave americana* methanolic extract for medical applications. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 8(3): 500-505.
- López, M.L.M. 2017. Manual técnico del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum*). San José, Costa Rica: Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria. 76-80 pp.
- López-Romero, J.C., Ayala-Zavala, J.F., Peña-Ramos, E.A., Hernández, J. y 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.
- Marker, R.E. y López, J. 1947. Sapogeninas esteroides. No 162. Kappogenina y Furcogenina. Journal of American Society. 69(10): 2380-2383.
- Milijasevic, S., Todorovic, B., Potocnik, I., Rekanovic, E. y 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. y 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. y Gutiérrez-Velázquez M.V. 2019. Phytochemical variation among populations of *Fouquieria splendens* (Fouquieriaceae). Botanical Science. 97(3): 398-412.
- Nandi, M., MacDonald, J., Liu, P., Weselowski, B. y Yuan, Z.C. 2018. *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*: cancro bacteriano del tomate, interacciones moleculares y manejo de enfermedades. Patología de las Plantas Moleculares. 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. y Hernández-Ochoa, L.R. 2021. El género *Fouquieria*: una revisión de aspectos etnobotánicos, fitoquímica y actividad biológica. Tecnociencia, Chihuahua. 15(3): 186-220.
- 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. y Uvarova, N.I. 1988. Isoprenoids of various species of the genus *Betula*. Chemistry of Natural Compounds. 24(3): 273-285.
- 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 pp.
- Rosero-Ortiz, J.N. 2021. Revisión actualizada sobre las actividades farmacológicas y aplicaciones de los taninos. Facultad de Ciencias Químicas. Quito, Ecuador. 29-35 pp.
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M. N., Ismail, S. y Mansor, S. M. 2009. Phytochemical and antimicrobial activity of *Swietenia mahagoni* crude methanolic seed extract. Tropical Biomedicine. 26(3): 274-279.
- 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., Mirabili, S., Sveronis, A., Cescutti, P. y Rizo, R. 2017. Tramesan, a novel polysaccharide from *Trametes versicolor*. Structural characterization and biological effects. Plos One. 12(8): e0171412.
- Schaad, N.W., Jones, J.B. y Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. St Paul, Minnesota, USA. APS Press.
- Sen, Y., Van der Wolf, J., Visser, R.G.F. y 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. y Van Heusden S. 2018. Genetic characterization of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* population in Turkey. Plant Disease. 102: 300-308.
- Scout, T. y Eagleson, M. 1988. Enciclopedia Concisa de Bioquímica. 2da. Ed. Acriba. España. 712 p.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoin, H. y Rocha-Sosa, M. 2003. La participación de metabolitos secundarios en la defensa de plantas. Revista Mexicana de Fitopatología. 21(3): 354-363.
- Simonetti, G., Pucci, N., Brasili, E., Valletta, A., Sammarco, I., Carnevale, E., Pasqua G. y 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.
- Takhtajan, A. (Ed.) 2009. Class Magnoliopsida (Dicotyledons). Flowering Plants. Springer. Amsterdam, Netherlands. 7-588.
- Tireng-Karut, S., Horuz, S. y 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.
- Trejo, L., Alvarado-Cárdenas, L.O., Scheinvar, E. y 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.
- Tucuch-Pérez, M.A., Arredondo-Valdés, R. y 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.

- Usman, H., Abdulrahman F.I. y Usman A. 2009. Qualitative phytochemical screening and *in vitro* antimicrobial effects of methanol stem bark extract of *Ficus thonningii* (Moraceae). African Jurnal Traditional Alternative Medicine. 6(3): 289-295.
- Valdés, R.A., Castillo, F.D.H., Cabello, J.C.A., Fuentes, Y.M.O., Morales, G.G., Cantú, D.J. y 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.H., 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): 1-3.
- Vega-Menchaca, M.C., Rivas-Morales, C., Verde-Star, J., Oranday-Cárdenas, A., Rubio-Morales, M.E., Núñez-González, M.A. y 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.
- 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. y Rajashekara, G. 2010. Bioluminescence imaging of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection in tomato seeds and plants. Applied Environmental Microbiology. 76: 3978-3988.