



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

CONTROL BIOLÓGICO DE *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* EN JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

VALERIA ROLDÁN GUZMÁN

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2023



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Control biológico de *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* en jitomate (*Solanum lycopersicum* L.)**, realizada por la estudiante: **Valeria Roldán Guzmán**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


Dr. Sergio Aranda Ocampo

ASESOR (A)


Dr. Cristian Nava Díaz

ASESOR (A)


Dr. Joel Pineda Pineda

Montecillo, Texcoco, Estado de México, abril de 2022

CONTROL BIOLÓGICO DE *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* EN JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Valeria Roldan Guzmán, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

RESUMEN

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm) causa el cancro bacteriano y es de las enfermedades más destructivas del jitomate en todo el mundo. El principal objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de dos fuentes de nitrógeno en la nutrición (nitrato y amonio) y activadores de planta (*Brevibacillus* sp., *Bacillus* sp., y la proteína harpin $\alpha\beta$ 3%) en el rendimiento y severidad de Cmm en jitomate en invernadero. La inoculación de Cmm se realizó por corte de pecíolos con tijeras embebidas en una suspensión con 10^9 UFC/ml. El experimento se realizó bajo un diseño de bloques completos al azar con 15 repeticiones. Los datos se analizaron estadísticamente con los factores: tratamiento, nutrición y su interacción. Los resultados indicaron que la interacción entre activador de planta y nutrición no fue estadísticamente significativa. Sin embargo, hubo diferencias significativas ($P=0.05$) con la nutrición Steiner 100 %, para las variables peso fresco ($F_{1,14}=5.7$, $P=0.031$) y seco de hojas ($F_{1,14}=7.18$, $P=0.017$), número de racimos ($F_{1,14}=7$, $P=0.019$), frutos ($F_{1,14}=5.2$, $P=0.038$), y diámetro de frutos ($F_{1,16}=9.77$, $P=0.0065$). El suministro de nitrógeno en forma de nitratos mejoró el rendimiento y calidad de frutos en relación al amonio. Respecto a la severidad de Cmm, hubo diferencias significativas en el porcentaje ponderado de daño ($F_{5,60}=3.41$, $P=0.0087$) y severidad en toda la planta ($F_{2,60}=5.43$, $P=0.0067$). La aplicación de la proteína harpin (Messenger Gold) con aporte de nitratos en la nutrición mejoró el rendimiento, calidad de frutos y redujo la severidad de Cmm en el cultivo de jitomate bajo condiciones de invernadero.

Palabras clave: *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*, proteína harpin, nitrato, amonio, jitomate.

BIOLOGICAL CONTROL OF *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* IN TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.)

Valeria Roldan Guzman, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

ABSTRACT

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm) causes bacterial canker and is one of the most destructive diseases of tomato worldwide. The main objective of this research was to evaluate the effect of two nitrogen sources in nutrition (nitrate and ammonium) and plant activators (*Brevibacillus* sp., *Bacillus* sp., and harpin $\alpha\beta$ protein 3%) on the yield and severity of Cmm in greenhouse tomato. Cmm inoculation was performed by cutting petioles with scissors soaked in a suspension with 10^9 CFU/ml. The experiment was carried out under a randomized complete block design with 15 replications. The data was statistically analyzed with the factors: treatment, nutrition and their interaction. The results indicated that the interaction between plant activator and nutrition was not statistically significant. However, there were significant differences ($P=0.05$) with the 100% Steiner nutrition, for the variables fresh weight ($F_{1,14}=5.7$, $P=0.031$) and leaf dry weight ($F_{1,14}=7.18$, $P=0.017$), bunch number ($F_{1,14}=7$, $P=0.019$), fruits ($F_{1,14}=5.2$, $P=0.038$), and fruit diameter ($F_{1,16}=9.77$, $P=0.0065$). The supply of nitrogen in the form of nitrates improved the yield and quality of fruits in relation to ammonium. Regarding the severity of Cmm, there were significant differences in the weighted percentage of damage ($F_{5,60}=3.41$, $P=0.0087$) and severity throughout the plant ($F_{2,60}=5.43$, $P=0.0067$). The application of harpin protein (Messenger Gold) with the contribution of nitrates in nutrition improved yield, fruit quality and reduced the severity of Cmm in tomato crops under greenhouse conditions.

Key words: *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*, harpin protein, nitrate, ammonium, tomato.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo por el apoyo brindado al seleccionarme para realizar mis estudios correspondientes de Maestría en Fitosanidad-Fitopatología.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del Programa Nacional de Posgrados de Calidad por la beca recibida para poder realizar mis estudios de Postgrado, sin su ayuda no hubiera sido posible el estudiar un nivel más de estudios.

Dr. Sergio Aranda Ocampo, mi consejero y director de tesis, usted formó parte importante en esta investigación, con sus aportes profesionales que lo caracterizan. Muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento cuando más las necesité. Gracias por su orientación, sus consejos, sus virtudes, su paciencia y constancia en este trabajo y en mí.

Dr. Joel Pineda Pineda y Dr. Cristian Nava Díaz, gracias por su ayuda, dedicación, orientación, su paciencia e interés en mi investigación.

M.C. Jorge Alberto Fernández García, mi amado esposo, gracias por estar siempre incondicionalmente para mí, en toda situación y en todo momento. Gracias por estar cada día, incluyendo navidad y año nuevo a mi lado trabajando en el invernadero. Por brindarme tu amor, tu tiempo, tu trabajo, tu dedicación día a día, por creer en mí, y darme la fuerza para continuar. Eres mi amor, mi motor, mi alegría, ¡Te amo muchísimo!

A mis padres y mis hermanas, que durante toda mi vida me han brindado su apoyo, su amor, su entusiasmo incondicional. Por creer y confiar en mí y en que lograré cada meta, cada sueño en mi vida. ¡Los amo mucho!

Sin el entusiasmo y colaboración de cada uno de ustedes no habría sido posible el desarrollo del presente trabajo

¡MUCHAS GRACIAS A TODOS Y TODAS!

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE CUADROS.....	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	5
2.1. Objetivo general.....	5
2.2. Objetivos específicos	5
2.3. Hipótesis.....	5
III. REVISIÓN DE LITERATURA	6
3.1. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (Smith 1910) Davis.....	6
3.2. Activadores de resistencia sistémica adquirida e inducida en plantas	7
3.3. <i>Bacillus</i> sp.....	7
3.4. <i>Brevibacillus</i> sp.....	8
3.5. Proteína harpin.....	8
3.6. Solución nutritiva.....	9
3.7. El amonio (NH ₄ ⁺) en las plantas.....	10
3.8. El Nitrato (NO ₃ ⁻) en las plantas	11
3.9. Relación NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺ y su efecto en el crecimiento y rendimiento de los cultivos	12
3.10. Relación NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺ y su efecto en la inhibición de patógenos en los cultivos	12
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
4.1. Zona de estudio y material vegetal.....	14
4.2. Diseño experimental	14
4.3. Fertilización y desarrollo del cultivo	15
4.4 Inoculación de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	16
3.4 Variables de crecimiento	17
3.5 Variables del rendimiento	18

3.6 Variables de micro y macronutrientos	19
3.7 Patogenicidad y severidad de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	20
3.8 Reislamiento bacteriano e identificación del patógeno.	22
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL.....	23
5.1. Variables de crecimiento	23
5.2. Variables del rendimiento	24
5.3. Variables de macro y micronutrientos.....	27
Severidad de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	30
5.5. Reislamiento e identificación del patógeno.	36
VI. CONCLUSIÓN	37
VII. LITERATURA CITADA	38

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Desarrollo del cultivo de jitomate en invernadero. A) Trasplante, B) Tutoreo a un tallo, C) Desbrote axilar, D) Deshoje y E) Cosecha. 16
- Figura 2.** Inoculación de la cepa CP_Cmm-1 en plantas de jitomate en invernadero. A y B) Morfología de la cepa CP_Cmm-1 en medio agar nutritivo, C) Suspensión celular con 10^9 UFC/mL de Cmm, D) Punto de inoculación (PI) en la tercera hoja apical de las plantas de jitomate. 17
- Figura 3.** Proceso de toma de muestras y determinación de variables de crecimiento. A) muestra de planta y separación por órganos, B) Índice de área foliar, C) Determinación de peso fresco, D) Secado de muestras en estufa a 70 °C, E) Molino para muestras secas, F) Muestras secas de los tratamientos..... 18
- Figura 4.** Digestión de muestras para la determinación de absorción de micro y macronutrientes. A) Pesado de 0.5 g de muestra seca, B) Adición de la mezcla di ácida, C) Muestras en bloque digestor, D) Aforado a 50 ml con agua destilada estéril. 20
- Figura 5.** Método amarillo de Molibdovanadato (Chapman & Pratt, 1973), para determinar el contenido de Fósforo. A) Escala, B) Muestras para medición, C) Espectrofotómetro. 20
- Figura 6.** Método de Kjeldahl (Chapman & Pratt, 1973), para determinar la absorción de Nitrógeno. A) Arrastre de vapor, B) Condensado, C) Titulación. 20
- Figura 7.** Escala de severidad para hoja (grados de severidad). A) 1, B) 2, C) 3, D) 4, E) 5..... 21
- Figura 8.** Escala de severidad para cancro en tallo (grados de severidad). A) 1, B) 2, C) 3..... 21
- Figura 9.** Escala de severidad en fruto (grado de severidad). A) Ausencia de síntomas = 0, B y C) presencia de síntomas en pedúnculo, y canchros = 1. 22

Figura 10. Reaislamiento de Cmm. A) Muestra de planta con síntomas visibles en haces vasculares en tallo de plantas de jitomate, B) Observación al microscopio, C) Signos de Cmm en tejido interno del tallo de jitomate.....	23
Figura 11. Planta de jitomate híbrido Optimax, en etapa productiva. a) Solución nutritiva Steiner 100 % más activadores de planta Messenger gold y Fungifree. b) Solución nutritiva Steiner 85/15 más los activadores de planta Messenger gold, Romel y Fungifree.....	26
Figura 12. Hojas con síntomas de amarillamiento en el borde de las hojas más viejas con el tratamiento Steiner 100 % más Romel.	30
Figura 13. Severidad de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> en hojas de jitomate híbrido Optimax bajo condiciones de invernadero.	34
Figura 14. Grado máximo (grado 5) de severidad para todos los tratamientos en planta completa del híbrido de jitomate Optimax.....	35

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos establecidos en el experimento, los cuales son el complemento de una solución nutritiva más un activador de planta.	14
Cuadro 2. Solución nutritiva Steiner 85/15 ($\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$) y solución nutritiva Steiner 100 %	15
Cuadro 3. Clasificación de jitomate roma o saladette (SAGARPA, 2005).	18
Cuadro 4. Efecto de la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 para las variables de crecimiento y peso fresco de jitomate.	24
Cuadro 5. Significancia estadística para la nutrición Steiner 100 % NO_3 y Steiner 85/15 de NO_3/NH_4 en las variables de crecimiento en peso seco de jitomate.....	24
Cuadro 6. Promedio de frutos entre tratamientos para las variables de rendimiento	25
Cuadro 7. Efecto de la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 NO_3/NH_4 para las variables de rendimiento en jitomate.....	26
Cuadro 8. Concentración de macronutrientes (%) y micronutrientes ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) en hojas de jitomate con la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 NO_3/NH_4	28
Cuadro 9. Absorción de macronutrientes (%) y micronutrientes ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) en hojas con la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 más activadores de planta.....	28
Cuadro 10. Porcentaje de severidad de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> en jitomate híbrido Optimax.	31

I. INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza con mayor producción en México para el mercado nacional e internacional; en 2020, la producción anual fue de más de 180 millones de toneladas, lo que representa un valor de 93 mil millones de dólares (FAO, 2020) y fue el producto agrícola de mayor exportación (Estrategia aduanera, 2021). En 2020, México se posicionó como el principal exportador de jitomate y el noveno productor a nivel mundial con 25.4 % de las exportaciones totales (TRADE MAP, 2020). Los principales estados productores fueron Sinaloa (764, 435 Ton), San Luis Potosí (391, 478 Ton), Michoacán (280, 478 Ton), Zacatecas (180, 319 Ton), Jalisco (175, 999 Ton), Baja California Sur (159, 423 Ton), Puebla (140, 425 Ton), Baja California Norte (137, 632 Ton), Morelos (134, 093 Ton) y Coahuila (121, 580 Ton) que representan el 72.24 % de la producción nacional (SIAP, 2020). La producción se exporta principalmente a Estados Unidos de Norteamérica, Canadá y Japón donde las exigencias de mercado son altas (González *et al.*, 2018). En México se cultiva durante todo el año; sin embargo, la mayor producción ocurre en los meses de octubre y noviembre con 23.4 % del volumen de cosecha anual (SIAP, 2020).

La producción de jitomate presenta limitantes fitosanitarias por la infección de diversos patógenos, factores climáticos, manejo del cultivo y nutrición. Dentro de estas, una de las principales limitantes para la producción del jitomate es la bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* (Cmm) (Smith) (Davis *et al.*, 1984) agente causal del cancro bacteriano, la cual se considera una de las enfermedades más importantes del cultivo de jitomate a nivel mundial, ocasionando las mayores pérdidas económicas (Chalupowicz *et al.*, 2017). Se estima que estas pérdidas varían por la ubicación geográfica del cultivo, la etapa fenológica y la agresividad del patógeno (Sen *et al.*, 2015). Por lo anterior, la Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas (EPPO) la incluye en la lista oficial de plagas cuarentenadas (EPPO, 2022).

Cmm ingresa a la planta de jitomate a través de tricomas (Chalupowicz *et al.*, 2017), heridas, estomas, hidátodos y raíces; coloniza los vasos del xilema en dirección acropétala y basipétala, adhiriéndose al engrosamiento de la pared secundaria del proto xilema, por la formación de biopelículas (Chalupowicz *et al.*, 2012). Una vez colonizado

el xilema, infecta las semillas que sirve como fuente de inóculo primario (Yadeta & Thomma, 2013). Produce degradación de las paredes celulares de los vasos y parénquima del xilema, induce clorosis, lesiones necróticas y reducción de fotosintatos. Induce estrés en la planta, reducción en la actividad fisiológica y desequilibrio en su nutrición (Kolomiets *et al.*, 2020).

El desequilibrio nutricional en el cultivo de jitomate es uno de los principales factores que incrementa la susceptibilidad a la infección por Cmm. Se ha estimado que el exceso de nitrógeno disminuye el pH del fluido celular que favorece la colonización bacteriana (Kolomiets *et al.*, 2020); así mismo, la deficiencia de potasio (K^+) incrementa la concentración de azúcares y aminoácidos (Munévar, 2004), de calcio (Ca^{2+}), disminuye la turgencia (Langer *et al.*, 2019), formando paredes celulares delgadas (Alcántar *et al.*, 2016) y promueve una mayor permeabilidad de las membranas citoplasmáticas (Munévar, 2004). Las sustancias fenólicas y flavonoides se ven limitadas ante deficiencias de cobre (Cu) y boro (B) (Munévar, 2004). Todos los factores anteriores incrementan la susceptibilidad a la infección por Cmm.

Uno de los principales problemas para el manejo de Cmm es la falta de variedades e híbridos resistentes a este patógeno (Rivera *et al.*, 2022). El uso de microorganismos como activadores de planta y promotores de crecimiento (PGPR) pueden ser una alternativa viable para el manejo de Cmm en jitomate (Aksoy *et al.*, 2017). Se consigna que una estrategia integrada de manejo mediante la adición de nutrientes y PGPR podría ayudar a incrementar el rendimiento de cultivos y disminuir la incidencia de patógenos (Enebe *et al.*, 2018).

Especies del género *Bacillus* sp. han sido ampliamente estudiados como agentes de biocontrol contra diversos fitopatógenos mediados por antibiosis, competencia de nutrientes (Gurikar *et al.*, 2022), inductores de resistencia sistémica (RSI) y promotores del crecimiento vegetal (Tiwari *et al.*, 2019). Producen un amplio número de lipopéptidos (Chowdhury *et al.*, 2015) y compuestos volátiles (Kim *et al.*, 2015) relacionados con el biocontrol. Los compuestos volátiles hacen cambios estructurales en la pared celular mediante la acumulación de lignina (Singh *et al.*, 2016). Se ha identificado la producción de metabolitos secundarios como fitoalexinas, flavonoides, auxinas o glucosinolatos

relacionados a la promoción del crecimiento e inductores de resistencia (Pretali *et al.*, 2016). *Brevibacillus* sp. es ampliamente utilizado como activador de planta, produce sustancias antibacterianas (edeínas) eficientes para el manejo de enfermedades bacterianas en las plantas (Du *et al.*, 2022).

Otras estrategias de manejo y control de enfermedades se basan en la aplicación de proteínas inductoras de resistencia en las plantas; entre estas, la proteína harpin HrpNEa ha inducido protección eficiente en diferentes patosistemas ya que actúa como un desencadenante de defensas en el hospedante (Vergne *et al.*, 2014). Tezcan *et al.* (2013) observaron inducción de resistencia con la proteína harpin en variedades de pimiento (*Capsicum annuum* L. cvs. 'Demre', 'Yalova Charleston' y 'Sari Sivri') en rendimiento, calidad de fruta y reducción de la severidad por *Botrytis cinerea*.

La nutrición en jitomate es esencial para disminuir la susceptibilidad a la infección por Cmm. En el cultivo de jitomate se utilizan soluciones nutritivas cuya formulación incluye los elementos esenciales para el crecimiento y desarrollo óptimo (Moreno *et al.*, 2015). La absorción de nutrientes depende del genotipo, edad de la planta, del entorno en la raíz y de las condiciones climáticas en su medio (Gandica & Peña, 2015; Hernández *et al.*, 2016). De esto se deriva que para cada región o zona, es necesario evaluar las formulaciones de soluciones nutritivas con el objetivo de lograr el potencial de producción máximo. La solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984) es la más común en estudios sobre la producción de diferentes cultivos (Valdez *et al.*, 2015; López *et al.*, 2017; Ramírez, 2019). En particular, para el cultivo de jitomate saladette se usa el 100 % de su concentración para obtener un buen rendimiento (Valenzuela *et al.*, 2014). La utilización en el cultivo de jitomate de una nutrición óptima en combinación con microorganismos benéficos y proteínas inductoras de resistencia podría ser una estrategia útil para disminuir la susceptibilidad a la infección por Cmm y promover un mejor rendimiento en el cultivo.

Liu *et al.* (2017) encontraron que el crecimiento de varias especies de plantas es mayor cuando el nitrógeno total es suministrado en una proporción de nitrato/amonio 75/25 para plantas sin estrés y 50/50 para plantas en condiciones frías y que la absorción puede ser afectada dependiendo tanto por la especie, como el medio ambiente. Por otra parte,

Pérez *et al.* (2021) mencionan mayor rendimiento con la relación 82/8 en plantas sin injertar y 85/15 en plantas injertadas de jitomate. En otros estudios realizados por Wang *et al.* (2022) se determinó la relación nitrato/amonio (5/5) como más apropiada para reducir la incidencia de *Ralstonia solanacearum* causante de la marchitez bacteriana en el cultivo de sésamo (*Sesamum indicum* L.).

La mayoría de los estudios sobre la relación entre la nutrición mineral y las enfermedades de las plantas se han realizado con enfermedades causadas por hongos y oomicetos; actualmente son pocos los estudios que abordan la relación de nutrición con la severidad de infecciones bacterianas incluidas el patosistema Cmm-jitomate (Zimmerman *et al.*, 2016). En el presente estudio se evaluó la forma de aporte de nitrógeno nitrato/amonio del total de nitrógeno utilizado en la solución Steiner en conjunto con activadores de planta como agentes de biocontrol e inductoras de resistencia de plantas en el rendimiento de jitomate y la severidad de Cmm en condiciones de invernadero.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de dos fuentes de nitrógeno en la nutrición y activadores de planta en el rendimiento y severidad de *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* en jitomate en invernadero.

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto como promotor de crecimiento de *Bacillus* sp, *Brevibacillus* sp y la proteína harpin en combinación con la nutrición.
- Evaluar el efecto de la nutrición en combinación con la inoculación de *Bacillus* sp, *Brevibacillus* sp y proteína harpin en la severidad del cancro bacteriano en jitomate.

2.3. Hipótesis

La combinación entre nitrato y amonio en conjunto con la inoculación de activadores de planta se tendrá mayor protección a la planta de jitomate contra la infección de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910) Davis

Cmm es una bacteria Gram positiva, en forma de bacilos irregulares que no forman esporas. La temperatura que favorece el crecimiento es de 25 a 30 °C y un pH neutro a ligeramente alcalino (Singh & Bharat, 2017). Son aerobios obligados, catalasa positivas, oxidasa negativas, producen ácido a partir de glucosa, galactosa y manosa (Abo *et al.*, 2019). La pared celular contiene los polisacáridos galactofurano y galactomanano (Kim *et al.*, 2021). El contenido de G+C del ADN es de alrededor del 72.66 % (Wittmann *et al.*, 2011).

El cancro bacteriano causado por Cmm es la enfermedad más destructiva del cultivo de jitomate en invernadero y campo, provocando grandes pérdidas de rendimiento (Montenegro *et al.*, 2018). Al colonizar el xilema forma una biopelícula que facilita el movimiento en el sistema vascular (Chalupowicz *et al.*, 2012). Sobrevive externamente e internamente en las semillas de jitomate (Riveiro *et al.*, 2016). Cuando Cmm se transmite por semilla (Sen *et al.*, 2015) o en etapa de plántula, afecta la calidad y rendimiento y llega a causar la muerte de la planta; por el contrario, en etapa adulta se ha observado que puede o no afectar el rendimiento (Nandi *et al.*, 2018); asimismo, se puede transmitir por contacto del fluido de gutación entre plantas sanas y enfermas (Sharabani *et al.*, 2013). Se ha documentado que ciertas condiciones climáticas aumentan la severidad de los síntomas de marchitamiento unilateral y necrosis de las hojas (Sen *et al.*, 2015).

Los síntomas en hojas se observan como manchas aceitosas de color verde opaco que se secan y luego se tornan marrones; en casos severos puede llegar a secar la planta completa. En infecciones por Cmm, el fruto puede no desarrollarse, madurar de forma desigual o caerse y en algunos casos formarse hendiduras llamadas “cancros”. En tallos se forman lesiones a lo largo del mismo ocasionando cancos (EPPO, 2016). Dependiendo de la variedad de jitomate, puede o no presentar cancos en el tallo o fruto y en las hojas exudados bacterianos (Yadeta & Thomma, 2013).

3.2. Activadores de resistencia sistémica adquirida e inducida en plantas

Las plantas en su hábitat natural se enfrentan a un estrés biótico o abiótico constante. La resistencia sistémica adquirida (SAR) y la resistencia sistémica inducida (ISR) son dos vías de defensa de las plantas ante situaciones de estrés (Kamle *et al.*, 2020).

La SAR es inducida por el estímulo de patógenos (Tripathi *et al.*, 2019) o por el medio ambiente, y es dependiente del ácido salicílico (SA) (Gao *et al.*, 2015), expresando mayor capacidad de defensa contra posteriores adversidades bióticas (van Loon, 2016). El SA es una fitohormona que tiene un rol en respuestas fisiológicas de la planta incluyendo la defensa tanto locales como sistémicas de las plantas (Gao *et al.*, 2015). Existen algunas sustancias químicas análogas al SA que inducen SAR en las plantas (Tripathi *et al.*, 2019). Dentro de ellos, la proteína harpin ha demostrado inducir resistencia contra varios patógenos y promover el crecimiento vegetal (Liu *et al.*, 2020) en una amplia gama de cultivos (Pavli *et al.*, 2011).

La ISR es activada por microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR), su modo de acción es a través del incremento de barreras físicas o químicas en la planta hospedante y no directamente sobre la muerte o inhibición por contacto del patógeno (Kamle *et al.*, 2020). Ejemplo de lo anterior se ha evidenciado con las cepas *Bacillus* sp. H8-1 y *Bacillus* sp. K203 los cuales retardaron la colonización del patógeno Cmm en plantas de jitomate (Jang *et al.*, 2022). Kolomiets (2017) y colaboradores encontraron que las formulaciones biológicas Phytocide y Phytohelp con *Bacillus subtilis* como ingrediente activo mostraron actividad antibacteriana a los fitopatógenos *Xanthomonas vesicatoria* y Cmm. *Brevibacillus brevis* GZDF3 controló organismos patógenos como *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* (Shi *et al.*, 2015).

3.3. *Bacillus* sp.

Bacillus sp. son bacterias Gram positivas, aeróbicas y formadoras de endosporas que promueven el crecimiento e inducción de resistencia sistémica en plantas contra patógenos (Tiwari *et al.*, 2019). Están ampliamente distribuidos en varios nichos ecológicos que incluyen suelo, plantas y agua (Ngalimat *et al.*, 2021). Betiku *et al.* (2017)

eviednciaron que el 8 % del genoma de estas especies alberga genes para la producción de metabolitos secundarios. El género *Bacillus* sp. ha mostrado alta actividad antagónica contra *Sclerotium rolfsii* causante del marchitamiento y pudrición de la raíz de la remolacha azucarera (Farhaoui *et al.*, 2022). Cepas de *B. amyloliquefaciens* pueden fijar nitrógeno, solubilizar fosfato y producir sideróforos y fitohormonas, así como compuestos antimicrobianos (Ngalimat *et al.*, 2021) que promueven la supresión de patógenos (Belbahri *et al.*, 2017; Konappa *et al.*, 2020).

3.4. *Brevibacillus* sp.

El género *Brevibacillus* incluye especies Gram positivas (Chen *et al.*, 2012), aeróbicas, formadoras de endosporas (Ray *et al.*, 2020), producotras de péptidos antimicrobianos (Yang *et al.*, 2018). Especies dentro de este género actúan como promotores de crecimiento y agentes de biocontrol contra enfermedades de las plantas (Ray *et al.*, 2020) entre las que se encuentran especies como *B. agri*, *B. borstelensis*, *B. brevis*, *B. centrosporus*, *B. choshinensis*, *B. formosus*, *B. laterosporus*, *B. parabrevis*, *B. reuszeri* y *B. thermoruber* (Hatayama *et al.*, 2014; Panda *et al.*, 2014).

Diferentes cepas de *Brevibacillus laterosporus* tienen actividad antimicrobiana y antifúngica (Ruiiu, 2013). *Brevibacillus invocatus* es una rizobacteria que actúa como promotor de crecimiento de plantas y biorremediador de los efectos de salinidad (Urooj & Riaz, 2022). Las cepas *Brevibacillus brevis* X23 y X23-WT son agentes de biocontrol contra la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* en tabaco (Lu, 2014; Liu *et al.*, 2022). La inoculación de *Brevibacillus laterosporus* incrementó el peso fresco/seco, altura de la planta y el crecimiento de las raíces laterales en el cultivo de manzana (*Malus robusta*) (Wang *et al.*, 2022).

3.5. Proteína harpin

La proteína harpin es de mucho interés debido a la incursión de las exigencias de normas de calidad e inocuidad de los alimentos; actualmente la proteína harpin se considera una alternativa a ciertos plaguicidas sintéticos (Hael *et al.*, 2018). Son proteínas secretadas por bacterias Gram negativas durante la interacción planta-patógeno que pueden actuar como inductores de defensa y crecimiento en múltiples cultivos (Liu *et al.*, 2020). La

primera proteína harpin fue extraída de *Erwinia amylovora* por Wei y colaboradores en 1992 y su aplicación indujo resistencia sistémica adquirida a *Peronospora parasitica* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Qiu & Wei, 2000) y tolerancia a la sequía en *Arabidopsis* (Dong *et al.*, 2005). La proteína harpin aislada de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* HNHK, es estable a elevadas temperaturas (mas de 200 °C) e induce resistencia a *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) en tabaco (*Nicotiana tabacum*) (Liu *et al.*, 2020). La proteína harpin de *Ralstonia solanacearum* tiene efecto de reacción de hipersensibilidad e inducción de defensa en *Nicotiana benthamiana* contra *R. solanacearum* (Sun *et al.*, 2020). La harpina de *X. citri* pv. *mangiferae* es una proteína estable al calor e induce resistencia a TMV y reacción de hipersensibilidad en hojas de tabaco, además de incrementar la germinación de semillas de *Arabidopsis thaliana* (Zhou *et al.*, 2019). Sands (2022) y colaboradores determinaron que el pretratamiento con harpinas mejora la resistencia a *Pythium aphanidermatum* en plántulas de cáñamo (*Cannabis sativa*), además de mejorar su crecimiento.

3.6. Solución nutritiva

En una solución nutritiva (SN) los factores de mayor relevancia a considerar son la relación mutua entre los cationes (K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) y aniones (NO_3^- , $H_2PO_4^-$ y SO_4^{2-}), la concentración de los nutrientes (CE), el pH, y la temperatura (Steiner, 1961; Serna *et al.*, 2011). No existe una SN que sea exclusiva para una condición o cultivo ya que la relación de los nutrientes depende de las condiciones ambientales, las características genéticas y etapa fenológica de la planta (Jones, 2005; Sonneveld y Voogt, 2009). De acuerdo con Maya (2014), Lucas y Davis (1961) el pH se debe mantener entre 5.5 - 6.0 y la temperatura lo más cercana a 22 °C para que los nutrientes estén disponibles para la planta (De Reijck & Schrevens, 1998).

Los nutrientes tienen un papel importante en el desarrollo de las plantas y del patógeno, ya que su concentración en la planta puede afectar la resistencia a las enfermedades (Klessig *et al.*, 2018). La función del nitrógeno (N) en las plantas es estructural, así como de transporte y regulación osmótica (Chowdhury & Das, 2015; Alcantar *et al.*, 2016). El N es constituyente estructural principal de la pared celular, en moléculas de ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas, clorofilas y alcaloides que son esenciales para el

crecimiento, y actúa como activador de todas las enzimas (Bloom, 2015). La relación del N con la función osmótica está asociada al proceso de osmorregulación en vacuola, que le permite retener al agua; influye en procesos de absorción iónica, fotosíntesis, respiración, multiplicación y diferenciación celular (McIntyre, 1997; Mengel y Kirkby, 2001; Alcantar *et al.*, 2016). Altas concentraciones de N pueden ocasionar disminución en el contenido de fenoles que son precursores de lignina, menor cantidad de silicio (Si) y manganeso (Mn), afectando la tolerancia a las enfermedades (Dordas, 2008).

Las plantas pueden absorber diversas formas de N: nítrica, amoniacal y ureica (Britto y Kronzucker, 2002); el nitrato (NO_3^-) es la fuente más utilizada por la mayoría de las plantas (Mengel & Kirkby, 2000; Miller & Cramer, 2005); el amonio (NH_4^+), en ciertas concentraciones, puede ser tóxica para algunos cultivos (Salsac *et al.*, 1987) y generalmente se recomienda aplicarlo en pequeñas concentraciones (Portree, 1997).

La fuente de N disponible producirá diferencias en la respuesta de la planta debido a su formulación química (NO_3^- , NH_4^+ , $\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$). La absorción de ambos es fácil, pero el efecto fisiológico y metabólico es diferente (Resh, 1996; Hirel *et al.*, 2011; Lea & Mifflin, 2011). Se ha comprobado que hay cambios en el pH de la rizósfera (Marschner, 1995), en contenido de carbohidratos, aminoácidos en raíz y follaje (Raab & Terry, 1995) y en la absorción y transporte de otros nutrientes (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , SO_4^{2-} , H_2PO_4^- y Cl^-) (Mengel & Kirkby, 2001). El sitio de asimilación y consumo de energía es diferente; el NH_4^+ se incorpora a la síntesis de compuestos orgánicos nitrogenados (glutamina, asparagina y otros aminoácidos) en la raíz con un gasto de 5 mol de ATP por cada mol de NH_4^+ . El NO_3^- se transporta hacia las hojas teniendo un consumo de 15-16 mol de ATP (Salsac *et al.*, 1987).

3.7. El amonio (NH_4^+) en las plantas

Altas concentraciones de NH_4^+ en el suelo o en la solución nutritiva pueden producir bajo rendimiento en los cultivos, debido a la acidificación en la rizosfera por la absorción de NH_4^+ (Britto & Kronzucker, 2002). También, bajo esta condición se puede inducir bajas concentraciones de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} (Balkos *et al.*, 2010) y mayor disponibilidad de Mn, Zn, Cu y Fe (Dordas, 2008).

Entre las especies de plantas, la respuesta a la nutrición por NH_4^+ puede variar y depender de otros factores como edad, genotipo de la planta, temperatura, intensidad de luz, pH y concentración de otros nutrientes (Kotsiras *et al.*, 2002). Guo (2002) demostró que hay mayor conductancia estomática y tasa de asimilación de CO_2 con una nutrición equilibrada de NH_4^+ . Otros estudios han demostrado que fuentes de amonio suprimen la capacidad de penetrar la membrana celular con los patógenos *Fusarium oxysporum*, *F. graminearum*, y *Magnaporthae oryzae* (López *et al.*, 2010). Asimismo, la producción de pectinasas de *Dickeya dadantii* se disminuye en condiciones de baja concentración de amonio (Hugouvieux *et al.*, 1992). En jitomate, el amonio puede aumentar la incidencia del hongo *Fusarium oxysporum* y disminuir la de *Pseudomonas syringae* (Duffy & Défago, 1999; Fernandes *et al.*, 2015). En contraste, *Pyricularia sp.*, *Thielaviopsis basicola*, *Sclerotium rolfsii* y *Gibberella zeae* disminuyen su incidencia con niveles elevados de NH_4^+ (Dordas *et al.*, 2008). Munyasi y Gweyi (2019) demostraron una reducción de *Meloidogyne spp.* en pimiento dulce (*Capsicum annuum L.*).

3.8. El Nitrato (NO_3^-) en las plantas

El nitrato es móvil en las plantas, y se almacena en vacuolas (Beevers *et al.*, 1969). Es preferido por las plantas a pesar de su alto gasto energético (Chapin *et al.*, 1987; Sanchez *et al.*, 2015). Causa altas concentraciones de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} (Perdomo *et al.*, 1999), reduce la disponibilidad de Mn y Fe y aumenta el pH (Dordas., 2008). Promueve la síntesis y transporte de hormonas en la raíz, promoviendo el crecimiento en las plantas (Sheng *et al.*, 2013). Tsabarducas (2017) obtuvo mayor crecimiento en olivo (*Olea europaea* cv. kalamon) fertilizadas con NO_3^- como única fuente de nitrógeno.

La aplicación alta de nitrato resultó en mayor susceptibilidad de jitomate hacia *Oidium lycopersicum* y *P. syringae p.v. tomato* (Hoffland *et al.*, 2000) y una disminución en la severidad de la enfermedad ocasionada por la bacteria *Burkholderia glumae* (Long *et al.*, 2000). Dordas (2008) menciona que con altos niveles de NO_3^- se reduce la incidencia por *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium sp.*

3.9. Relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ y su efecto en el crecimiento y rendimiento de los cultivos

Algunos cultivares pueden incrementar su crecimiento y producción con aportes combinados entre nitrato y amonio en comparación con alguna de las dos formas de nitrógeno por separado (Tabatabaei, 2008; González *et al.*, 2009; Degiovanni *et al.*, 2010; Sheng *et al.*, 2013). Hay diferencias respecto a la concentración de amonio en la relación nitrato/ amonio que puede ser tolerada entre especies y cultivares de plantas (Claussen & Lenz, 1999). Gerendas (1997) y colaboradores recomiendan que la concentración del N en forma de amoniaco para jitomate no sea mayor a 3 % del nitrógeno total suministrado, pues es una especie sensible al amonio (Portree, 1997).

La relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva para uchuva (*Physalis peruviana L.*) no afectó la vida de anaquel de los frutos; sin embargo, con la relación 50/50 se obtuvo un aumento en el rendimiento (Antúnez *et al.*, 2014). González (2009) reportaron que la relación 80/20 en albahaca (*Ocimum basilicum L.*) incrementó 15 % su rendimiento. En jitomate obtuvieron mayor rendimiento en un 15 y 20 % al suministrar 10 y 20 % de NH_4^+ del nitrógeno total (Bianlczyk *et al.*, 2007; Siddiqui *et al.*, 2002). La relación 90:10 indujo síntesis de óxido nítrico (NO) en mini plántulas de col china bajo condiciones de poca luz, disminuyendo con ello el estrés por poca luz (Hu, 2015; Hu, 2017; Hu, 2019). Las combinaciones de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ en una proporción apropiada incrementó el crecimiento y rendimiento de jitomate (Claussen, 2002; Ben *et al.*, 2004; Borgognone *et al.*, 2013).

3.10. Relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ y su efecto en la inhibición de patógenos en los cultivos

Diversas especies de plantas hospedantes son más o menos susceptibles a la infección por patógenos bajo un alto suministro de N. Alta fertilización con N incrementó el daño ocasionados por *Botrytis cinerea* en lechuga (Lecompte *et al.*, 2013), mientras que en jitomate disminuyeron (Hoffland *et al.*, 1999; Vega *et al.*, 2015). Lo anterior también se ha relacionado con la fuente de suministro de N, la producción de metabolitos de defensa en las plantas y la virulencia del patógeno (Lecompte *et al.*, 2010; Fagard *et al.*, 2014). La variación de defensa modulada por N también está asociada con la activación de la vía de defensa del SA (Ding, 2021). En tabaco fertilizado con NH_4^+ mostró una disminución de la resistencia al ataque por *Pseudomonas syringae pv. tabaci* respecto a

las cultivadas con fertilizante NO_3^- (Gupta *et al.*, 2013). Por el contrario, en jitomate se ha observado un aumento de la resistencia a *P. syringae* en plantas fertilizadas con NH_4^+ (González *et al.*, 2019).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Zona de estudio y material vegetal

El experimento se llevó a cabo en un invernadero cenital, en el área experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Se utilizaron 120 plántulas de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) híbrido OptiMax de la casa comercial Sakata susceptible al cancro bacteriano. Las plántulas se trasplantaron el 13 de septiembre de 2021, en bolsas de plástico negras (25 x 25 cm). Inicialmente, en el fondo de las bolsas se agregaron 125 cm³ de tezontle grueso; posteriormente, se agregó una mezcla de turba y perlita en proporción 2:1, respectivamente.

4.2. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue bloques completos con tratamientos al azar. Ocho tratamientos con quince repeticiones. Los bloques se conformaron por dos regímenes de nutrición: solución Steiner (Steiner, 1984) al 100 % y Steiner modificado en el suministro del N total con una relación 85/15 de NO₃⁻ /NH₄⁺. En cada bloque, fueron cuatro tratamientos, conformados por los activadores de planta Romel (*Brevibacillus* spp.) (2.5 ml/L), Fungifree (*Bacillus* sp.) (2.5 ml/L), Messenger gold (proteína harpin αβ al 3%) (1.0 g/L), y el testigo negativo (agua destilada esteril) para evaluar la protección contra la infección de Cmm (Cuadro 1). Los datos se analizaron con el programa estadístico R (Jiménez, 2019), con los factores: tratamiento y nutrición.

Cuadro 1. Tratamientos establecidos en el experimento, los cuales están conformados por la forma de aporte de nitrógeno en la solución nutritiva más un activador de planta.

Nutrición	Activador de planta	Dosis (ml o g/L)	Tratamiento
Steiner 100 %	Romel	2.5	SRR
	Fungifree	2.5	SFF
	Messenger Gold	1	SMG
	Testigo	0	STT
Steiner 85/15 (NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺)	Romel	2.5	N85RR
	Fungifree	2.5	N85FF
	Messenger Gold	1	N85MG
	Testigo	0	N85TT

4.3. Fertilización y desarrollo del cultivo

El suministro de las soluciones nutritivas (Cuadro 2) y la aplicación de los activadores de planta (productos comerciales) se realizó a los cinco días después del trasplante. Las soluciones nutritivas se aplicaron diariamente mediante riego por goteo hasta el término del cultivo (Figura 1. A). Se efectuaron cuatro riegos diarios durante tres minutos hasta los dos meses de desarrollo vegetativo; a partir de esta etapa fenológica, el riego se prolongó durante 10 minutos. La aplicación de los activadores de planta se efectuó semanalmente a las dosis establecidas por el fabricante (Cuadro 1).

Cuadro 2. Formulación de las soluciones nutritivas Steiner 85/15 ($\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$) y Steiner 100 %.

	Aniones			meq/L ⁻¹	Cationes			
	NO_3^-	H_2PO_4^-	SO_4^-		K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	NH_4
S.N 85/15	10.2	1	8.8		6.37	8.19	3.64	1.8
S.N 100%	12	1	7		7	9	4	0

Nota; S.N 85/15: Solución nutritiva 85/15, S.N 100%: Solución nutritiva 100 %.

El tutoreo de las plantas se realizó conduciendo a un tallo cuando estas alcanzaron una altura de 15 a 20 cm (Figura 1. B); a partir de esta labor se inició el desbrote axilar (Figura 1. C). El primero y segundo deshoje se realizó cuando la planta contaba con más del 50 % del llenado de frutos en su primer y segundo racimo respectivamente (Figura 1 D). La cosecha de fruto se realizó al momento que este alcanzó el grado de madurez 6 (color rojo) (Figura 1. E), conforme a lo establecido en la Norma Mexicana NMX-FF-009 (SAGARPA, 2005). El experimento finalizó a los 112 días después de la inoculación (ddi), cuando todos los frutos alcanzaron el grado de madurez 6 (color rojo).

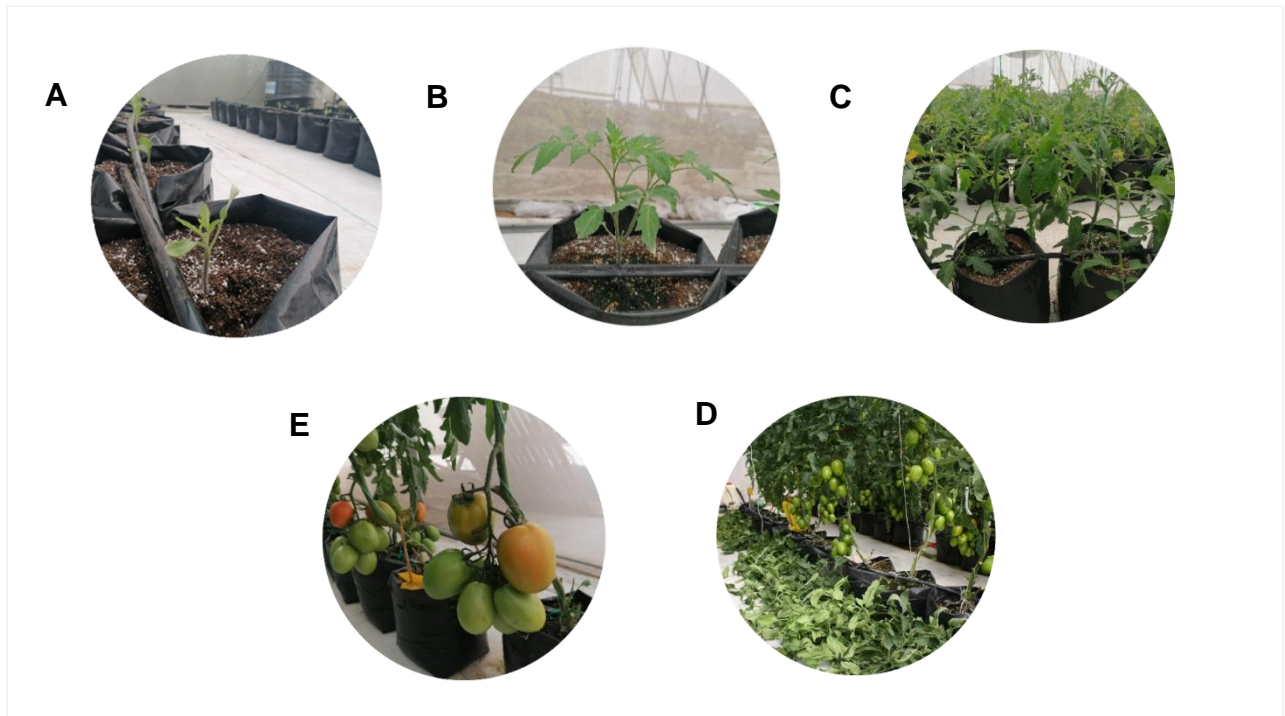


Figura 1. Desarrollo del cultivo de jitomate en invernadero. A) Trasplante, B) Tutoreo a un tallo, C) Desbrote axilar, D) Deshoje y E) Cosecha.

4.4 Inoculación de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

La inoculación de Cmm se realizó con la cepa CP_Cmm-1 patógena la cual se identificó como altamente agresiva y se caracterizó previamente por amplificación y secuenciación del plásmido pCM2 que alberga el fragmento específico del gen *pat-1* (serina proteasa), así como por serología con los sistemas API20 E (Biomérieux, Durhan, NC, U.S.A.) y el kit comercial DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (Agdia® Inc, SRA 44000/0096) con anticuerpos específicos para Cmm (Rivera-Sosa *et al.*, 2022).

La cepa CP_Cmm-1 (Figura 2. A) se sembró en medio agar nutritivo y se incubó a 28 °C durante 48 horas (Figura 2. B). Posteriormente, en un matraz con 1 L de agua destilada estéril se preparó una suspensión con 10⁹ UFC/mL (Figura 2. C) basado en la escala de McFarland y verificado por recuento de colonias en placa. La inoculación de las plantas de jitomate en invernadero se realizó por el método de corte de pecíolos con tijeras embebidas en la suspensión bacteriana de Cmm (Maeso, 2020), la cual se llevó a cabo en la hoja número tres del ápice cuando más del 50 % de las plantas tenían 15 hojas

verdaderas (Figura 2. D). El testigo fue el corte con tijeras embebido en agua destilada estéril.

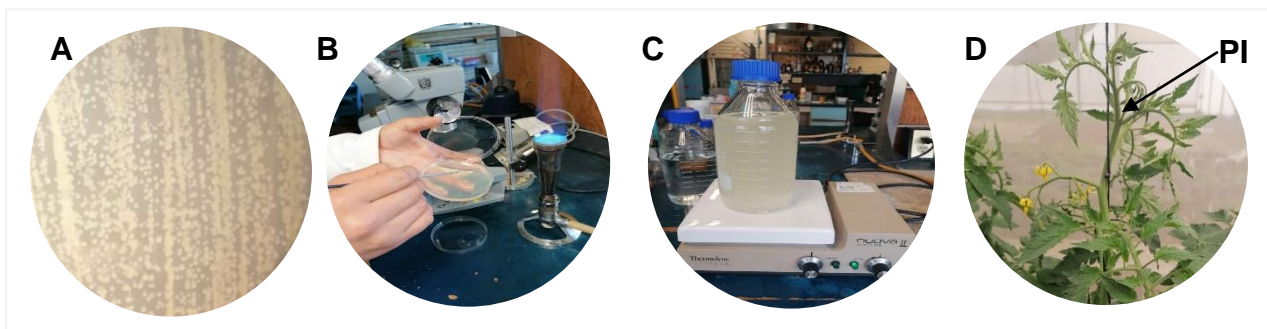


Figura 2. Inoculación de la cepa CP_Cmm-1 en plantas de jitomate en invernadero. A y B) Morfología de la cepa CP_Cmm-1 en medio agar nutritivo, C) Suspensión celular con 10^9 UFC/mL de Cmm, D) Punto de inoculación (PI) en la tercera hoja apical de las plantas de jitomate.

3.4 Variables de crecimiento

Al final del experimento en todos los tratamientos se evaluaron las variables: número de hojas, altura de planta, índice de área foliar, longitud de raíz, número de frutos, peso fresco y seco de racimos, hojas, tallos y raíz. Las variables número de hojas y altura de planta se evaluaron una vez por semana. El índice de área foliar, longitud de raíz, número de frutos, peso fresco/seco de racimos, hojas, tallos y raíz se evaluaron cada dos meses. El índice de área foliar (m^2 de hoja por m^2 de área cubierta) se determinó con un integrador de área foliar LI-COR, LI-3100C AREA METER, E. U. La altura de planta (cm) se determinó con un flexómetro Titan Tools, 10901, midiendo a partir de la base del tallo hasta el ápice. La longitud de la raíz (cm) se midió con una regla desde el inicio hasta la punta de la raíz más larga, el número de frutos se registró contabilizando el total de frutos producidos por plantas. El peso fresco y peso seco (g) de racimos, hojas, tallos, y raíz se realizó mediante una separación por órgano de la planta. Las variables de peso seco (g) se determinaron después del secado completo en una estufa a $70\text{ }^\circ\text{C}$. Todo lo anterior se realizó en una balanza analítica Stay Elit D-Weight DGIT-01.



Figura 3. Proceso de toma de muestras y determinación de variables de crecimiento. A) muestra de planta y separación por órganos, B) Índice de área foliar, C) Determinación de peso fresco, D) Secado de muestras en estufa a 70 °C, E) Molino para muestras secas, F) Muestras secas de los tratamientos.

3.5 Variables del rendimiento

Se determinaron las variables del diámetro (mm) en el centro del fruto con un vernier electrónico REXQualis, None. Así mismo, se contabilizó el número de frutos grandes, medianos y chicos conforme la maduración de los mismos clasificados acorde a la Norma Mexicana NMX-FF-009 (SAGARPA, 2005) (Cuadro 3) mediante la sumatoria de todos los frutos cosechados en cada corte para cada unidad experimental.

Cuadro 3. Clasificación de jitomate roma o saladette (SAGARPA, 2005).

Tamaño	Diámetro en mm		No. Frutos/caja 25 lb
	Mínimo	Máximo	
Chico	38	52	más de 160
Mediano	53	60	140-160
Grande	61	71	115-135
Extra grande	72	76	95-100
Max. Extra grande	Más de 76		90 o menos

El peso y número total de frutos sin importar la categoría se determinó al término de la cosecha por cada tratamiento. El cálculo de Kg de jitomate por planta se determinó mediante la suma del peso total de frutos dividido entre el número total de plantas por tratamiento. Asimismo, el cálculo de Kg/m² de jitomate producidos se determinó mediante la multiplicación de Kg/planta por la densidad de plantas por m² en el invernadero.

3.6 Variables de micro y macronutrientes

En las mismas muestras de plantas a las que se les midieron las variables crecimiento peso fresco/seco, se determinó la absorción de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn y Mn mediante un análisis de contenido nutricional en tejido vegetal en hojas. Para ello, las muestras se secaron en una estufa a 70 °C y se molieron y almacenaron en bolsas de papel. Después, en un matraz Kjeldahl se colocó 0.5 g de la muestra molida, adicionando 4 ml de una mezcla diácida (ácido sulfúrico y ácido perclórico relación 4:1 v/v) más 1 ml de agua oxigenada al 30 %; el matraz se colocó sobre una plancha o bloque digestor a temperaturas de 350 a 400 °C hasta la ebullición y cambio a un color claro del extracto. Una vez que la muestra se enfrió a temperatura ambiente, se aforó a 50 ml con agua destilada (Figura 4). La determinación del nitrógeno total absorbido se realizó por el método de Kjeldahl (Chapman & Pratt, 1973) (Figura 6). El contenido de fósforo se determinó por el método amarillo de molibdovanadato con absorbancia a 420 nm en un espectrofotómetro GENESYS 10 UV (Chapman & Pratt, 1973) (Figura 5). El contenido de potasio y calcio se determinó por el método de flamometría JENWAY (Chapman & Pratt, 1973). Las concentraciones de Mg, Fe, Cu, Zn y Mn fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica Pye Unicam SP 9 de Phillips (Chapman & Pratt, 1973).

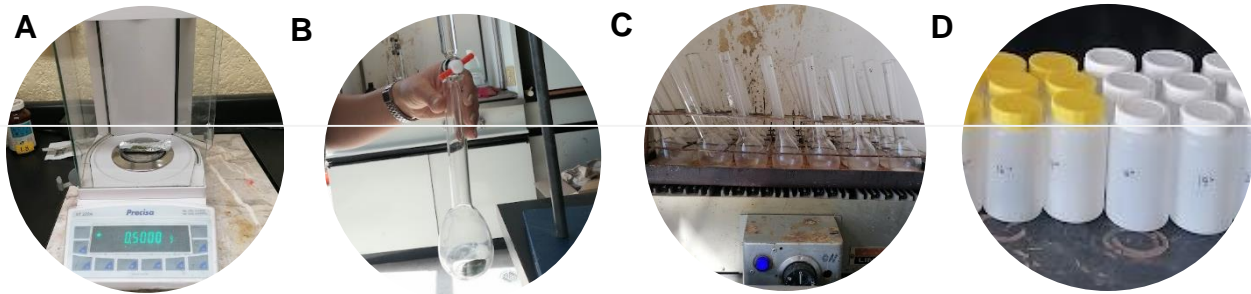


Figura 4. Digestión de muestras para la determinación de absorción de micro y macronutrientes. A) Pesado de 0.5 g de muestra seca, B) Adición de la mezcla di ácida, C) Muestras en bloque digestor, D) Aforado a 50 ml con agua destilada estéril.

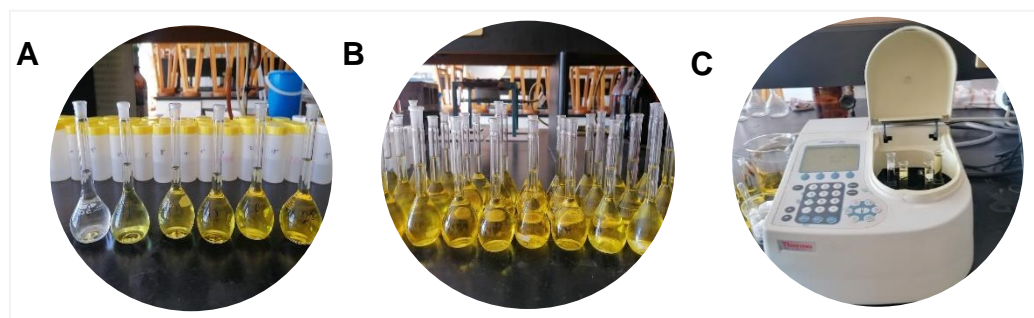


Figura 5. Método amarillo de Molibdovanadato (Chapman & Pratt, 1973), para determinar el contenido de Fósforo. A) Escala, B) Muestras para medición, C) Espectrofotómetro.

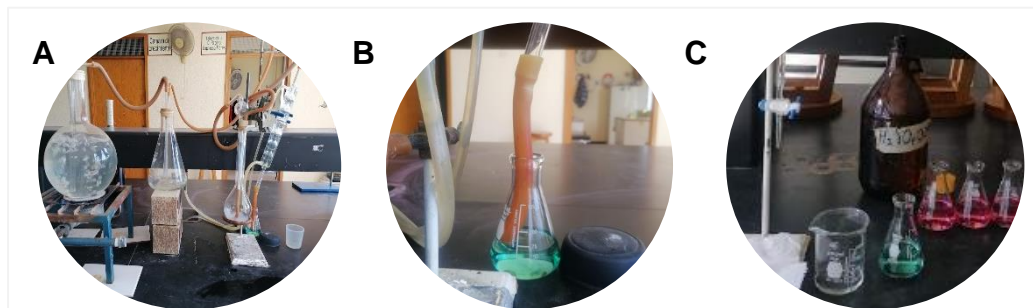


Figura 6. Método de Kjeldahl (Chapman & Pratt, 1973), para determinar la absorción de Nitrógeno. A) Arrastre de vapor, B) Condensado, C) Titulación.

3.7 Patogenicidad y severidad de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

La severidad de Cmm en los diferentes tratamientos se evaluó durante 78 días. Los síntomas causados por Cmm en toda la planta y el porcentaje de hojas verdaderas con presencia de síntomas se evaluaron a partir de la primera semana después de la inoculación. Para esto, se utilizó una escala de severidad arbitraria de la enfermedad en

planta completa de 0-5 grados donde: 0= planta sana o asintomática, 1= hasta 20 %, 2= de 21 a 40 %, 3= de 41 a 60 %, 4= de 61 a 80 %, 5= Mas de 81 % del área total de la planta con síntomas típicos de cancro bacteriano. Asimismo, se utilizó una escala de severidad para hoja de 0-5 grados donde: 0= hoja sana, 1= hojas con epinastia o pérdida de turgencia; 2= hojas con pérdida de turgencia en la mitad del foliolo y la otra mitad aparentemente sano; 3= marchitez, coloraciones marrón en $\frac{3}{4}$ de la hoja, 4= marchitez y coloraciones marrón en toda la hoja y clorosis intervenal, 5= presencia de cancro en tallo del foliolo (Figura 7) (Rivera *et al.*, 2022). La escala de severidad para fruto de 0 a 1; 0= ausencia de síntomas, 1= presencia de síntomas (Figura 9). La escala de severidad en tallo de 0 a 3; 0= tallo sano, 1= presencia de cancro, y si hubiera presencia de cancro este va de grado 1 a 3; 1= cancro de $\frac{1}{3}$ del tallo, 2= cancro de $\frac{1}{2}$ del tallo, 3= cancro de todo el tallo (Figura 8).

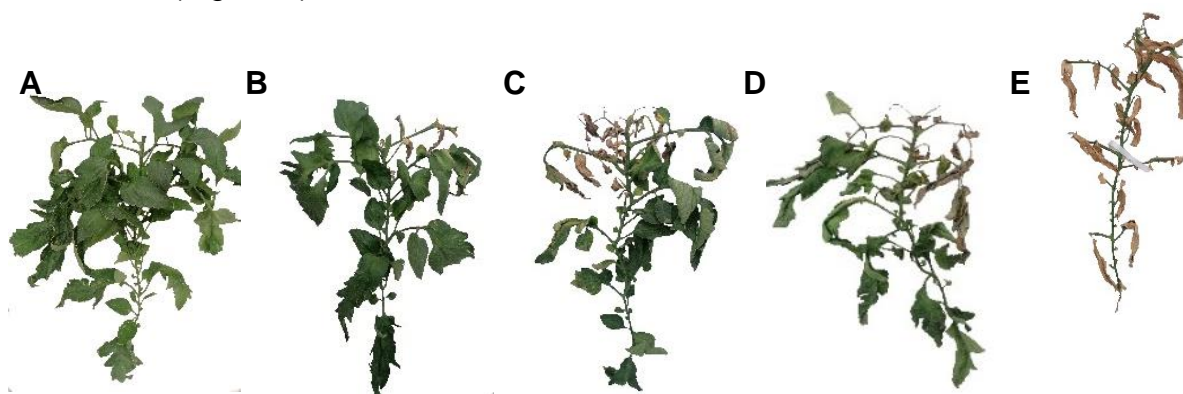


Figura 7. Escala de severidad para hoja (grados de severidad). A) 1, B) 2, C) 3, D) 4, E) 5.

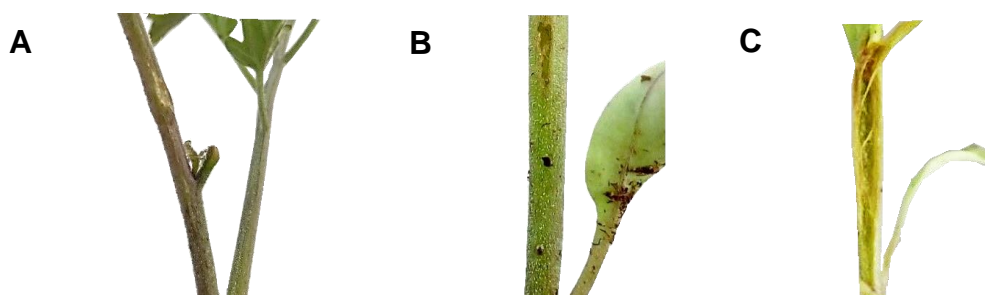


Figura 8. Escala de severidad para cancro en tallo (grados de severidad). A) 1, B) 2, C) 3.

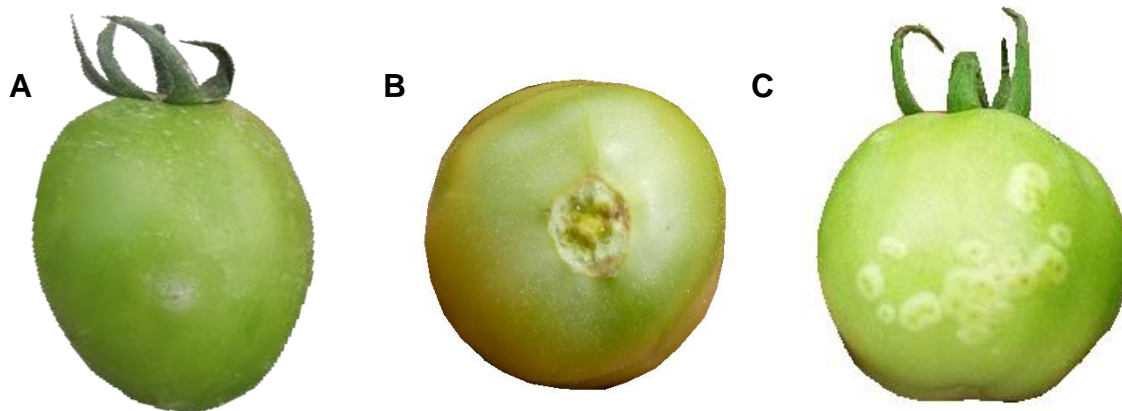


Figura 9. Escala de severidad en fruto (grado de severidad). A) Ausencia de síntomas = 0, B y C) presencia de síntomas en pedúnculo, y canchros = 1.

3.8 Reaislamiento bacteriano e identificación del patógeno.

De los tratamientos con plantas que mostraron síntomas característicos causados por Cmm se tomaron muestras de tejido vascular de 3 cm de longitud. Los trozos de tejido se maceraron en agua destilada estéril (Figura 10); de aquí, se realizó un estriado de esta suspensión en medio de cultivo agar nutritivo y se incubó a 28 °C durante 48 horas. Del crecimiento bacteriano se purificaron colonias bacterianas con la morfología descrita para Cmm. Las cepas se caracterizaron por infiltración en el envés de hojas de maravilla (*Mirabilis jalapa*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*), así como tinción de Gram. Para confirmar la identidad de Cmm se realizó PCR utilizando los iniciadores específicos CMM5F-5'GCGAATAAGCCCATATCAA 3' y CMM6R-5' CGTCAGGAGGTCGCTAATA 3'desarrollados por Dreier *et al.* (1995). Las secuencias obtenidas se compararon en el banco de genes (Gen Bank) del Centro Internacional para la Información en Biotecnología (NCBI-National Center of Biotechnology Information), empleando el algoritmo Blastx del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI).

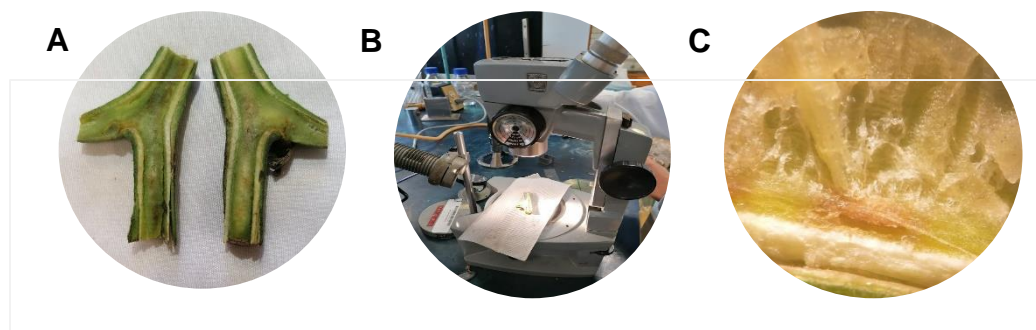


Figura 10. Reaislamiento de Cmm. A) Muestra de planta con síntomas visibles en haces vasculares en tallo de plantas de jitomate, B) Observación al microscopio, C) Signos de Cmm en tejido interno del tallo de jitomate.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL

5.1. Variables de crecimiento

Las variables de crecimiento evaluadas a los 78 días después del trasplante (ddt), se analizaron considerando los factores: tratamiento (activador de planta) y nutrición. Hubo diferencias significativas ($P=0.05$) con la nutrición, obteniendo mayores valores con la nutrición Steiner 100 %, para las variables peso fresco de hojas ($F_{1,14}=5.7$, $P=0.031$), peso seco de hojas ($F_{1,14}=7.18$, $P=0.017$), peso seco de racimos ($F_{1,14}=4.78$, $P=0.046$), número de racimos ($F_{1,14}=7$, $P=0.019$) y número de frutos ($F_{1,14}=5.2$, $P=0.038$) (Cuadro 4 y 5). El nitrógeno es uno de los nutrientes esenciales en la nutrición (Xun *et al.*, 2020); la fuente de suministro de nitrógeno en la fertilización de los cultivos interfiere en el crecimiento y desarrollo de la planta (Kant *et al.*, 2011). Un indicador de la óptima absorción del nitrógeno en los cultivos es el contenido de biomasa (Sarasketa *et al.*, 2014; Setién *et al.*, 2014); los resultados de esta investigación demostraron que el nitrato es una mejor forma de aporte nutrimental de nitrógeno para jitomate que el amonio, obteniendo mayor número de racimos y frutos con calidad de exportación. Estos resultados coinciden con los reportados por Chen *et al.* (2016) y Nawarathna *et al.* (2021), quienes concluyeron que la nutrición con suministro de nitrato como fuente de nitrógeno en jitomate en condiciones de invernadero, incrementa la biomasa vegetal en comparación con el suministro de amonio.

Cuadro 4. Efecto de la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 para las variables de crecimiento y peso fresco de jitomate.

	LR	IAF	AP	NHP	NR	NF	PFH	PFT	PFRaíz	PFRacimos
Steiner 100%	62.08a	7366.21a	66.83a	12.72a	4.58a	27.75a	1286.17a	314.42a	191.82a	338.2a
Steiner 85/15	58.25a	6619.70a	65.44a	12.39a	4.08b	23.17b	912.85b	282.73a	153.12a	222.24a
F-Valor	2.81	1.76	0.05	0.04	7.00	5.20	5.72	1.29	2.32	3.86
Pr<F	0.11	0.20	0.99	0.99	0.02*	0.04*	0.03*	0.27	0.14	0.06

LR= longitud de raíz; PFRaíz= peso fresco raíz; IAF= índice de área foliar; AP= altura de planta; NHP= número de hojas por planta; NR= número de racimos; NF= número frutos; PFH= peso fresco de hoja; PFT= peso fresco de tallos; PFRacimos= peso fresco de racimos. * = diferencia significativa entre tratamientos (P=0.05).

Cuadro 5. Significancia estadística para la nutrición Steiner 100 % NO₃ y Steiner 85/15 de NO₃/NH₄ en las variables de crecimiento en peso seco de jitomate.

	PSRaíz	PSH	PST	PSRacimos
Steiner 100%	37.06a	77.51a	53.17a	18.57a
Steiner 85/15	32.33a	51.79b	48.31a	11.64b
F-Valor	1.87	7.18	0.91	4.78
Pr<F	0.19	0.01*	0.35	0.04*

PSRaíz= peso seco raíz; PSH= peso seco hoja; PST= peso seco tallos; PFRacimos= peso seco racimos; * diferencia significativa entre tratamientos (P=0.05).

5.2. Variables del rendimiento

Las variables para el rendimiento se analizaron con los factores: tratamiento (activador de planta) y nutrición. Hubo diferencias entre tratamientos para la variable frutos chicos ($F_{7,16}=4.26$, $P=0.007$), obteniendo mayor cantidad de frutos chicos con el tratamiento Fungifree más Steiner 85/15 NO₃/NH₄ y menor cantidad con Fungifree más Steiner 100 % (Cuadro 6). Estos resultados destacan la importancia de la nutrición ya que lo único diferente entre los tratamientos fue la forma del nitrógeno suministrado. Se ha evidenciado que la mayoría de las plantas absorben y asimilan mejor el nitrógeno suministrado en forma de nitrato que el amonio (Boschiero *et al.*, 2019). Otras especies

de plantas han mostrado reducción del crecimiento o producción debido a la toxicidad causado por la absorción y asimilación de nitrógeno amoniacal (Sarasketa *et al.*, 2016).

Cuadro 6. Promedio de frutos entre tratamientos para las variables de rendimiento

N	Tratamientos	DF (cm)	NFG	NFM	NFCH	PTF (kg)	NTF	Kg/planta	Kg/m ²
Steiner 100 %	Romel	53.2 _a	14.0 _a	46.7 _a	22.7 _{ab}	9.0 _a	250.0 _a	2.3 _a	13.5 _a
	Fungifree	53.6 _a	14.3 _a	50.7 _a	19.0 _b	9.1 _a	252.0 _a	2.3 _a	13.6 _a
	Messenger Gold	53.8 _a	19.7 _a	42.3 _a	22.7 _{ab}	9.2 _a	240.0 _a	2.3 _a	13.8 _a
	Testigo	55.1 _a	21.3 _a	40.3 _a	15.7 _b	9.1 _a	232.0 _a	2.3 _a	13.6 _a
Steiner 85/15	Romel	50.5 _b	7.7 _a	36.3 _a	38.7 _{ab}	8.0 _a	248.0 _a	2.0 _a	11.9 _a
	Fungifree	50.0 _b	7.7 _a	36.0 _a	43.3 _a	8.2 _a	261.0 _a	2.1 _a	12.3 _a
	Messenger Gold	51.8 _b	10.7 _a	37.7 _a	33.3 _{ab}	8.7 _a	259.0 _a	2.2 _a	13.0 _a
	Testigo	53.8 _a	19.0 _a	38.3 _a	21.3 _{ab}	8.9 _a	236.0 _a	2.2 _a	13.3 _a
Significancia	F-Valor	2.70	0.98	0.32	4.26	0.07	0.07	0.06	0.07
	Pr<F	0.047*	0.478	0.935	0.008*	0.999	0.999	0.999	0.999

N= nutrición; DF= diámetro fruto; NFG= número de frutos grandes; NFM= número de frutos medianos; NFCH= número de frutos chicos; PTF= peso total de frutos; NTF= número total de frutos. “a, ab, b “. Los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes (P=0.05), * = significancia entre tratamientos (P=0.05). Letras iguales significa que no hubo diferencia, y letras diferentes en línea vertical, significan diferencias entre tratamientos.

Para las variables frutos chicos y diámetro de fruto se encontraron diferencias entre nutrición (Cuadro 7). Se obtuvieron más frutos chicos ($F_{1,16}=16.98$, $P<0.01$) con la nutrición Steiner 85/15 NO_3/NH_4 , lo que sugiere que el suministro de amonio afectó el rendimiento del cultivo. El efecto de la fuente de nitrógeno en la producción de frutos chicos en jitomate es consistente con los encontrados por investigaciones previas con Carreras *et al.* (2021), quienes informaron menor rendimiento comercial en plantas de jitomate fertilizadas con nitrato de amonio (NH_4NO_3) obteniendo en su mayor proporción frutos chicos. De acuerdo con otros autores, aportar el nitrógeno total en la nutrición mediante una relación nitrato/amonio ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$) también es causa de reducción en la calidad y tamaño de la fruta en jitomate (Howard *et al.*, 2021). En contraste, Perez *et al.* (2021) estudiaron la relación nitrato/amonio, y encontraron que la relación 92/8 incrementó el número de frutos por planta, peso promedio y tamaño de frutos; sin embargo, los resultados sugieren que para el híbrido Optimax de jitomate, no es recomendable la combinación de nitrato y amonio como fuente total de nitrógeno.

Cuadro 7. Efecto de la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 NO₃/NH₄ para las variables de rendimiento en jitomate.

Nutrición	DF (cm)	NFG	NFM	NFCH	PTF (kg)	NTF	Kg/planta	Kg/m ²
Steiner 100 %	53.90 a	17.30 a	43.83 a	34.16 a	09.10 a	04.54 a	00.76 a	04.54 a
Steiner 85/15	51.47 b	08.60 a	38.25 a	20.00 b	08.40 a	4.21 a	00.70 a	04.21 a
F-Valor	9.77	2.52	0.72	16.98	0.06	0.06	0.06	0.06
Pr<F	0.006*	0.13	0.41	0.001*	0.81	0.81	0.81	0.82

DF= diámetro de fruto; NFG= número de frutos grandes; NFM= número de frutos medianos; NFCH= número de frutos chicos; PTF= peso total de frutos; NTF= número total de frutos. "a, b" diferencia significativa entre nutrición (P=0.05). Letras iguales significa que no hubo diferencia, y letras diferentes en línea vertical, significan diferencias entre tratamientos.

El mayor diámetro de frutos ($F_{1,16}=9.77$, $P=0.0065$) se obtuvieron con la nutrición Steiner 100 % (Cuadro 8), lo que sugiere que con el cultivo de jitomate híbrido Optimax, para obtener mayor cantidad de frutos grandes y medianos, se requiere suministrar nitrato como única fuente de nitrógeno en la nutrición (Figura 11).

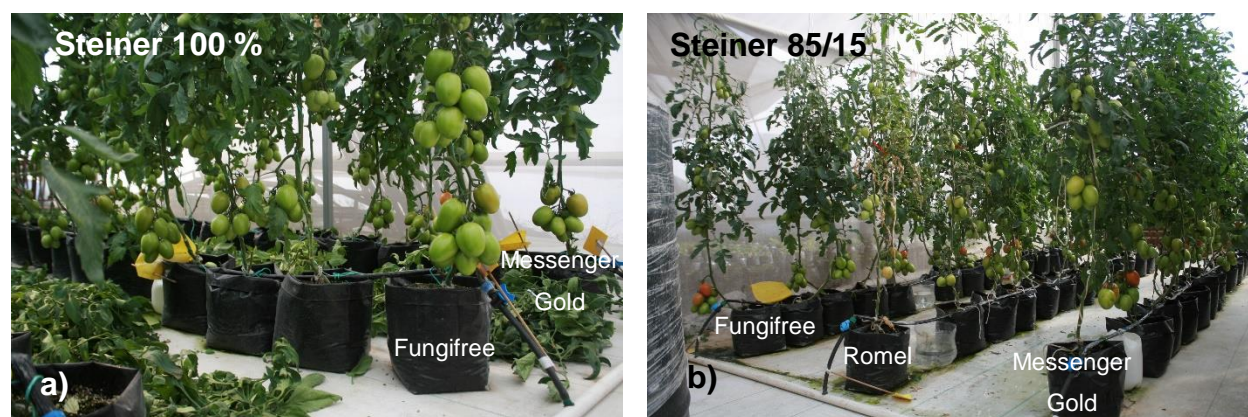


Figura 11. Planta de jitomate híbrido Optimax, en etapa productiva. a) Solución nutritiva Steiner 100 % más activadores de planta Messenger gold y Fungifree. b) Solución nutritiva Steiner 85/15 más los activadores de planta Messenger gold, Romel y Fungifree.

El amonio (NH₄⁺) puede afectar el desarrollo de las plantas debido a la toxicidad que pueda ocasionar, lo que depende de la especie, genotipo de la planta y las condiciones ambientales (Bittsánszky *et al.*, 2015). Esta forma de nitrógeno tiene un efecto de acidificación en la zona radical, resultando en una disminución en la absorción de Ca y

Mg (Dickson *et al.*, 2016), lo cual puede explicar el efecto en el tamaño de frutos en los tratamientos con suministro de solución nutritiva Steiner 85/15 de NO_3/NH_4 .

5.3. Variables de macro y micronutrientos

Las variables de macro y micronutrientos se analizaron con los factores: tratamiento y nutrición. Se encontraron diferencias estadísticas en la nutrición, con mayor absorción de nutrientes con el tratamiento Steiner 85/15 (Cuadro 8) de los macronutrientos N ($F_{1,62}=38.2$, $P<0.001$), K^+ ($F_{1,62}=18.23$, $P<0.001$) y micronutrientos Mn^{2+} ($F_{1,62}=19.32$, $P<0.001$), Cu^{2+} ($F_{1,62}=22.24$, <0.001) y Zn^{2+} ($F_{1,62}=7.17$, $P=0.0094$). Se ha determinado que el suministro de P nitrógeno en forma de amonio, al absorberse tiende a bajar el pH generando una acidificación del medio (Eck *et al.*, 2019), y promueve mayor disponibilidad para la planta de los elementos N, K^+ , Mn^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} (Alvarez *et al.*, 2016). De igual manera, el amonio restringe la absorción de cationes como Ca y Mg, que ocasiona reducción en el rendimiento (Ochieng *et al.*, 2021). En el cultivo de jitomate, la nutrición con base en NH_4^+ , promueve la acumulación de Zn y Mn en las hojas (Gonzales *et al.*, 2019). En el cultivo de albahaca dulce el aporte de amonio incrementó las concentraciones foliares de los macronutrientos K, Mg, Ca y los micronutrientos Fe y Zn (Aghaye *et al.*, 2019). En cambio, Nawarathna *et al.* (2021) mencionan que el suministro de NH_4^+ reduce la concentración de K^+ en los cultivos de pimiento y jitomate. Los resultados de este estudio sugieren que el suministro de N en forma de amonio incrementa la absorción de N, K, Ma, Cu y Zn; sin embargo, las plantas producen mayor cantidad de frutos chicos los cuales no son rentables para el comercio nacional e internacional. En cambio, cuando se hace el aporte de N en forma de nitrato, promueve mayor producción de frutos medianos y grandes.

Cuadro 8. Concentración de macronutrientos (%) y micronutrientos (mg·kg⁻¹) en hojas de jitomate con la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 NO₃/NH₄.

Nutrición	N	K	Ca	P	Mg	Mn	Cu	Fe	Zn
Steiner 100 %	3.76 _b	3.03 _b	1.60 _a	1.00 _a	0.50 _a	73.89 _b	10.77 _b	102.75 _a	6.74 _b
Steiner 85/15	4.11 _a	3.40 _a	1.60 _a	1.02 _a	0.50 _a	85.02 _a	12.58 _a	99.73 _a	7.92 _a
F-Valor	38.2	18.23	0.06	0.81	2.06	19.32	22.24	0.81	7.17
Pr<F	5.49 _e ⁻⁰⁸ **	6.82 _e ⁻⁰⁵ **	0.79	0.37	0.16	4.39 _e ⁻⁰⁵ **	1.40 _e ⁻⁰⁵ **	0.37	0.01*

N= nitrógeno; K= potasio; Ca= calcio; P= fósforo; Mg= magnesio; Mn= manganeso; Cu= cobre; Fe= hierro; Zn= zinc.

Cuadro 9. Absorción de macronutrientos (%) y micronutrientos (mg·kg⁻¹) en hojas con la nutrición Steiner 100 % y Steiner 85/15 más activadores de planta.

Nutrición	Tratamientos	N					mg·kg ⁻¹				
		N	K	Ca	P	Mg	Mn	Cu	Fe	Zn	
		(%)					mg·kg ⁻¹				
Steiner 100 %	Romel	3.9 _{abc}	3.1 _b	1.6 _a	1.1 _{ab}	0.5 _a	69.7 _a	12.9 _{ab}	98.3 _a	6.0 _b	
	Fungifree	3.8 _{cd}	2.9 _b	1.5 _a	0.9 _{ab}	0.5 _a	73.9 _a	10.1 _{ab}	93.3 _a	7.0 _b	
	Messenger Gold	3.8 _{bcd}	3.3 _{ab}	1.7 _a	1.1 _a	0.5 _a	78.2 _a	10.7 _{ab}	103.2 _a	7.0 _b	
	Testigo	3.5 _d	2.8 _b	1.5 _a	0.9 _b	0.4 _a	73.7 _a	9.4 _b	116.2 _a	7.0 _b	
Steiner 85/15	Romel	4.2 _{ab}	3.7 _a	1.6 _a	1.0 _{ab}	0.4 _a	78.7 _a	13.0 _{ab}	94.6 _a	7.5 _b	
	Fungifree	4.2 _a	3.3 _{ab}	1.6 _a	1.1 _{ab}	0.4 _a	89.9 _a	11.0 _{ab}	93.2 _a	4.9 _b	
	Messenger Gold	4.2 _a	3.2 _{ab}	1.5 _a	1.0 _{ab}	0.4 _a	84.4 _a	14.3 _a	93.8 _a	7.6 _b	
	Testigo	3.8 _{cd}	3.3 _{ab}	1.6 _a	1.0 _{ab}	0.5 _a	87.1 _a	12.0 _{ab}	117.3 _a	11.7 _a	
	F-Valor	10.53	3.36	1.56	2.30	0.49	1.97	10.66	9.97	10.91	
	Pr<F	1.08 _e ⁻⁰⁵ **	0.02*	0.20	0.08	0.68	0.12	9.52 _e ⁻⁰⁶ **	1.86 _e ⁻⁰⁵ **	7.50 _e ⁻⁰⁶ **	

N= nitrógeno; K= potasio; Ca= calcio; P= fosforo; Mg= magnesio; Mn= manganeso; Cu= cobre; Fe= hierro; Zn= zinc.

Entre los tratamientos hubo diferencias significativas en la concentración de los nutrientes N, K, P, Fe, Cu y Zn (Cuadro 9) en hoja. Hubo mayor absorción de N con Steiner 85/15 más Messenger Gold ($F_{7,62}=10.16$, $P<0.001$); K con Steiner 85/15 más Romel ($F_{7,62}=5.48$, $P=0.017$); P con Steiner 100 % más Messenger Gold ($F_{7,62}=4.83$, $P<0.001$); Fe con Steiner 85/15 testigo ($F_{7,62}=4.6$, $P<0.001$); Cu con Steiner 85/15 más

Messenger Gold ($F_{7,62}=9.55$, $P<0.001$) y Zn con Steiner 85/15 testigo ($F_{7,62}=10.27$, $P<0.001$). Estos resultados sugieren que podría haber un efecto en la interacción entre el activador de planta y la absorción de nutrientes; sin embargo, es necesario profundizar más en esta investigación para evidenciar esta interacción.

Se ha demostrado que la inoculación de la cepa *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 combinado con el suministro de amonio en la fertilización mejoró la movilización y absorción de N, K, P y Mn en los cultivos de maíz (Mpanga *et al.*, 2019) y de jitomate (Bradáčová *et al.*, 2019). Se consigna que los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM) tienen la capacidad de colonizar las raíces de su hospedante, y mejorar la disponibilidad de nutrientes en la zona radical (Lopes *et al.*, 2021). Así mismo, la proteína harpin induce mayor intercambio catiónico en la zona radical que promueve la disponibilidad de nutrientes (Huang *et al.*, 2021). Con el tratamiento Steiner 85/15 más Romel se observó la mayor absorción de K (Cuadro 9); al respecto, se han identificado cepas de *Bacillus* sp. entre las más eficientes solubilizadoras de K (Gandhi *et al.*, 2022).

En todos los tratamientos las plantas no mostraron síntomas evidentes de deficiencia nutrimental y los valores de concentración (Cuadro 9) coinciden en su mayoría con los valores óptimos para jitomate reportados por Guardiola y García (1990) excepto el P que en este estudio estuvieron en valores más altos que los reportados para el cultivo de jitomate. Las bacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPR) se caracterizan por su eficiencia para solubilizar P (Sharma *et al.*, 2013), dentro de estos, el género *Bacillus* se reporta que solubiliza fósforo significativamente hasta el 94 % (Gautam *et al.*, 2019); lo anterior podría explicar que los valores de P son superiores a los valores convencionales en este estudio. Además, se ha encontrado que la interacción entre P y N es sinérgica (Ferahtia, 2021), especialmente el NH_4^+ estimula la absorción de fósforo en las plantas debido a que el fosfato se absorbe a través de un proceso de anión/ H^+ (Zeng *et al.*, 2012). El tratamiento con Steiner 100 % más Messenger Gold fue donde se registró la mayor absorción de fósforo, lo cual indica que en conjunto la proteína harpin y nitrato mejoraron la absorción de fósforo, más que el amonio.

Con el tratamiento Steiner 100 % más Romel se observó amarillamiento en el borde de las hojas más viejas, lo cual podría indicar deficiencia de potasio (Eck *et al.*, 2019) (Figura 12). Los resultados de la concentración en hojas corroboraron que fue el tratamiento con menor cantidad de K; sin embargo, los valores aún se encuentran dentro del intervalo óptimos del jitomate (Bertsch *et al.*, 2009); lo anterior podría sugerir que *Brevibacillus* sp., el cual es el ingrediente activo del producto Romel, es una bacteria demandante de potasio cuando se suministra nitrato como fuente de fertilización nitrogenada.



Figura 12. Hojas con síntomas de amarillamiento en el borde de las hojas más viejas con el tratamiento Steiner 100 % más Romel.

Severidad de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

A partir de la inoculación con Cmm, durante 78 días se evaluó la severidad de porcentaje ponderado de daño (PPD), severidad en toda la planta (STP), incidencia en fruto (IF) y porcentaje de daño interno en tallo (PDIT). Los datos se analizaron estadísticamente con los factores: tratamiento y nutrición. Entre tratamientos sí se encontraron diferencias significativas de la severidad en el porcentaje ponderado de daño ($F_{5,60}=3.41$, $P=0.0087$) y la severidad en toda la planta ($F_{2,60}=5.43$, $P=0.0067$); la mayor cantidad de daño se registró con el tratamiento Steiner 85/15 NO_3/NH_4 más Romel y menor con Steiner 100 % más Messenger Gold (Cuadro 10).

Cuadro 10. Porcentaje de severidad de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en jitomate híbrido Optimax.

Nutrición	Tratamientos	PPD		STP		IF		PDIT	
	Romel	13.4	ab	27.2	ab	11.2	a	2.7	a
Steiner 100 %	Fungifree	18.7	ab	30.2	ab	6.1	a	3.0	a
	Messenger Gold	5.2	b	13.5	b	5.2	a	2.3	a
	Romel	22.7	a	42.8	a	9.8	a	1.7	a
Steiner 85/15	Fungifree	17	ab	31.8	ab	15.8	a	3.0	a
	Messenger Gold	6	b	17	ab	8.4	a	2.3	a
Significancia	F-Valor	3.41		5.43		0.66		1.97	
	Pr<F	0.009*		0.007*		0.654		0.156	

PPD= porcentaje ponderado de daño, STP= severidad en toda la planta, IF= incidencia en fruto, PDIT= porcentaje de daño interno en tallo, *=Significancia (P=0.05).

La forma de fertilización nitrogenada tiene implicaciones en la interacción planta-patógeno y es variable acorde al tipo de patógeno y especie de planta (Ding *et al.*, 2021). Los resultados de este estudio son similares a los obtenidos en otras investigaciones; Gupta *et al.* (2013) concluyeron que la fertilización nitrogenada con nitratos en tabaco indujo mayor resistencia contra *Pseudomonas syringae*. Zimmerman *et al.* (2016), evidenciaron reducción significativa de la severidad de *Acidovorax citrulli* en el cultivo de melón en condiciones de invernadero y Chi *et al.* (2019) en el cultivo de arroz con menor incidencia de *Rhizoctonia solani* con fertilización con nitratos. Se ha demostrado que la nutrición con nitrato como fuente de nitrógeno aumenta la resistencia de las plantas al producir poliaminas como señales de defensa, a diferencia del amonio que eleva el ácido γ -aminobutírico (GABA), el cual puede ser una fuente de alimento para algunos patógenos (Mur *et al.*, 2017). Otros estudios demostraron que la defensa modulada por nitrógeno dependía de la vía de defensa del ácido salicílico (SA), y el aporte con nitratos aumentaba los niveles de SA (Ding *et al.*, 2021).

Los resultados mostraron que la aplicación de la proteína harpin (Messenger Gold) con aporte de nitratos en la nutrición, reduce la severidad de la enfermedad causada por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en el cultivo de jitomate híbrido Optimax bajo condiciones de invernadero. Con este tratamiento, se registró menor severidad y promovió buen cuajado y llenado de frutos, así como mayor proporción de frutos medianos y grandes. Slavokhotova *et al.* (2020) demostraron que la proteína harpin es activa contra *Clavibacter michiganense* subsp. *nebrakensis* en el cultivo de maíz. Zhu *et al.* (2016) demostraron su eficacia en el cultivo de jitomate para el control de *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata*. Hussein & kamberoğlu (2017) obtuvieron reducción del desarrollo del virus de la papa X (PVX) en plantas de jitomate.

Los activadores de planta son compuestos, proteínas, o microorganismos como las rizobacterias que estimulan genes relacionados con la defensa de las plantas (Thakur y Sohal, 2013), mediante la activación de hormonas vegetales como el ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno (Rajwade *et al.*, 2020). El ácido salicílico activa en las plantas la resistencia sistémica adquirida (SAR); mientras que el ácido jasmónico y el etileno la resistencia sistémica inducida (ISR) (Thakur y Sohal, 2013), proporcionando una resistencia de amplio espectro en las plantas (Rajwade *et al.*, 2020; Glick, 2015).

Las proteínas harpin secretadas por bacterias fitopatógenas gram negativas, inducen defensas en las plantas contra diferentes patógenos, además de promover su crecimiento (Choi *et al.*, 2013; Yuan *et al.*, 2020). El efecto de la proteína harpin se ha evidenciado con la producción y acumulación del ácido salicílico en la planta y la activación de la resistencia sistémica adquirida (Nazarov *et al.*, 2020). Peng *et al.* (2019) consignan que la proteína harpin NbHIN1 obtenida de tabaco, le confiere resistencia al virus del mosaico del tabaco en *Nicotiana benthamiana* al activar potencialmente la vía de señalización del ácido jasmónico. También se ha estudiado la proteína HrpE de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, como inductor de respuestas de defensa contra *Xanthomonas* sp. y promoción de crecimiento vegetativo en el cultivo de arroz (Sheikh *et al.*, 2019; Sheikh *et al.*, 2022).

A pesar de que *Brevibacillus* sp. ha sido previamente reportada con alta actividad antibacteriana (Hassi *et al.*, 2012) y de amplio espectro (Song *et al.*, 2012); en este

estudio, el tratamiento con *Brevibacillus* sp. (Romel) registró la mayor severidad en planta completa (Figura 14) y foliolos que el resto de los tratamientos; con este tratamiento los foliolos de la hoja se observaron totalmente colapsados (Figura 13). La menor severidad se registró en el tratamiento con la proteína harpin (Messenger Gold) en el cual las hojas y foliolos mostraron áreas fotosintéticamente activas (Figura 13), menor severidad en planta completa (Figura 14), y rendimiento con la mayor cantidad y diámetro de frutos (Cuadro 10).

Especies de *Bacillus* son bacterias con potencial de biocontrol contra patógenos en diversos cultivos (Jamali *et al.*, 2020; Hernández & Díaz, 2018). Los resultados de otras investigaciones han demostrado que *Bacillus* spp. disminuye la incidencia y severidad de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en el cultivo de jitomate (Gautam *et al.*, 2019). Juang *et al.* (2014) y Laird *et al.* (2020) obtuvieron resultados de inhibición del crecimiento de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en jitomate en condiciones de invernadero. Los resultados de esta investigación indican que los tratamientos con los activadores de planta formulados con *Bacillus* y *Brevibacillus* spp. mostraron mayor severidad de síntomas en el híbrido Optimax de jitomate inoculado con *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* que el tratamiento con la proteína harpin (Figura 13 y 14).

		ESCALA DE SEVERIDAD EN FOLIOLOS COMPLETOS				
NUT	TRAT	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4	GRADO 5
STEINER 100 %	MESSENGER GOLD					
	FUNGIFREE					
	ROMEL					
STEINER 85/15	MESSENGER GOLD					
	FUNGIFREE					
	ROMEL					

Figura 13. Severidad de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en hojas de jitomate híbrido Optimax bajo condiciones de invernadero.

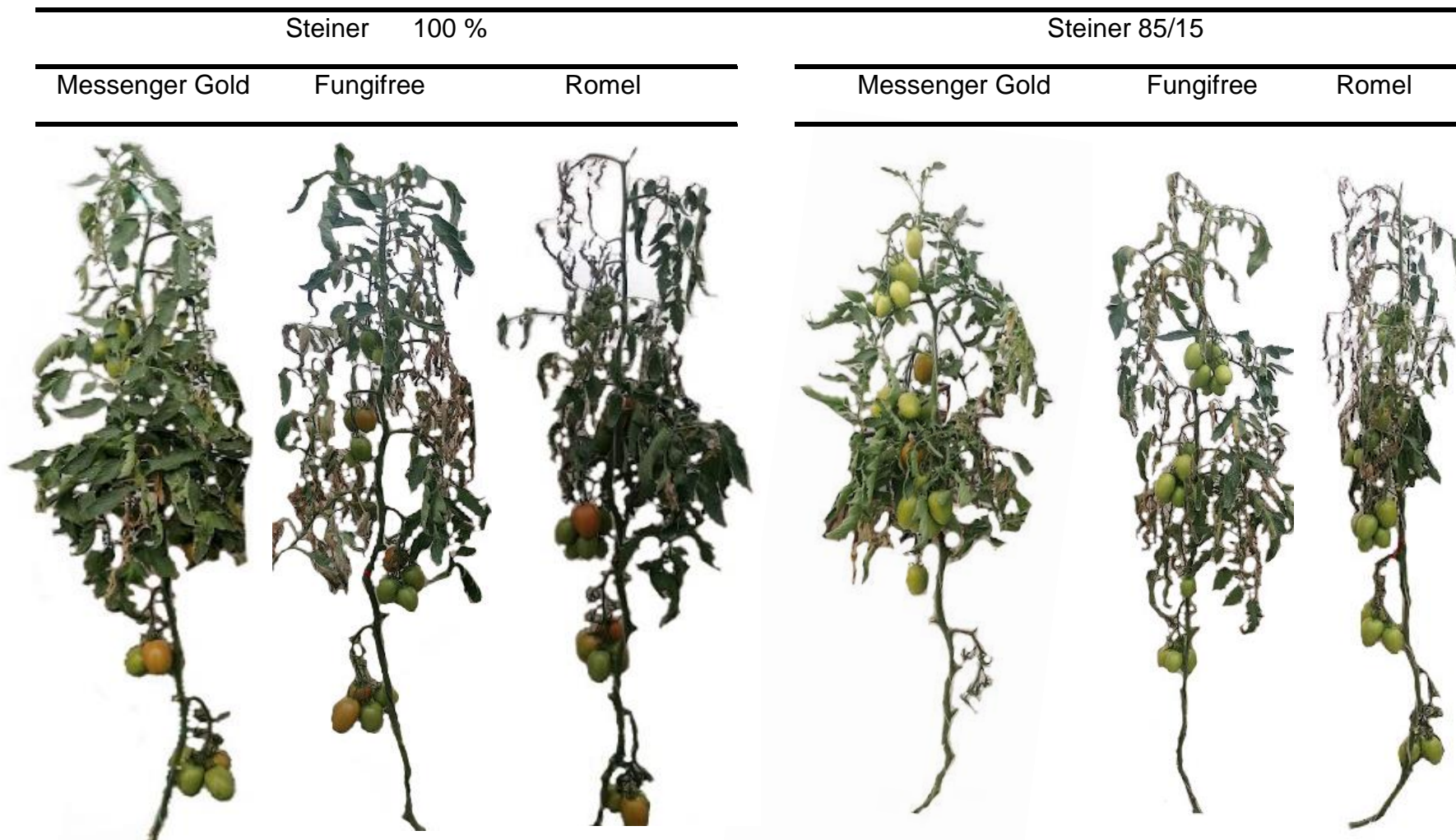


Figura 14. Grado máximo de severidad para todos los tratamientos en planta completa del híbrido de jitomate Optimax

5.5. Reaislamiento e identificación del patógeno.

De las muestras de tejido vegetal de cada tratamiento con síntomas causados por Cmm se aislaron cultivos puros con colonias amarillo-naranja, mucoides, similares a la morfología descrita para Cmm (Dreier *et al.*, 1995). Los resultados de la PCR mostraron una banda de 614 pb, confirmando la identificación de las cepas como *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

VI. CONCLUSIÓN

En el cultivo de jitomate híbrido Optimax bajo condiciones de invernadero, el aporte de nitrógeno mediante el suministro de nitratos en la solución Steiner 100 % NO_3 incrementa el rendimiento y producción de frutos dentro de los estándares de calidad de exportación. En contraste, el aporte de nitrógeno mediante el suministro de amonio con la solución de Steiner 85/15 NO_3/NH_4 reduce el rendimiento y promueve la producción de frutos pequeños.

Existe una relación entre el aporte de nitrógeno con nitrato y amonio en la absorción de otros micronutrientes en hojas. El suministro de nitrógeno en forma de amonio incrementa la absorción de N, K, Ca, Cu y Zn respecto al suministro con nitratos; sin embargo, se produjo menor calidad de frutos que no son adecuados para el comercio nacional e internacional. El aporte de nitrógeno en forma de nitrato promueve mayor rendimiento y calidad de fruto.

La aplicación de activadores de planta formulados con *Bacillus* y *Brevibacillus* spp. no protegen contra la infección de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en el híbrido Optimax de jitomate bajo condiciones de invernadero.

La aplicación de la proteína harpin (Messenger Gold) y el aporte de nitrógeno como nitratos con la solución Steiner 100 %, reduce la severidad de los síntomas causados por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bajo condiciones de invernadero. Las plantas alcanzaron el cuajado y llenado de frutos, con paredes firmes y mayor proporción de frutos medianos y grandes con calidad de exportación. Lo anterior sugiere que esta combinación podría ser una alternativa eficiente para reducir la severidad de la infección causada por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* y producir frutos en el híbrido de jitomate Optimax con estándares de calidad.

VII. LITERATURA CITADA

- Abo-Elyousr, K. A., Bagy, H. M. K., Hashem, M., Alamri, S. A., & 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.
- Aghaye Noroozlo, Y., Souiri, M. K., & Delshad, M. (2019). Effects of soil application of amino acids, ammonium, and nitrate on nutrient accumulation and growth characteristics of sweet basil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50(22), 2864-2872.
- Aksoy, H. M., Kaya, Y., Ozturk, M., Secgin, Z., Onder, H., & Okumus, A. (2017). *Pseudomonas putida*-Induced response in phenolic profile of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) infected by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Biological Control*, 105, 6-12.
- Alcantar Gonzalez, G., Trejo Tellez, L. I., & Gomez Merino, F. C. (2016). Nutricion de cultivos. Biblioteca básica de Agricultura. Colegio de Posgraduados. 125-133.
- Álvarez, M. Á. M. (2016). Operaciones culturales, riego y fertilización. AGAC0108. IC Editorial. Innovacion y cualificación S. L.
- Antúnez, Ocampo Oscar M., Sandoval Villa Manuel, Alcántar González Gabriel, Martín Solís-Martínez. (2014). Ammonium and nitrate application on *Physalis peruviana* L. plants. *Agrociencia* 48: 805-817. 2014.
- Balkos K. D., Britto D. T., Kronzucker H. J. (2010). Optimization of ammonium acquisition and metabolism by potassium in rice (*Oryza sativa* L. cv. IR-72). *Plant cell & environment*. 33(1): 23-34.
- Beevers, L., & Hageman, R. H. (1969). Nitrate reduction in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 20(1), 495-522.
- Belbahri, L., Chenari Bouket, A., Rekik, I., Alenezi, F. N., Vallat, A., Luptakova, L., ... & Rateb, M. E. (2017). Comparative genomics of *Bacillus amyloliquefaciens* strains reveals a core genome with traits for habitat adaptation and a secondary metabolites rich accessory genome. *Frontiers in microbiology*, 8, 1438.
- Ben-Oliel, G., Kant, S., Naim, M., Rabinowitch, H. D., Takeoka, G. R., Buttery, R. G., & Kafkafi, U. (2004). Effects of ammonium to nitrate ratio and salinity on yield and fruit quality of large and small tomato fruit hybrids. *Journal of Plant Nutrition*, 27, 1795–1812.
- Bertsch Hernández, F. (2009). Absorción de nutrimentos por los cultivos (No. F61/8514). Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo, San José (Costa Rica).
- Betiku OC, Yeoman CJ, Gaylord TG, Duff GC, Hamerly T, Bothner B, Block SS, 523 Sealey WM. (2017) Differences in amino acid catabolism by gut microbes

with/without 524 prebiotics inclusion in GDDY-based diet affect feed utilization in rainbow trout. 525 *Aquaculture*; doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.006.

- Bialczyk J., Lechowski Z., Dziga D., Mej E. (2007). Fruit yield of tomato cultivated on media with bicarbonate and nitrate/ammonium as the nitrogen source. *Journal of plant nutrition*. 30(1): 149-161.
- Bittsánszky, A., Pilinszky, K., Gyulai, G., & Komives, T. (2015). Overcoming ammonium toxicity. *Plant Science*, 231, 184-190.
- Bloom, A. J. (2015). The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources. *Current Opinion in Plant Biology*, 25, 10–16.
- Borgognone, D., Colla, G., Roupshael, Y., Cardarelli, M., Rea, E., & Schwarz, D. (2013). Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral composition of self-grafted and grafted tomatoes. *Scientia Horticulturae*, 149, 61–69.
- Boschiero, B. N., Mariano, E., Azevedo, R. A., & Trivelin, P. C. O. (2019). Influence of nitrate-ammonium ratio on the growth, nutrition, and metabolism of sugarcane. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 246-255.
- Bradáčová, K., Florea, A. S., Bar-Tal, A., Minz, D., Yermiyahu, U., Shawahna, R., ... & Pošta, G. (2019). Microbial consortia versus single-strain inoculants: an advantage in PGPM-assisted tomato production. *Agronomy*, 9(2), 105.
- Britto D. T. and H. J. Kronzucker (2002) NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology* 159:567-584, <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>
- Canavar, S., & Aydın, Ü. N. A. Y. A. (2022). Preliminary Study on the Effectiveness of Harpin Protein and Potassium Thiosulphate Foliar Applications on Yield and Quality Characteristics in Second Crop Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(1), 55-59.
- Carreras-Sempere, M., Caceres, R., Viñas, M., & Biel, C. (2021). Use of Recovered Struvite and Ammonium Nitrate in Fertigation in Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Production for boosting Circular and Sustainable Horticulture. *Agriculture*, 11(11), 1063.
- Chalupowicz, L., Barash, I., Reuven, M., Dror, O., Sharabani, G., Gartemann, K. H., ... & Manulis-Sasson, S. (2017). Differential contribution of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* virulence factors to systemic and local infection in tomato. *Molecular plant pathology*, 18(3), 336-346.
- Chalupowicz, L., Zellermann, E. M., Fluegel, M., Dror, O., Eichenlaub, R., Gartemann, K. H., Savidor, A., Sessa, G., Iraki, N., Barash, I., & Manulis-Sasson, S. (2012). Colonization and movement of GFP-labeled *Clavibacter michiganensis* subsp.

michiganensis during tomato infection. *Phytopathology*, 102(1), 23–31. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-11-0135>

- Chapin, F. S., Bloom, A. J., Field, C. B., & Waring, R. H. (1987). Plant responses to multiple environmental factors. *Bioscience*, 37(1), 49-57.
- Chapman, H. D., & Pratt, P. E. (1973). *Métodos de análisis para suelos, plantas y agua*. Traducido al español por A. Contin. Trillas. México, DF.
- Chen, C., Xu, F., Zhu, J. R., Wang, R. F., Xu, Z. H., Shu, L. Z., & Xu, W. W. (2016). Nitrogen forms affect root growth, photosynthesis, and yield of tomato under alternate partial root-zone irrigation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 179(1), 104-112.
- Chen, W., Wang, Y., Li, D., Li, L., Xiao, Q., & Zhou, Q. (2012). Draft genome sequence of *Brevibacillus brevis* strain X23, a biocontrol agent against bacterial wilt. *Journal of bacteriology*, 194(23), 6634–6635. <https://doi.org/10.1128/JB.01312-12>
- Chi, W. J., Wang, Z. Y., Liu, J. M., Zhang, C., Wu, Y. H., & Bai, Y. J. (2019). Ammonium uptake and assimilation are required for rice defense against sheath blight disease. *Cereal Research Communications*, 47(1), 98-110.
- Choi, M. S., Kim, W., Lee, C., & Oh, C. S. (2013). Harpins, multifunctional proteins secreted by gram-negative plant-pathogenic bacteria. *Molecular plant-microbe interactions*, 26(10), 1115-1122.
- Chowdhury A. and A. Das. (2015). Nitrate accumulation and vegetable quality. *International Journal of Science and Research* 4:1668-1672.
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X. W., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 - A review. *Frontiers in Microbiology*, 6(JUL), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00780>
- Claussen W., Lenz F. (1999). Effect of ammonium or nitrate nutrition on net photosynthesis, growth, and activity of the enzymes nitrate reductase and glutamine synthetase in blueberry, raspberry and strawberry. *Plant Soil* 208: 95-102.
- Claussen, W. (2002). Growth, water use efficiency, and proline content of hydroponically grown tomato plants as affected by nitrogen source and nutrient concentration. *Plant and Soil*, 247, 199–209.
- Davis, M. J., Gillaspie, A. G., Vidaver, A. K., & 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 Be. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34(2), 107–117. <https://doi.org/10.1099/00207713-34-2-107>

- De León, L., Siverio, F., López, M. M., & Rodríguez, A. (2011). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, a seedborne tomato pathogen: healthy seeds are still the goal. *Plant disease*, 95(11), 1328-1338.
- De Reijck, G. y E. Schrevens. (1998). Cationic speciation in nutrient solutions as a function of pH. *J. Plant Nutr.* 21:861-870.
- Degiovanni B., V., C. P. R. Martínez, y F. O. Motta. (2010). Producción eco-eficiente de arroz en América Latina. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Calí, Colombia. Tomo I. pp: 1-25.
- Dickson, R. W., Fisher, P. R., Argo, W. R., Jacques, D. J., Sartain, J. B., Trenholm, L. E., & Yeager, T. H. (2016). Solution ammonium: nitrate ratio and cation/anion uptake affect acidity or basicity with floriculture species in hydroponics. *Scientia horticultrae*, 200, 36-44.
- Diego César Maeso Tozzi. (2020). El cancro bacteriano del tomate: aportes experimentales para su manejo integrado. In Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología del INIA (Issue 254).
- Ding, S., Shao, X., Li, J., Ahammed, G. J., Yao, Y., Ding, J., ... & Shi, K. (2021). Nitrogen forms and metabolism affect plant defence to foliar and root pathogens in tomato. *Plant, Cell & Environment*, 44(5), 1596-1610.
- Dong, H. P., Yu, H., Bao, Z., Guo, X., Peng, J., Yao, Z., ... & Dong, H. (2005). The ABI2-dependent abscisic acid signalling controls HrpN-induced drought tolerance in *Arabidopsis*. *Planta*, 221(3), 313-327.
- Dong, Y., & Zhi, H. (2022). Assessment of quality attributes, susceptibility to postharvest disorders, and nutrient uptake of 'Bartlett' and 'd' Anjou' pears in response to pre-harvest harpin β protein spraying. *Postharvest Biology and Technology*, 191, 111967.
- Dordas, C. (2008). Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agronomy for sustainable development*, 28(1), 33-46.
- Dreier, J., Bermpohl, A., & Eichenlaub, R. (1995). Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology*, 85(4), 462-468.
- Du, J., Zhang, C., Long, Q., Chen, W., Guo, Z., & Liu, Q. (2022). Bioinformatics Analysis of the Structure and Function of EdeB from *Brevibacillus brevis* X23. In 2022 10th International Conference on Bioinformatics and Computational Biology (ICBCB) (pp. 1-5). IEEE.
- Duffy, B.K. and Défago, G. (1999) Macro- and microelement fertilizers influence the severity of fusarium crown and root rot of tomato in a soilless production system. *HortScience*, 34, 287–291.

- Eck, M., Körner, O., & Jijakli, M. H. (2019). Nutrient cycling in aquaponics systems. In *Aquaponics Food Production Systems* (pp. 231-246). Springer, Cham.
- Enebe, M. C., & Babalola, O. O. (2018). The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance to abiotic stress: a survival strategy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(18), 7821-7835.
- EPPO. (2016). EPPO Standards PM 7/42 (3) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. EPPO Bulletin 46, 202-225.
- EPPO. (2022). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. Available online. <https://gd.eppo.int>
- Estrategia aduanera <https://www.estrategiaaduanera.mx/marcan-records-exportaciones-de-tomate-de-mexico-a-estados-unidos/> julio 19, 2021
- Fagard, M., Launay, A., Clément, G., Courtial, J., Dellagi, A., Farjad, M. (2014). Nitrogen metabolism meets phytopathology. *Journal of Experimental Botany*, 65, 5643–5656.
- Fan, B., Blom, J., Klenk, H. P., & Borriss, R. (2017). *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* form an “operational group *B. amyloliquefaciens*” within the *B. subtilis* species complex. *Frontiers in microbiology*, 8, 22.
- FAO. (2020). The State of Food and Agriculture. (2020). Overcoming water challenges in agriculture. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb1447>
- Farhaoui, A., Adadi, A., Tahiri, A., El Alami, N., Khayi, S., Mentag, R., ... & Lahlali, R. (2022). Biocontrol potential of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) against *Sclerotium rolfsii* diseases on sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 119, 101829
- Ferahtia, A. (2021). See discussions, stats, and author profiles for this publication at: [https://www.researchgate.net/publication/350567414_SURFACE_WATER_QUALITY_ASSESSMENT_IN_SEMI-ARID_REGION_\(EL_HODNA_WATERSHED,_ALGERIA\)_BASED_ON_WATER_QUALITY_INDEX_\(WQI\)](https://www.researchgate.net/publication/350567414_SURFACE_WATER_QUALITY_ASSESSMENT_IN_SEMI-ARID_REGION_(EL_HODNA_WATERSHED,_ALGERIA)_BASED_ON_WATER_QUALITY_INDEX_(WQI)).
- Fernandez Crespo, E., Scalschi, L., Llorens, E., Garcia Agustin, P., Camanes, G. (2015). NH_4^+ protects tomato plants against *Pseudomonas syringae* by activation of systemic acquired acclimatation. *Journal of Experimental Botany*, 66, 6777–6790.
- Gandhi, R., Prittesh, P., Jinal, H. N., Chavan, S. M., Paul, D., & Amaresan, N. (2022). Evaluation of the effect of potassium solubilizing bacterial strains on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 1-12.
- Gandica O., H. y H. Peña. 2015. Acumulación de materia seca y balance de nutrientes en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivado en ambiente protegido. *Bioagro* 27: 111-120.

- Gao, Q. M., Zhu, S., Kachroo, P., & Kachroo, A. (2015). Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers in plant science*, 6, 228.
- Gautam, S., Chauhan, A., Sharma, R., Sehgal, R., & Shirkot, C. K. (2019). Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* for biocontrol of bacterial canker of tomato incited by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. *Microbial pathogenesis*, 130, 196-203.
- Gerendas J., Zhu Z., Bendixen R., Ratcliffe R. G., Sattelmacher B. (1997). Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. *Z. Pflanzenern. Bodenk* 160: 239-251.
- Glick, B. R. (2015). *Beneficial plant-bacterial interactions* (pp. 139-180). Heidelberg: Springer.
- González G., J. L., M. N. Mendoza R., P. Sánchez G., y E. A. Gaytan A. (2009). Relación amonio/nitrato en la producción de hierbas aromáticas en hidroponía. *Agric. Téc. Méx.* 35:5-11.
- González, F. G. H., & Morales, M. E. S. (2018). Tratamientos poscosecha con microondas de jitomate para el control de microorganismos. *Jóvenes en la ciencia*, 4(1), 2737-2741.
- González-Hernández, A. I., Fernández-Crespo, E., Scalschi, L., Hajirezaei, M. R., von Wirén, N., García-Agustín, P., & Camañes, G. (2019). Ammonium mediated changes in carbon and nitrogen metabolisms induce resistance against *Pseudomonas syringae* in tomato plants. *Journal of plant physiology*, 239, 28-37.
- Guardiola Barcena, J. L., & García Luis, A. (1990). *Fisiología vegetal: I. Nutrición y transporte*. Colección: ciencias de la vida (España).
- Guo, S., H. Brück, and B. Sattelmacher. (2002). Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Plant Soil* 239: 267-275.
- Gupta, K. J., Brotman, Y., Segu, S., Zeier, T., Zeier, J., Persijn, S. T., ... & Mur, L. A. (2013). The form of nitrogen nutrition affects resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in tobacco. *Journal of Experimental Botany*, 64(2), 553-568.
- Gurikar, C., Gowda, N. N., Hanumantharaju, K. N., & Netravati, B. P. (2022). Role of *Bacillus* species in soil fertility with reference to rhizosphere engineering. In *Rhizosphere Engineering* (pp. 65-76). Academic Press.
- Hael Conrad, V., Perato, S. M., Arias, M. E., Martínez-Zamora, M. G., Di Peto, P., Martos, G. G., Castagnaro, A. P., Díaz-Ricci, J. C., & Chalfoun, N. R. (2018). The Elicitor Protein AsES Induces a Systemic Acquired Resistance Response Accompanied by Systemic Microbursts and Micro-Hypersensitive Responses in *Fragaria*

ananassa. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, 31(1), 46–60.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-05-17-0121-F1>

- Hassi, M., El Guendouzi, S., Haggoud, A., David, S., Ibensouda, S., Houari, A., & Iraqui, M. (2012). Antimycobacterial activity of a *Brevibacillus laterosporus* strain isolated from a Moroccan soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 1516-1522.
- Hernández Pérez, D., Díaz Castellanos, M., Quiñones Ramos, R., Santos Bermúdez, R., Portal González, N., & Herrera Isla, L. (2018). Control de *Rhizoctonia solani* en frijol común con rizobacterias y productos naturales. *Centro Agrícola*, 45(2), 55-60.
- Hernández-Cruz, A. E., Sánchez, E., Preciado-Rangel, P., García-Bañuelos, M. L., Palomo-Gil, A., & Espinoza-Banda, A. (2015). Actividad de la nitrato reductasa, biomasa, rendimiento y calidad en algodón en respuesta a la fertilización nitrogenada. *Phyton (Buenos Aires)*, 84(2), 454-460.
- Hirel, B., Tétu, T., Lea, P.J. and Dubois, F. (2011). Improving nitrogen use efficiency in crops for sustainable agriculture. *Sustainability*, 3, 1452–1485.
- Hoffland, E., Jeger, M.J. and van Beusichem, M.L. (2000). Effect of nitrogen supply rate on disease resistance in tomato depends on the pathogen. *Plant and Soil*, 218, 239–247.
- Hoffland, E., van Beusichem, M.L. and Jeger, M.J. (1999). Nitrogen availability and susceptibility of tomato leaves to *Botrytis cinerea*. *Plant and Soil*, 201, 263–272.
- Howard Halbert, A., Häfner, F., Karlowsky, S., Schwarz, D., & Krause, A. (2021). Correction to: Evaluating recycling fertilizers for tomato cultivation in hydroponics, and their impact on greenhouse gas emissions. *Environmental science and pollution research international*, 28(42), 59304.
- Hu, L., Li, Y., Wu, Y., Lv, J., Dawuda, M. M., Tang, Z., ... & Yu, J. (2019). Nitric oxide is involved in the regulation of the ascorbate–glutathione cycle induced by the appropriate ammonium: nitrate to mitigate low light stress in *Brassica pekinensis*. *Plants*, 8(11), 489.
- Hu, L., Liao, W., Dawuda, M. M., Yu, J., & Lv, J. (2017). Appropriate $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ratio improves low light tolerance of mini Chinese cabbage seedlings. *BMC plant biology*, 17(1), 1-14.
- Hu, L.; Yu, J.; Liao, W.; Zhang, G.; Xie, J.; Lv, J.; Xiao, X.; Yang, B.; Zhou, R.; Bu, R. (2015). Moderate ammonium: Nitrate alleviates low light intensity stress in mini Chinese cabbage seedling by regulating root architecture and photosynthesis. *Sci. Hortic.* 186, 143–153.
- Huang, M., Yan, Y., Wang, L., Chen, J., Liu, T., Xie, X., & Li, X. (2021). Research on the Interaction Mechanism Between α Mino-Phosphonate Derivative QR and Harpin-

- Binding Protein 1 in Tobacco (*Nicotiana tabacum*) Plants. *Frontiers in microbiology*, 12, 621875.
- Hugouvieux-Cotte-Pattat N, Dominguez H, Robertbaudouy J. (1992). Environmental conditions affect transcription of the pectinase genes of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Journal of Bacteriology* 174, 7807–7818.
- Hussein, M., & kamberoğlu, M. A. (2017). Higher growth induced upon Potato Virus X invasion in Messenger treated tomato plants. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(3), 74-81.
- Ibanez, V., López-García, A., Pérez-Román, E., Borredá, C., & Talón, M. (2018). Efecto de la aplicación de la proteína Harpin $\alpha\beta$ (ProAct®) sobre la incidencia de la clareta, la deformación del fruto y el contenido en Ca^{2+} ligado en variedades de naranja. *Levante Agrícola*, (443), 221-224.
- Jamali, H., Sharma, A., & Srivastava, A. K. (2020). Biocontrol potential of *Bacillus subtilis* RH5 against sheath blight of rice caused by *Rhizoctonia solani*. *Journal of basic microbiology*, 60(3), 268-280.
- Jang, H., Kim, S. T., & Sang, M. K. (2022). Suppressive Effect of Bioactive Extracts of *Bacillus* sp. H8-1 and *Bacillus* sp. K203 on Tomato Wilt Caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Microorganisms*, 10(2), 403. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020403>
- Jiménez, J. U. (2019). Introducción a R y RStudio.
- Jones J. B. (2005). The plant root: its roles and functions. In: *Hydroponics: A Practical Guide for the Soilless Grower*. J. B. Jones (ed.). Ed. CRS Press. USA. pp:19-28
- Joshi, J. B., Senthamilselvi, D., Maupin-Furlow, J. A., & Uthandi, S. (2022). Microbial Protein Elicitors in Plant Defense. In *Microbial Biocontrol: Sustainable Agriculture and Phytopathogen Management* (pp. 235-256). Springer, Cham
- Jung, W. J., Mabood, F., Souleimanov, A., Whyte, L. G., Niederberger, T. D., & Smith, D. L. (2014). Antibacterial activity of antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* DJM-51 against phytopathogenic *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* ATCC 7429 in vitro. *Microbial pathogenesis*, 77, 13-16.
- Kamle, M., Borah, R., Bora, H., Jaiswal, A. K., Singh, R. K., & Kumar, P. (2020). Systemic acquired resistance (SAR) and induced systemic resistance (ISR): role and mechanism of action against phytopathogens. In *Fungal biotechnology and bioengineering* (pp. 457-470). Springer, Cham.
- Kant, S., Bi, Y. M., & Rothstein, S. J. (2011). Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency. *Journal of experimental Botany*, 62(4), 1499-1509.
- Kim, D., Shashkov, A. S., Dmitrenok, A. S., Potekhina, N. V., Sof'ya, N. S., Dorofeeva, L. V., ... & Tul'skaya, E. M. (2021). Novel galactofuranan and pyruvylated

galactomannan in the cell wall of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* VKM Ac-1403T. *Carbohydrate Research*, 500, 108247.

- Kim, J. S., Lee, J., Lee, C. H., Woo, S. Y., Kang, H., Seo, S. G., & Kim, S. H. (2015). Activation of pathogenesis-related genes by the rhizobacterium, *Bacillus* sp. JS, which induces systemic resistance in tobacco plants. *Plant Pathology Journal*, 31(2), 195–201. <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.11.2014.0122>
- Klessig, D. F., Choi, H. W., & Dempsey, D. A. (2018). Systemic acquired resistance and salicylic acid: Past, present, and future. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 31, 871–888.
- Kolomiets, J. V., Grygoryuk, I. P., & Butsenko, L. M. (2017). Bacterial diseases of tomato plants in terms of open and covered growing of Ukraine. *Annals of Agrarian Science*, 15(2), 213–216. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2017.05.010>
- Kolomiets, Y., Grygoryuk, I., Likhanov, A., Butsenko, L., & Blume, Y. (2020). Induction of bacterial canker resistance in tomato plants using plant growth promoting rhizobacteria. *The Open Agriculture Journal*, 13(1), 215–222. <https://doi.org/10.2174/1874331501913010215>
- Konappa, N., Krishnamurthy, S., Arakere, U. C., Chowdappa, S., & Ramachandrappa, N. S. (2020). Efficacy of indigenous plant growth-promoting rhizobacteria and *Trichoderma* strains in eliciting resistance against bacterial wilt in a tomato. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 1-13.
- Kongala, S. I. (2022). Harpin-Loaded Chitosan Nanoparticles Induced Defense Responses in Tobacco. Available at SSRN 4178573.
- Kotsiras, A., C. M. Olympios, J. Drosopoulos, and H. C. Passam. (2002). Effects of nitrogen form and concentration on the distribution of ions within cucumber fruits. *Sci. Hortic.* 95: 175-183.
- Laird, M., Piccoli, D., Weselowski, B., McDowell, T., Renaud, J., MacDonald, J., & Yuan, Z. C. (2020). Surfactin-producing *Bacillus velezensis* 1B-23 and *Bacillus* sp. 1D-12 protect tomato against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Journal of Plant Pathology*, 102(2), 451-458.
- Langer, S. E., Marina, M., Burgos, J. L., Martínez, G. A., Civello, P. M., & Villarreal, N. M. (2019). Calcium chloride treatment modifies cell wall metabolism and activates defense responses in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*, Duch). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(8), 4003-4010.
- Lea, P.J. and Miflin, B.J. (2011). Nitrogen assimilation and its relevance to crop improvement. In: Foyer, C.H. and Zhang, H. (Eds.) *Annual Plant Reviews, Nitrogen Metabolism in Plants in the Post-genomic Era*. Chichester: Wiley-Blackwell, pp. 1–40.

- Lecompte, F., Abro, M.A. and Nicot, P.C. (2010). Contrasted responses of *Botrytis* isolates developing on tomato plants grown under different nitrogen nutrition regimes. *Plant Pathology*, 59, 891–899.
- Lecompte, F., Abro, M.A. and Nicot, P.C. (2013). Can plant sugars mediate the effect of nitrogen fertilization on lettuce susceptibility to two necrotrophic pathogens: *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* *Plant and Soil*, 369, 387–401.
- Li, X., Han, B., Xu, M., Han, L., Zhao, Y., Liu, Z., ... & Zhang, C. (2014). Plant growth enhancement and associated physiological responses are coregulated by ethylene and gibberellin in response to harpin protein Hpa1. *Planta*, 239(4), 831-846.
- Liu, G., Du, Q., & Li, J. (2017). Interactive effects of nitrate-ammonium ratios and temperatures on growth, photosynthesis, and nitrogen metabolism of tomato seedlings. *Scientia Horticulturae*, 214, 41-50.
- Liu, Q., Zhang, L., Wang, Y., Zhang, C., Liu, T., Duan, C., ... & Chen, W. (2022). Enhancement of edeine production in *Brevibacillus brevis* X23 via in situ promoter engineering. *Microbial biotechnology*, 15(2), 577-589.
- Liu, Y., Zhou, X., Liu, W., Huang, J., Liu, Q., Sun, J., Cai, X., & Miao, W. (2020). HpaXpm, a novel harpin of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, acts as an elicitor with high thermal stability, reduces disease, and promotes plant growth. *BMC microbiology*, 20(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1691-4>
- Long, D.H., Lee, F.N. and TeBeest, D.O. (2000). Effect of nitrogen fertilization on disease progress of rice blast on susceptible and resistant cultivars. *Plant Disease*, 84, 403–409.
- Lopes, M. J. D. S., Dias-Filho, M. B., & Gurgel, E. S. C. (2021). Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 606454.
- Lopez Berges MS, Rispaill N, Prados-Rosales RC, Di Pietro A. (2010). A nitrogen response pathway regulates virulence functions in *Fusarium oxysporum* via the protein kinase TOR and the bZIP protein MeaB. *The Plant Cell* 22, 2459–2475.
- López Gómez, J. D., O. G. Villegas-Torres, H. Sotelo-Nava, M. Andrade-Rodríguez, P. Juárez-López y E. Martínez Fernández. (2017). Rendimiento y calidad del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) por efecto del régimen nutrimental. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 8: 1747-1758. doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i8.699>.
- Lu, X. (2014). The purification and identification of the antimicrobial peptide edeine B secreted by *Brevibacillus brevis* X23. Hunan Agricultural University
- Lucas, R. E., and Davis, J. F. (1961). Relationships between pH value of organic soils and availability of 12 plant nutrients. *Soil Science* 92(3), 177-182.

- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. San Diego, CA, USA.
- Maya, A. M. A. (2014). Operaciones culturales, riego y fertilización. Malaga, España.
- McIntyre, G. I. (1997). The role of nitrate in the osmotic and nutritional control of plant development. *Australian Journal of Plant Physiology* 68: 107-112.
- Mengel, K. and E. A. Kirkby. (2001). Principles of plant nutrition. Kluwer Academic. Dordrecht, The Netherlands.
- Mengel, K.; Kirkby, E. A. (2000). Principios de Nutrición Vegetal. Traducción al español de la 4ª edición (1987) de R. J. MELGAR Y M. RUÍZ. Internacional Potash Institute. Basel, Switzerland.
- Miller A. J. and M. D. Cramer (2005). Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil* 274:1-36, <https://doi.org/10.1007/s11104-004-0965-1>.
- Moreno-Velázquez. D., B. N. Hernández-Hernández, J. M. Barrios Díaz, A. Ibáñez-Martínez, W. Cruz-Romero y R. Berdeja-Arbeu. (2015). Calidad poscosecha de frutos de pepino cultivados con diferente solución nutritiva. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 6: 637-643.
- Mpanga, I. K., Nkebiwe, P. M., Kuhlmann, M., Cozzolino, V., Piccolo, A., Geistlinger, J., ... & Neumann, G. (2019). The form of N supply determines plant growth promotion by P-solubilizing microorganisms in maize. *Microorganisms*, 7(2), 38.
- Munévar, F. (2004). Relación entre la nutrición y las enfermedades de las plantas. *Revista Palmas*, 25(especial), 171-178
- Munyasi T1 and Gweyi-Onyango JP. (2019). Growth and nutritional status of sweet pepper (*Capsicum annum* L.) are coinfluenced by nitrogen application and *Meloidogyne* spp. infection. *J. Hort. Sci.* 16:53 - 68
- Mur, L. A., Simpson, C., Kumari, A., Gupta, A. K., & Gupta, K. J. (2017). Moving nitrogen to the centre of plant defence against pathogens. *Annals of botany*, 119(5), 703-709.
- Nawarathna, K. K. K., Dandeniya, W. S., Dharmakeerthi, R. S., & Weerasinghe, P. (2021). Vegetable crops prefer different ratios of ammonium-N and Nitrate-N in the growth media. *Tropical Agricultural Research*, 32(1), 95-104.
- Nazarov, P. A., Baleev, D. N., Ivanova, M. I., Sokolova, L. M., & Karakozova, M. V. (2020). Infectious plant diseases: Etiology, current status, problems and prospects in plant protection. *Acta Naturae*, 12(3), 46.
- Ngalimat, M. S., Yahaya, R. S. R., Baharudin, M. M. A. A., Yaminudin, S. M., Karim, M., Ahmad, S. A., & Sabri, S. (2021). A review on the biotechnological applications of the operational group *Bacillus amyloliquefaciens*. *Microorganisms*, 9(3), 614

- Ochieng, I. O., Gitari, H. I., Mochoge, B., Rezaei-Chiyaneh, E., & Gweyi-Onyango, J. P. (2021). Optimizing maize yield, nitrogen efficacy and grain protein content under different N forms and rates. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(3), 1867-1880.
- Pavli, O. I., Kelaidi, G. I., Tampakaki, A. P., & Skaracis, G. N. (2011). The hrpZ gene of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* enhances resistance to rhizomania disease in transgenic *Nicotiana benthamiana* and sugar beet. *PloS one*, 6(3), e17306. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017306>
- Peng, H., Pu, Y., Yang, X., Wu, G., Qing, L., Ma, L., & Sun, X. (2019). Overexpression of a pathogenesis-related gene NbHIN1 confers resistance to Tobacco Mosaic Virus in *Nicotiana benthamiana* by potentially activating the jasmonic acid signaling pathway. *Plant Science*, 283, 147-156.
- Pérez, A. H., Santiago, J. C. G., Torres, V. R., López, A. M., Rangel, A. S., & Montejó, N. C. (2021). Nitrate/ammonium ratio effect on the growth, yield and foliar anatomy of grafted tomato plants. *Horticultural Science*, 48(2), 80-89.
- Portree, J. 1997. Greenhouse vegetable production guide for commercial growers. British Columbia Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- Pretali, L., Bernardo, L., Butterfield, T. S., Trevisan, M., & Lucini, L. (2016). Botanical and biological pesticides elicit a similar Induced Systemic Response in tomato (*Solanum lycopersicum*) secondary metabolism. *Phytochemistry*, 130, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.04.002>
- Qiu, D. and Wei, Z.M. (2000). Effects of Messenger on gray mold and other fruit rot diseases. *Phytopathology* 90:62.
- Raab, K. T. and N. Terry. (1995). Carbon, nitrogen, and nutrient interaction in *Beta vulgaris* L. as influenced by nitrogen source, NO₃⁻ versus NH₄⁺. *Plant Physiol.* 107: 575-585.
- Rajwade, J. M., Chikte, R. G., & Paknikar, K. M. (2020). Nanomaterials: new weapons in a crusade against phytopathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(4), 1437-1461.
- Ramírez-Vargas, C. (2019). Extracción de nutrientes, crecimiento y producción del cultivo de pepino bajo sistema de cultivo protegido hidropónico. *Rev. Tecnol. Marcha* 32: 107-117. doi:<https://doi.org/10.18845/tm.v32i1.4122>
- Ray, S., Patel, N., & Amin, D. (2020). *Brevibacillus*. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 149-167). Academic Press.
- Resh, M. H. (1996). *Hydroponic food production*. Woodbridge Press. Santa Barbara, CA, USA.

- Ribeiro, D. H., Souza, R. M., & Van der Wolf, J. M. (2016). Generation of tomato seeds artificially infected with a GFP-tagged strain of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Seed Science and Technology*, 44(3), 486-499.
- Rivera-Sosa LM, Ramírez-Valverde G, Martínez-Yáñez B, Judith-Hernández A and Aranda-Ocampo S. (2022). Response of tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection. *Mexican Journal of Phytopathology* 40(1).
- Ruiu L. (2013). *Brevibacillus laterosporus*, a Pathogen of Invertebrates and a Broad-Spectrum Antimicrobial Species. *Insects*, 4(3), 476–492. <https://doi.org/10.3390/insects4030476>
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca, y Alimentación). (2005). PC-022-2005 Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial, México calidad suprema en pimiento morrón.
- Salsac, I.; Chaillou, S.; Morot-Gaudry, J.; Lesaint, C.; Jolivet, E. (1987). Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 25: 805-812.
- Sands, L. B., Cheek, T., Reynolds, J., Ma, Y., & Berkowitz, G. A. (2022). Effects of Harpin and Flg22 on Growth Enhancement and Pathogen Defense in *Cannabis sativa* Seedlings. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(9), 1178. <https://doi.org/10.3390/plants11091178>
- Sarasketa, A., González-Moro, M. B., González-Murua, C., & Marino, D. (2014). Exploring ammonium tolerance in a large panel of *Arabidopsis thaliana* natural accessions. *Journal of experimental botany*, 65(20), 6023-6033.
- Sarasketa, A., González-Moro, M. B., González-Murua, C., & Marino, D. (2016). Nitrogen source and external medium pH interaction differentially affects root and shoot metabolism in *Arabidopsis*. *Frontiers in plant science*, 7, 29.
- Sen, Y., van der Wolf, J., Visser, R., & van Heusden, S. (2015). Bacterial Canker of Tomato: Current Knowledge of Detection, Management, Resistance, and Interactions. *Plant disease*, 99(1), 4–13. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0499-FE>
- Serna Rodriguez, J. R., Castro Brindis, R., Colinas Leon, M. T., Sahagún Castellanos., J., Rodriguez Perez J. E. (2011). Aplicación foliar de ácido glutámico en plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*). *Revista Chpingo. Serie Horticultura*, 17(1), 9-13.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2020). *Panorama Agroalimentario 2020*
- Setién, I., Vega-Mas, I., Celestino, N., Calleja-Cervantes, M. E., González-Murua, C., Estavillo, J. M., & González-Moro, M. B. (2014). Root phosphoenolpyruvate

carboxylase and NAD-malic enzymes activity increase the ammonium-assimilating capacity in tomato. *Journal of Plant Physiology*, 171(5), 49-63.

- Sharabani, G., Shtienberg, D., Borenstein, M., Shulhani, R., Lofthouse, M., Sofer, M., Chalupowicz, L., Barel, V., & Manulis-Sasson, S. (2013). Effects of plant age on disease development and virulence of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomato. *Plant Pathology*, 62(5), 1114–1122. <https://doi.org/10.1111/ppa.12013>
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), 1-14.
- Sheikh, T. M. M., Haider, M. S., Hanif, A., Ali, H., Khan, A. R., Li, P., ... & Zhang, M. (2022). N-terminal HrpE from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* mediates the regulation of growth and photosynthesis in rice. *Plant Growth Regulation*, 96(3), 383-396.
- Sheikh, T. M. M., Zhang, L., Zubair, M., Hanif, A., Li, P., Farzand, A., ... & Zhang, M. (2019). The type III accessory protein HrpE of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* surpasses the secretion role, and enhances plant resistance and photosynthesis. *Microorganisms*, 7(11), 572.
- Sheng, K., Chen, X., Pan, J., Kloss, R., Wei, Y., & Ying, Y. (2013). Effect of ammonia and nitrate on biogas production from food waste via anaerobic digestion. *Biosystems Engineering*, 116(2), 205-212.
- Shi, J. L., Li, Y. Q., Hu, K. M., Ren, J. G., & Liu, H. M. (2015). Isolation and identification of pathogens from rotted root of *Pinellia ternata* in Guizhou province. *Microbiol. China*, 42, 289-299.
- Siddiqi M. Y., Malhotra B., Min X., Glass A. D. M. (2002). Effects of ammonium and inorganic carbon enrichment on growth and yield of a hydroponic tomato crop. *Journal of plant nutrition and soil science*. 165(2): 191-197.
- Singh, G., & Bharat, N. K. (2017). Studies on Bacterial Canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) of Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(9), 317-323.
- Singh, U. B., Malviya, D., Wasiullah, Singh, S., Imran, M., Pathak, N., Alam, M., Rai, J. P., Singh, R. K., Sarma, B. K., Sharma, P. K., & Sharma, A. K. (2016). Compatible salt-tolerant rhizosphere microbe-mediated induction of phenylpropanoid cascade and induced systemic responses against *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker causing spot blotch disease in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Soil Ecology*, 108, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.09.014>
- Slavokhotova, A. A., & Rogozhin, E. A. (2020). Defense peptides from the α -hairpinin family are components of plant innate immunity. *Frontiers in Plant Science*, 11, 465.

- Song, Z., Liu, Q., Guo, H., Ju, R., Zhao, Y., Li, J., & Liu, X. (2012). Tostadin, a novel antibacterial peptide from an antagonistic microorganism *Brevibacillus brevis* XDH. *Bioresource technology*, 111, 504-506.
- Sonneveld C. and W. Voogt (2009) Substrates: chemical characteristics and preparation. In: *Plant Nutrition of Greenhouse Crops*. C. Sonneveled and W. Voogt (eds.). Springer. pp:227-252.
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and soil science* 165(2): 191-197.
- Steiner, A. A. (1984). The universal nutrient solution: *International Society for Soilless Culture*. 633-650.
- Sun, T., Wu, W., Wu, H., Rou, W., Zhou, Y., Zhuo, T., ... & Zou, H. (2020). *Ralstonia solanacearum* elicitor RipX induces defense reaction by suppressing the mitochondrial atpA gene in host plant. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 2000.
- Tabatabaei, S. J., M. Yusefi, and J. Hajiloo. (2008). Effect of shading and NO₃⁻: NH₄⁺ ratio on the yield, quality and N metabolism in strawberry. *Sci. Hort.* 116: 264-272.
- Tezcan, H., Akbudak, N., & Akbudak, B. (2013). The effect of harpin on shelf life of peppers inoculated with *Botrytis cinerea*. *Journal of food science and technology*, 50(6), 1079-1087.
- Thakur, M., & Sohal, B. S. (2013). Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. *International Scholarly Research Notices*, 2013.
- Tiwari, S., Prasad, V., & Lata, C. (2019). *Bacillus*: Plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 43-55). Elsevier.

TRADE

MAP

https://www.trademap.org/Country_SelProduct_Graph.aspx?nvpm=3%7c%7c%7c%7c%7c0702%7c%7c%7c4%7c1%7c1%7c2%7c1%7c1%7c2%7c1%7c1%7c2, 2020.

- Tripathi, D., Raikhy, G., & Kumar, D. (2019). Chemical elicitors of systemic acquired resistance—Salicylic acid and its functional analogs. *Current Plant Biology*, 17, 48-59.
- Tsabarducas V, Chatzistathis T, Therios I, Patakas A (2017) How nitrogen form and concentration affect growth, nutrient accumulation and photosynthetic performance of *Olea europaea* L. (cv. "Kalamon"). *Scientia Horticulturae*, 218: 23–29.
- Urooj, N., Bano, A., & Riaz, A. (2022). Role of PGPR on the physiology of sunflower irrigated with produced water containing high total dissolved solids (TDS) and its

residual effects on soil fertility. *International journal of phytoremediation*, 24(6), 567–579. <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1957771>

- Valdez-Sepúlveda, L., S. González Morales, L. A. Valdez-Aguilar, F. Ramírez-Godina y A. Benavides-Mendoza. (2015). Efecto de la aplicación exógena de ácido benzoico y salicílico en el crecimiento de plántulas de tomate, tomatillo y pimiento. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 6: 2331-2343.
- Van Loon, L. C. (2016). The intelligent behavior of plants. *Trends in Plant Science*, 21(4), 286-294.
- Vega, A., Canessa, P., Hoppe, G., Retamal, I., Moyano, T.C., Canales, J. et al. (2015). Transcriptome analysis reveals regulatory networks underlying differential susceptibility to *Botrytis cinerea* in response to nitrogen availability in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science*, 6, 911.
- Vergne, E., de Bernonville, T. D., Dupuis, F., Sourice, S., Cournol, R., Berthelot, P., ... & Chevreau, E. (2014). Membrane-targeted HrpNEa can modulate apple defense gene expression. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 27(2), 125-135.
- Wang, H., Liu, R., You, M. P., Barbetti, M. J., & Chen, Y. (2021). Pathogen biocontrol using plant growth-promoting bacteria (PGPR): Role of bacterial diversity. *Microorganisms*, 9(9), 1988.
- Wang, R., Zhang, Z., Lv, F., Lin, H., Wei, L., & Xiao, Y. (2022). Optimizing the bacterial community structure and function in rhizosphere soil of sesame continuous cropping by the appropriate nitrate ammonium ratio. *Rhizosphere*, 100550.
- Wang, X., Zhang, J., Wang, X., An, J., You, C., Zhou, B., & Hao, Y. (2022). The growth-promoting mechanism of *Brevibacillus laterosporus* AMCC100017 on apple rootstock *malus robusta*. *Horticultural Plant Journal*, 8(1), 22-34.
- Wei, ZM; Laby, RJ; Zumoff, CH; Bauer, DW; él, SY; Collmer, A.; Beer, S.V. (1992). Harpin Elicitor de la respuesta hipersensible producida por el patógeno vegetal *Erwinia amylovora*. *Ciencia*, 257, 85–88
- Wittmann, J., Gartemann, K. H., Eichenlaub, R., & Dreiseikelmann, B. (2011). Genomic and molecular analysis of phage CMP1 from *Clavibacter michiganensis* subspecies *michiganensis*. *Bacteriophage*, 1(1), 6-14.
- Xun, Z., Guo, X., Li, Y., Wen, X., Wang, C., & Wang, Y. (2020). Quantitative proteomics analysis of tomato growth inhibition by ammonium nitrogen. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154, 129-141.
- Yadeta, K. A., & Thomma, B. P. H. J. (2013). The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 4(APR), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00097>

- Yang, X., & Yousef, A. E. (2018). Antimicrobial peptides produced by *Brevibacillus* spp.: structure, classification and bioactivity: a mini review. *World journal of microbiology and biotechnology*, 34(4), 1-10.
- Yuan, X., Yu, M., & Yang, C. H. (2020). Innovation and application of the type III secretion system inhibitors in plant pathogenic bacteria. *Microorganisms*, 8(12), 1956.
- Zeng, H., Liu, G., Kinoshita, T., Zhang, R., Zhu, Y., Shen, Q., & Xu, G. (2012). Stimulation of phosphorus uptake by ammonium nutrition involves plasma membrane H⁺ ATPase in rice roots. *Plant and Soil*, 357(1), 205-214.
- Zhou, X., Liu, Y., Huang, J., Liu, Q., Sun, J., Cai, X., ... & Miao, W. (2019). High temperatures affect the hypersensitive reaction, disease resistance and gene expression induced by a novel harpin HpaG-Xcm. *Scientific reports*, 9(1), 1-11.
- Zhu, Z., & Zhang, X. (2016). Effect of harpin on control of postharvest decay and resistant responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 112, 241-246.
- Zimmerman-Lax, N., Shenker, M., Tamir-Ariel, D., Perl-Treves, R., & Burdman, S. (2016). Effects of nitrogen nutrition on disease development caused by *Acidovorax citrulli* on melon foliage. *European Journal of Plant Pathology*, 145(1), 125-137