

EFFECTO BIOESTIMULANTE DE MENADIONA EN EL CONTROL DE *Candidatus* LIBERIBACTER SOLANACEARUM EN TOMATE

BIOSTIMULANT EFFECT OF MENADIONE IN THE CONTROL OF *Candidatus* LIBERIBACTER SOLANACEARUM IN TOMATO

Alberto Roque-Enriquez¹, Yisa M. Ochoa-Fuentes¹, Mariana Beltrán-Beache², Ernesto Cerna-Chávez¹ y Juan C. Delgado-Ortiz^{1,2*}

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Departamento de Parasitología, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. ²Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias-Departamento de Ciencias Agronómicas, Jesús María, Aguascalientes, México. ³Investigador por México CONAHCYT-UAAAN, Departamento de Parasitología, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

*Autor de correspondencia (jdelgado@conacyt.mx, moe_788@hotmail.com)

RESUMEN

El tomate es una de las hortalizas de mayor consumo a nivel mundial, y México ocupa los primeros lugares en exportación. Plagas y enfermedades que atacan el cultivo de tomate obligan a los productores a usar plaguicidas, causando contaminación ambiental. En la actualidad se buscan nuevos productos que sean amigables con el medio ambiente, pero que a su vez tengan efectividad para el control de plagas y enfermedades; una opción viable es la menadiona bisulfito de sodio (MBS). El objetivo de la investigación fue determinar el efecto bioestimulante de la MBS en plantas de tomate infectadas con *Candidatus* *Liberibacter solanacearum* (CaLso), así como evaluar la incidencia y severidad de la enfermedad en las plantas. El experimento se desarrolló bajo condiciones de invernadero en tomate de la variedad Floradade, cuyas plantas se trataron con las concentraciones de MBS antes de la inoculación. Se establecieron ocho tratamientos, cuatro inoculados con CaLso y tratados con MBS (55, 80, 100 y 500 ppm), otro con tratamiento químico e inoculado, un tratamiento testigo inoculado y dos tratamientos sin inocular, uno como testigo absoluto y otro solo tratado con 500 ppm MBS. Enseguida se inoculó con CaLso y las aplicaciones de MBS fueron realizadas a intervalos de 15 días posteriores a la inoculación. Se evaluaron variables agronómicas, incidencia y severidad de la enfermedad. La MBS logró reducir la severidad de 23.5 a 41.7 % en plantas inoculadas con la bacteria CaLso, e incrementó las variables agronómicas de altura de planta, peso fresco y peso seco de la planta y raíz, firmeza y grados Brix. Los resultados mostraron que la MBS puede ser integrada para el manejo de la enfermedad causada por CaLso en el cultivo del tomate.

Palabras clave: *Candidatus* *Liberibacter solanacearum*, control, efectividad, menadiona bisulfito de sodio.

SUMMARY

Tomato is one of the most consumed vegetables worldwide, and Mexico occupies the first places in exports. Pests and diseases that attack tomato compel producers to use pesticides, causing environmental pollution. New products are currently being sought that are environmentally friendly but effective for pest and disease control; a viable option is menadione sodium bisulfite (MBS). The objective of this research was to determine the biostimulant effect of MBS in tomato plants infected with *Candidatus* *Liberibacter solanacearum* (CaLso), as well as to evaluate the incidence and severity of the disease in the plants. The experiment was carried out under greenhouse conditions on tomato plants cv. Floradade treated with MBS concentrations before inoculation. Eight treatments were established, four

inoculated with CaLso and treated with MBS (55, 80, 100 and 500 ppm), one with chemical treatment and inoculated, one inoculated control and two treatments without inoculation, one as absolute control and one treated only with 500 ppm MBS. CaLso was then inoculated, and MBS applications were performed at 15-day intervals after inoculation. Agronomic traits, incidence and severity of the disease were evaluated. MBS reduced severity from 23.5 to 41.7 % in tomato plants inoculated with the CaLso bacterium, and increased the agronomic traits of plant height, fresh weight and dry weight of plant and root, firmness and Brix degrees. Results showed that MBS can be integrated for the management disease caused by CaLso in tomato.

Index words: *Candidatus* *Liberibacter solanacearum*, control, effectiveness, menadione sodium bisulfite.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza que más se consume y siembra en México y a nivel mundial. México ocupa el octavo lugar en producción de tomate a nivel global, donde China es el principal productor. A nivel nacional en México, Sinaloa, San Luis Potosí y Michoacán ocupan los primeros lugares en producción (López, 2017; Roque-Enriquez et al., 2021; SIAP, 2023); el cultivo de tomate se ve afectado por problemas inducidos por plagas y enfermedades, disminuyendo la superficie sembrada; aunado a esto, en la actualidad no hay registros de variedades comerciales resistentes a *Candidatus* *Liberibacter solanacearum* (CaLso) (Arellano-Aburto et al., 2021; Rojas-Martínez et al., 2016).

CaLso es una bacteria fitopatógena que afectan a varios cultivos de las familias Solanaceae y Apiaceae en diferentes partes del mundo, es transmitida por especies de psílidos (Levy et al., 2020; Mendoza-Herrera et al., 2018). CaLso son bacterias Gram negativas, limitadas al floema y pertenecen al phylum α -Proteobacteria (Fagen et al. 2014). Las regiones productoras de solanáceas en México son susceptibles a las enfermedades ocasionadas por CaLso, las cuales son responsable de pérdidas

que oscilan entre el 60 y 100 % en cada ciclo del cultivo (Hidalgo-Gómez *et al.*, 2022; Roque-Enriquez *et al.*, 2021). Los síntomas característicos de esta enfermedad incluyen la deformación del ápice foliar, aborto floral, entrenudos cortos, oscurecimiento de tejido vascular en la base del tallo y raíz de la planta, brotes cloróticos, color púrpura de las hojas, enrollamiento de las hojas, acortamiento de brotes y raíces y proliferación de raíces secundarias (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019; Hansen *et al.*, 2008; Munyaneza *et al.*, 2009).

En la actualidad, no existen métodos para el control efectivo de *CaLso*; esta bacteria es causante de las enfermedades conocidas como zebra chip, permanente del tomate y variegado del chile; para mitigar los efectos nocivos de esta enfermedad, actualmente se realizan aplicaciones de insecticidas químicos para controlar las poblaciones del insecto vector, el psílido de la papa y tomate (*Bactericera cockerelli*, Hemiptera: Psyllidae). El uso indiscriminado de plaguicidas para el control del insecto ha llevado a los productores en las regiones de Oregon, Washington y Texas en los Estados Unidos de América a reportar gastos anuales entre 11 y 26 millones de dólares. En México se han reportado hasta 30 aplicaciones por ciclo agrícola de los cultivos para el control del psílido (CNAS, 2006; Greenway y Rondon, 2018; Mayo-Hernández *et al.*, 2018; Munyaneza, 2015).

En la actualidad *CaLso* y sus haplotipos se han distribuido globalmente en diversos cultivos, malezas y vectores; hasta la fecha, se han reportado 17 haplotipos a nivel mundial, de los cuales se han reportados ocho haplotipos (A, B, F, G, Aph1, Aph2a, Aph3 y Aph2b) asociados con la infección de cultivos de solanáceas (Swisher Grimm *et al.*, 2022); y el resto de los haplotipos (C, D, E, H, H(con) U, Cras1a, Cras1b, Cras2) se encuentran distribuidos en otras partes de mundo y en diversos hospederos (Contreras-Rendón *et al.*, 2020; Swisher Grimm *et al.*, 2022).

Las plantas tienen la capacidad de protegerse contra el ataque de patógenos, si sobreviven a un ataque inicial de patógenos ya sean virus, hongos o bacterias, generan resistencia contra ataques posteriores. Esta capacidad de las células para repeler los ataques subsecuentes se dispersa a través de toda la planta. A esta respuesta se le llama resistencia sistémica adquirida (RSA) y se refiere a distintas vías de transducción de señales que juegan un rol importante en la habilidad de la planta para defenderse contra patógenos (Camarena-Gutiérrez y De la Torre-Almaráz, 2007). La síntesis de estos compuestos se puede activar por la acción de elicitores o inductores exógenos producidos por patógenos, agentes químicos y daños mecánicos (García y Pérez, 2003).

Los avances que se han generado en los últimos años en la resistencia sistémica adquirida se deben al interés en los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas y a la identificación de los elicitores o inductores químicos, un ejemplo de estos son las vitaminas que se han venido reportando como promotores de resistencia a las enfermedades, recibiendo así la atención debido a los bajos costos y seguridad (Boubakri *et al.*, 2016). La menadiona bisulfito de sodio (MBS) es un derivado de la Vitamina K3, soluble en agua (Askari *et al.*, 2021; Borges *et al.*, 2004; Rama Rao *et al.*, 1985), induce resistencia a los ataques de patógenos y plagas (Borges *et al.*, 2010), también contrarresta los efectos nocivos sobre los cultivos afectados por estrés abiótico (Borges *et al.*, 2003). Su mecanismo de acción se atribuye a la expresión de proteínas relacionadas con la patogenicidad y a la expresión sistémica de la enzima ascorbato peroxidasa, produciendo un aumento oxidativo que genera una red de señalización que incrementa las especies reactivas de oxígeno (ROS), induciendo a la acumulación de proteínas de defensa, como factores de transcripción y eliminación de ROS, lo que ayuda a que la planta se prepare y tenga una respuesta mejorada al estrés, ya sea biótico o abiótico. Por último, refuerza los mecanismos de defensa mediante la acumulación de fitoalexinas en la planta biosintetizadas durante la patogénesis (Borges *et al.*, 2004; Borges *et al.*, 2014). El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto bioestimulante de la MBS en plantas de tomate infectadas con *CaLso*, así como evaluar la incidencia y severidad de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

La presente investigación se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero perteneciente al laboratorio de toxicología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coahuila, México.

Cría de *B. cockerelli*

La colonia se mantiene establecida bajo condiciones de invernadero desde el año 2018, los insectos se confinaron dentro de una jaula entomológica (60 × 60 × 70 cm), en plantas de tomate de la variedad Rio Grande de 30 días de crecimiento, a temperatura de 25 ± 2 °C con fotoperiodo 14:10 h (Roque-Enriquez *et al.*, 2021).

Confirmación de la bacteria en el insecto

Para confirmar la presencia de la bacteria en el insecto se realizó una extracción de ADN a 15 individuos siguiendo

la metodología desarrollada por Roque-Enriquez (2021); para ello se tomaron 10 adultos y se maceraron en un mortero con nitrógeno líquido con la adición de buffer de lisis (Tris-HCL 100 mM, pH 8; EDTA 50 mM, pH 8.5; NaCl 50 mM; SDS 2 %). Al macerado se le añadieron 600 µL de cloroformo alcohol isoamílico 24:1, para luego mezclar y centrifugar durante 15 min a 12 000 rpm. La fase acuosa se transfirió a un nuevo tubo y se le adicionó un volumen similar de isopropanol frío, para luego dejar reposar y volver a centrifugar por 10 min a 12000 rpm. La fase acuosa se desechó y el ADN se resuspendió en 50 µL de agua estéril. Para verificar calidad del ADN éste se corrió en un gel de agarosa 2 %. Se procedió a la detección de *CaLso* por PCR, utilizando los cebadores CL514F (5'-CTCTAAGATTTTCGGTTGGTT-3') y CL514R (5'-TATATCTATCGTTGCACCAG-3') que amplifican una región de 669 pb (Liefting *et al.*, 2009). La reacción de PCR para *CaLso* se realizó con 6 µL de Taq & Go Mastermix, 1 µL de cada cebador (CL514F/CL514R) a 10 µM y 1 µL (50 ng) de ADN de insecto, ajustándose a un volumen final de reacción de 15µL con agua destilada estéril. El programa del termociclador fue; desnaturalización inicial de 94 °C por 3 min, seguido de 40 ciclos de 94 °C por 45 s para desnaturalización, 53 °C por 45 s como temperatura de alineamiento de los cebadores y 72 °C por 60 s para extensión, y una extensión final de 72 °C por 10 min en un termociclador. Los productos se corrieron en gel de agarosa 1.0 %.

Establecimiento del experimento

Para la germinación de las semillas de tomate variedad Floradade se usaron charolas de polietileno de 200 cavidades con sustrato peat moss y perlita en relación 2:1; a los 30 días las plántulas se trasplantaron en bolsas de polietileno de 8 L con una mezcla de peat-moss y perlita en relación 1:1 y regadas desde la emergencia de la plántula hasta el final del ciclo del cultivo con la solución nutritiva Steiner (1961) de acuerdo con la etapa fenológica de la planta, el pH de la solución nutritiva fue de 6.5 y la conductibilidad eléctrica de 2.2 dS m⁻¹ y potencial osmótico de 0.072 MPa.

Para la inoculación de *CaLso* en tomate se colocaron ocho insectos de *B. cockerelli* infectados con la bacteria en trampas entomológicas durante 24 h para su alimentación; pasado este lapso, se retiraron los insectos, así como los huevecillos que ovipositaron en las hojas. Los tratamientos fueron seleccionados de acuerdo con lo reportado por Borges y Borges-Pérez (2012) y Delgado *et al.* (2022); cuatro tratamientos inoculados con la bacteria y tratados con MBS (55, 80, 100 y, 500 ppm), otro con tratamiento químico Acibenzolar s-metil (ASM) a 30 g ha⁻¹

e inoculado con *CaLso*, un tratamiento testigo inoculado (TCaLso), y dos tratamientos sin inocular, uno como testigo absoluto (TAb) y otro solo tratado con 500 ppm MBS (MBS/sin-inoc). A cada tratamiento se le realizaron cuatro aplicaciones de MBS; la primera un día antes de la inoculación de la bacteria con el insecto y las siguientes a los 15, 30 y 45 días después del trasplante (ddt). El diseño experimental fue completamente al azar con ocho tratamientos y nueve repeticiones, una planta por maceta se consideró como unidad experimental.

Variables evaluadas

La severidad de *CaLso* en las plantas de tomate se determinó con base en la escala 0-10 implementada por Roque-Enriquez (2021), donde 0: planta sana hasta 10: planta muerta. El cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) se realizó mediante la fórmula de Shaner y Finney (1977), para lo cual se registró la severidad de la enfermedad cada semana desde la aparición de los primeros síntomas de *CaLso*. Los parámetros agronómicos que se evaluaron en el experimento fueron: altura de planta (cm, ALTP), longitud de raíz (cm, LR) diámetro del tallo (cm, DT), peso fresco de follaje (g, PFP), peso seco de follaje (g, PSP), peso fresco de raíz (g, PFR), peso seco de raíz (g, PSR), peso del fruto (g, PF), diámetro polar del fruto (mm, DP), diámetro ecuatorial del fruto (mm, DE), con apoyo de un refractómetro (Aichose®) se determinaron los sólidos solubles totales en tres frutos por repetición (Grados Brix); así mismo se determinó la firmeza del fruto (N, FF) a través de un penetrómetro (modelo: RN-GY-3 , Kern & Sohn Company, Abstadt, Alemania).

Confirmación de la incidencia de *CaLso*

Transcurridas cuatro semanas post-inoculación se confirmó la presencia de la bacteria *CaLso* en las plantas, se realizaron extracciones de ADN a partir de 0.5 g de tejido vegetal por la metodología antes mencionada. Se realizó la amplificación por PCR para detectar *CaLso* e identificar los haplotipos presentes, utilizando los cebadores diferenciales Lso-SSR-1F (5'-TTATTTTGGAGATGGTTTGTAAATG-3') y Lso-SSR-1R (5'-TATTATCATTCTATTGCCTATTTTCG-3') que amplifican una región de 240 pb para el haplotipo A y 180 pb para el haplotipo B (Lin *et al.*, 2012). La reacción de PCR se realizó con 10 µL de Taq & Go Mastermix, 1.0 µL de cada cebador a 10 µM y 1 µL (50 ng) de ADN, ajustando a un volumen final de reacción de 20 µL con agua destilada estéril. Con un programa de amplificación de un ciclo de desnaturalización de 94 °C por 5 min, 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 58 °C por 30 s y 72 °C por 45 s, con una extensión final de 72 °C por 10 min. Los productos de la reacción fueron visualizados en gel de agarosa 3.5 %.

Análisis estadístico

Para cada variable evaluada se determinó la homogeneidad de varianzas por la prueba de Brown y Forsythe, así como análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), además de un análisis de correlación de Pearson, todo ello con el programa estadístico SAS versión 9.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los 28 ddi se confirmó la incidencia del 100 % de las plantas inoculadas con CaLso como positivas a la presencia de la bacteria, así como a la infección mixta de los haplotipos A y B.

En el ABCPE registrado a los 86 ddt los tratamientos que presentaron los primeros síntomas fueron el testigo inoculado y el ASM a los 30 ddi, presentando un ligero enrollamiento y clorosis en el ápice de las hojas y muerte, mientras que los tratamientos de MBS mostraron a los 37 ddi las primeras clorosis y una menor severidad en los síntomas causados por CaLso disminuyendo DE 23.5 a 41.7 % el daño en comparación con el TCaLso y ASM, destacando el tratamiento de 500 ppm MBS que mostró la menor ABCPE con 211.11 unidades ($P = 0.0001$; $F_{7,64} = 1.87$, $P = 0.089$) (Cuadro 1).

Estos resultados concuerdan con lo reportado por García-Machado *et al.* (2022) con la aplicación de vitamina

Cuadro 1. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad en tomates inoculados con CaLso, tratados con menadiona.

Tratamientos	ABCPE
55 ppm MBS	267.50 ± 81.16 b
80 ppm MBS	271.17 ± 73.67 b
100 ppm MBS	277.56 ± 75.89 b
500 ppm MBS	211.11 ± 51.88 b
ASM	379.56 ± 41.03 a
TCaLso	362.39 ± 26.85 a
TAbs	0 c
MBS/Sin-inoc	0 c

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). ABCPE: área bajo la curva del progreso de la enfermedad, MSB: menadiona bisulfito de sodio, ASM: acibenzolar s-metil, TCaLso: testigo inoculado con la bacteria, TAbs: testigo absoluto, MBS/Sin-inoc: 500 ppm MBS sin inocular.

K3 a una concentración de 1981.8 ppm en plantas de tomate infectadas con el hongo *Botrytis cinerea*, las cuales redujeron la severidad en las hojas en 30 %. Zhang *et al.* (2019) reportaron una reducción en la severidad de la enfermedad de Pierce de 54-59 % en los síntomas en plantas de vid tratadas con 500 ppm de MBS.

En el Cuadro 2, se puede observar el comportamiento de las variables agronómicas con respecto a los tratamientos evaluados, la mayor ALTP fue obtenida con 500 ppm de MBS, mostrando un incremento de 50 % en comparación con el TCaLso y ASM. Askari *et al.* (2021) reportaron que plantas de trigo bajo toxicidad de cromo mostraron un incremento en la ALTP al ser tratadas con MBS. Los resultados anteriores fueron superiores a los reportados por García-Machado *et al.* (2022), quienes lograron incrementar en 28 % la altura de plantas de tomate infectadas con *B. cinerea* y tratadas con MBS a una concentración de 1981.8 ppm. Por otra parte, Jiménez-Arias *et al.* (2019) mencionaron que con la aplicación de 33,030 ppm de MBS en plantas de tomate, se incrementó en 47 % el crecimiento bajo estrés abiótico.

Respecto a la variable LR, el tratamiento de 500 ppm de MBS fue el que mostró un mejor comportamiento con 2.05 veces más en comparación con el TCaLso y ASM, los cuales obtuvieron los valores más bajos, mostrando una disminución de esta variable por debajo del 50 % en comparación con el TAbs. Los tratamientos con MBS mostraron un mayor DT en comparación con el TCaLso y ASM, mientras que el TAbs y MBS/Sin-inoc mostraron los mejores valores.

El Cuadro 3 presenta los pesos frescos y secos de los tratamientos evaluados, donde se puede observar que el PSP con 500 ppm de MBS destacó entre los tratamientos inoculados con CaLso, superando al TCaLso por 2.62 veces más, e igualando al TAbs y MBS/Sin-inoc, mientras que en PSP en los tratamientos de TCaLso y ASM fueron los más bajos, mostrando una pérdida de 40 a 55 % en relación con el TAbs, destaca el tratamiento de inoculación con 500 ppm MBS, el cual mostró un comportamiento similar a TAbs y fue superado solo por el tratamiento MBS/Sin-inoc. El estudio realizado por Jiménez-Arias *et al.* (2023) mostró que la aplicación de MBS y nanopartículas cargadas con MBS promovieron incrementos en peso fresco de 7 a 13% en plantas de tomates con deficiencia de riego.

En cuanto a las variables de PFR se observó que los tratamientos de TAbs y la MBS/Sin-inoc mostraron los mejores valores para estas variables, pero también destaca el comportamiento del tratamiento de 500 ppm de MBS, el cual superó al TCaLso en 73 % y solamente fue superado por el TAbs. Para PSR el mejor tratamiento fue el de 500 ppm

Cuadro 2. Variables agronómicas evaluadas en tomate infectado con CaLso y tratadas con MBS.

Tratamientos	ALTP (cm)	LR (cm)	DT (mm)
55 ppm MBS	66.77 ± 9.07 b	48.0 ± 11.81 cd	11.41 ± 0.57 d
80 ppm MBS	71 ± 18.14 b	44.11 ± 5.92 cd	12.22 ± 0.80 bdc
100 ppm MBS	70.22 ± 9.79 b	57.44 ± 19.09 bdc	11.66 ± 0.98 dc
500 ppm MBS	127.11 ± 33.93 a	82.27 ± 23.71 ab	13.94 ± 0.84 ab
ASM	60.44 ± 15.37 b	41.22 ± 11.87cd	10.11 ± 1.35 d
TCaLso	64.89 ± 10.99 b	40.11 ± 12.51 d	10.26 ± 0.72 d
TAbs	120.77 ± 21.51 a	87.88 ± 45.25 a	13.79 ± 2.94 abc
MBS/Sin-inoc	142.22 ± 30.89 a	69.55 ± 13.69 abc	14.46 ± 2.53 a
P-valor	0.0001	0.0001	0.0001
Prueba Brown y Forshyte	$F_{7,64} = 1.43, P = 0.209$	$F_{7,64} = 1.67, P = 0.131$	$F_{7,64} = 1.16, P = 0.152$

Medias con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). MSB: menadiona bisulfito de sodio, ASM: acibenzolar s-metil, TCaLso: testigo inoculado con CaLso, TAbs: testigo absoluto, MBS/Sin-inoc: 500 ppm MBS sin inocular, ALTP: altura de planta, LR: longitud de raíz, DT: diámetro del tallo.

Cuadro 3. Variables agronómicas evaluadas en tomate infectado con CaLso y tratado con MBS.

Tratamientos	PFP (g)	PSP (g)	PFR (g)	PSR (g)
55 ppm MBS	249.22 ± 60.60 b	62.55 ± 6.98 d	43.17 ± 13.28 dc	18.23 ± 3.41 a
80 ppm MBS	231.67 ± 88.63 b	72.11 ± 12.03 bcd	49.28 ± 24.32 bdc	18.66 ± 3.63 a
100 ppm MBS	362.56 ± 116.57 b	71.44 ± 10.15 dc	45.72 ± 17.89 bcd	17.57 ± 2.53 a
500 ppm MBS	544.22 ± 171.89 a	95.77 ± 18.37 ab	99.33 ± 52.70 abc	26.61 ± 6.61 a
ASM	194.0 ± 72.39 b	52.66 ± 10.63 d	34.44 ± 26.73 d	13.98 ± 3.16 a
TCaLso	207.67 ± 44.01 b	58.22 ± 6.37 d	57.33 ± 16.14 bdc	15.71 ± 2.17 a
TAbs	550.11 ± 161.41 a	95.22 ± 25.19 abc	122.28 ± 52.49 a	26.85 ± 7.66 a
MBS/sin-inoc	677.22 ± 199.45 a	110.22 ± 25.55 a	103.11 ± 48.03 ab	31.61 ± 7.92 a
P-valor	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
Prueba Brown y Forshyte	$F_{7,64} = 1.75, P = 0.113$	$F_{7,64} = 1.93, P = 0.079$	$F_{7,64} = 1.10, P = 0.374$	$F_{7,64} = 1.00, P = 0.440$

Medias con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). MSB: menadiona bisulfito de sodio, ASM: acibenzolar s-metil, TCaLso: testigo inoculado con CaLso, TAbs: testigo absoluto, MBS/Sin-inoc: 500 ppm MBS sin inocular, PFP: peso fresco de follaje, PSP: peso seco de follaje, PFR: peso fresco de raíz, PSR: peso seco de raíz.

MBS el cual mostró un comportamiento similar al TAbs y MBS/Sin-inoc, superando a los tratamientos TCaLso y al ASM, los cuales mostraron los valores más bajos. Yaseen *et al.* (2021) reportaron que plantas de calabaza tratadas con 3303 ppm de MBS aumentaron sustancialmente (108 %) el peso fresco de la raíz en condiciones de estrés por cadmio. Jiménez-Arias *et al.* (2019) reportaron que plantas de tomate bajo estrés salino y tratadas con 33,030 ppm de MBS registraron un incremento en el peso seco de 42 %.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de las

variables de calidad de frutos, donde se puede observar que los tratamientos que destacan en DP, DE, PF, FF y grados Brix son TAbs y MBS/Sin-inoc; sin embargo, el tratamiento de 500 ppm MBS inoculado mostró valores similares a los antes mencionados, siendo superior al TCaLso y ASM. Yaseen *et al.* (2021) reportaron un incremento de producción del 100 % en el número de frutos del cultivo de calabaza tratado con 3303 ppm de MBS. Por su parte, Pushpalatha *et al.* (2007), en trabajos realizados para el control de mildiú vellosa causado por *Sclerospora graminicola*, lograron aumentar el peso del

grano de mijo perla forrajero (*Pennisetum glaucum*) en 13 % al ser tratados con MBS, mientras que Fernández-Falcón *et al.* (2009) lograron un aumento de 30 % en la producción de banano (*Musa × paradisiaca*) al aplicar menadiona (2-metil-1,4-naftoquinona) para el control de la enfermedad de panamá del banano (*Fusarium oxysporum*).

En los frutos de tomate cosechados de cada racimo, los tratamientos Tabs y MBS/Sin-inoc fueron los que presentaron los mayores diámetros, polar (DP) y ecuatorial (DE), por encima de los demás tratamientos, con excepción del tratamiento de 500 ppm MBS, destacando que aun con la infección de la bacteria este tratamiento tuvo resultados similares a los de una planta sana.

Los mejores tratamientos en cuanto a la concentración de GB fueron el Tabs, 500 ppm MBS y el tratamiento de MBS/Sin-inoc con una media por encima de 3° Brix, mientras que el TCaLso y ASM presentaron registros por debajo de 1° Brix. El tratamiento de 500 ppm MBS mostró un incremento en la FF de 3 a 6 veces en comparación con el TCaLso que presentó el valor más bajo (4.12 N). Borges *et al.* (2010) reportaron que plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*) tratadas con 60 ppm de MBS aumentaron significativamente la FF por encima de 175 % en relación con los testigos tratados con agua.

El análisis de correlación muestra que los diversos tratamientos presentaron una relación positiva con variables como DP ($r = 0.44^*$), DE ($r = 0.42^*$) y FIR ($r = 0.53^{**}$), mientras que con la variable ABCPE presentaron una correlación negativa ($r = -0.63^{**}$). El ABCPE mantuvo una relación negativa con las variables DT, DP, DE, GB, FF, PFP, LR, ALT Y PF ($r = -0.48^*$ a -0.87^{**}), siendo que el PFR fue la única variable no significativa. Askari *et al.* (2021) detectaron una correlación negativa en plantas de trigo bajo condiciones de estrés salino, demostrando que la aplicación de MBS mejoró el crecimiento, fotosíntesis, el contenido de prolina y de azúcares totales (Cuadro 5).

CONCLUSIONES

Las plantas de tomate tratadas con MBS e infectadas con CaLso mostraron una reducción de los síntomas causados por ésta, los cuales comenzaron a expresarse siete días después que los testigos, destacando la aplicación de 500 ppm de MBS como el mejor tratamiento, al reducir los daños en 41.7 %. Todos los tratamientos que incluyeron una aplicación con MSB, mejoraron las variables agronómicas altura de la planta, peso fresco de la planta y raíz, peso seco de la planta y raíz, longitud de raíz y diámetro del tallo, mientras que los tratamientos de 500 ppm de MBS pudieron equipararse con la calidad del fruto del testigo absoluto.

Cuadro 4. Variables de calidad de los frutos de tomate infectados con CaLso y tratados con MBS.

Tratamientos	DP (mm)	DE (mm)	PF (g)	FF (N)	Grados Brix
55 ppm MBS	21.82 ± 21.82 bc	17.00 ± 17.08 bc	115.2 ± 153.4 b	7.35 ± 7.06 cd	1.66 ± 1.73 bdc
80 ppm MBS	21.43 ± 21.07 bc	17.46 ± 17.41 bc	134.0 ± 211.16 b	6.37 ± 6.08 d	1.66 ± 1.58 bdc
100 ppm MBS	16.08 ± 19.68 c	12.95 ± 16.43 c	59.9 ± 109.57 b	6.47 ± 7.94 d	1.33 ± 1.65 cd
500 ppm MBS	47.55 ± 20.03 ab	38.70 ± 16.88 ab	821.5 ± 574.06 a	17.65 ± 8.34 bc	3.44 ± 1.50 ab
ASM	21.87 ± 20.94 bc	19.09 ± 19.00 bc	39.8 ± 50.67 b	7.94 ± 7.65 dc	1.55 ± 1.58 bdc
TCaLso	10.97 ± 16.72 c	9.24 ± 14.30 c	9.3 ± 20.12 b	4.12 ± 6.28 d	0.72 ± 1.09 d
TABS	57.66 ± 6.03 a	46.31 ± 3.36 a	851.5 ± 453.93 a	29.13 ± 6.28 a	3.77 ± 0.66 a
MBS/Sin-inoc	47.53 ± 6.9 ab	42.60 ± 16.18 a	1142.3 ± 792.29 a	27.36 ± 11.47 ab	3.11 ± 1.36 abc
p-valor	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
Prueba Brown y Forshyte	$F_{7,64} = 1.33$, P = 0.253	$F_{7,64} = 1.37$, P = 0.234	$F_{7,64} = 1.97$, P = 0.073	$F_{7,64} = 0.38$, P = 0.909	$F_{7,64} = 0.89$, P = 0.519

Medias con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). Trat: tratamientos, MSB: menadiona bisulfato de sodio, ASM: acibenzolar s-metil, TCaLso: testigo inoculado con CaLso, TABS: testigo absoluto, MBS/Sin-inoc: 500 ppm MBS sin inocular, DP: diámetro polar del fruto, DE: diámetro ecuatorial del fruto, GB: Grados Brix, FF: firmeza del fruto.

Cuadro 5. Matriz de correlación de variables evaluadas en tomate infectados con Calso tratados con MBS.

	TRAT	ABCPE	DT	DP	DE	GB	FF	PFP	PFR	LR	ALT	PF
TRAT	1.00											
ABCPE	-0.63**	1.00										
DT	0.23 ^{NS}	-0.66**	1.00									
DP	0.44*	-0.77**	0.62**	1.00								
DE	0.42*	-0.75**	0.60**	0.99**	1.00							
GB	0.28 ^{NS}	-0.63**	0.53**	0.76**	0.80**	1.00						
FIR	0.53**	-0.87**	0.63**	0.90**	0.90**	0.87**	1.00					
PFP	0.05 ^{NS}	-0.65**	0.61**	0.79**	0.78**	0.68*	0.76**	1.00				
PFR	0.03 ^{NS}	-0.32 ^{NS}	0.55**	0.60**	0.61**	0.45*	0.44*	0.61**	1.00			
LR	0.12 ^{NS}	-0.46*	0.57**	0.38 ^{NS}	0.44**	0.63**	0.52**	0.48*	0.55**	1.00		
ALT	0.22 ^{NS}	-0.57**	0.39 ^{NS}	0.64**	0.66**	0.43*	0.58**	0.58**	0.34 ^{NS}	0.28 ^{NS}	1.00	
PF	0.32 ^{NS}	-0.58**	0.48*	0.86**	0.84**	0.47*	0.66**	0.64**	0.48*	0.17 ^{NS}	0.54**	1.00

^{NS} No significativo, * Significancia $P \leq 0.05$ y ** Significancia $P \leq 0.01$.

BIBLIOGRAFÍA

- Arellano-Aburto D. A., J. Á. López-Valenzuela, R. Gutierrez-Dorado, K. V. Pineda-Hidalgo, J. E. Retes-Manjarrez y J. A. Garzón-Tiznado (2021) Análisis de resistencia a *Candidatus Liberibacter solanacearum* en genotipos de tomate. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44:425-425, <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.3.425>
- Askari S. H., M. A. Ashraf, S. Ali, M. Rizwan and R. Rasheed (2021) Menadione sodium bisulfite alleviated chromium effects on wheat by regulating oxidative defense, chromium speciation, and ion homeostasis. *Environmental Science and Pollution Research* 28:36205-36225, <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13221-0>
- Borges R. A. A. and A. Borges-Pérez (2012) Compositions for controlling the psyllids *Trioza erythrae* and *Diaphorina citri*, vectors of bacteria of the genus *Candidatus liberibacter*, which cause the most serious known disease of citrus, namely Huanglongbing (HLB). Patent Application EP2625956A4. European Patent Office. Munich, Germany. 18 p.
- Borges A. A., H. J. Cools and J. A. Lucas (2003) Menadione sodium bisulphite: a novel plant defence activator which enhances local and systemic resistance to infection by *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape. *Plant Pathology* 52:429-436, <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00877.x>
- Borges A. A., A. Borges-Pérez and M. Fernández-Falcón (2004) Induced resistance to Fusarial wilt of banana by menadione sodium bisulphite treatments. *Crop Protection* 23:1245-1247, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.05.010>
- Borges A., A. A. Borges-Pérez y M. Exposito R. (2010) Uso de composiciones que contienen menadiona y/o alguno(s) de sus derivados hidrosolubles a fin de inducir en los cultivos tratados una mejora de sus frutos a la manipulación y al transporte. Patente ES 2 311 420 B1. Oficina Española de Patentes y Marcas. Madrid, España. <http://hdl.handle.net/10261/29263> (Septiembre 2024).
- Borges A. A., D. Jiménez-Arias, M. Expósito-Rodríguez, M. L. Sandalio and J. A. Pérez (2014) Priming crops against biotic and abiotic stresses: MSB as a tool for studying mechanisms. *Frontiers in Plant Science* 5:642, <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00642>
- Boubakri H., M. Gargouri, A. Mliki, F. Brini, J. Chong and M. Jbara (2016) Vitamins for enhancing plant resistance. *Planta* 244:529-543, <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2552-0>
- Camarena-Gutiérrez G. y R. De la Torre-Almaráz (2007) Resistencia sistémica adquirida en plantas: estado actual. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 13:157-162.
- CNAS, Center for North American Studies (2006) Economic impacts of zebra chip on the Texas potato industry. Center for North America Studies, Texas A&M University. College Station, Texas, USA. <https://agecoext.tamu.edu/wp-content/uploads/2021/02/CNAS-pub-Zebra-Chip-Impacts-Final.pdf> (September 2024).
- Contreras-Rendón A., J. R. Sánchez-Pale, D. Fuentes-Aragón, I. Alanís-Martínez and H. V. Silva-Rojas (2020) Conventional and qPCR reveals the presence of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' haplotypes A, and B in *Physalis philadelphica* plant, seed, and *Bactericera cockerelli* psyllids, with the assignment of a new haplotype H in Convolvulaceae. *Antonie van Leeuwenhoek* 113:533-551, <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01362-9>
- Delgado O. J. C., A. Roque E., M. Beltrán B., Y. M. Ochoa F., E. Cerna C., R. J. Díaz A. and J. Landeros F. (2022) Insecticidal effect of menadione on whitefly, *Bemisia tabaci*, and tomato psyllid, *Bactericera cockerelli*. *Southwestern Entomologist* 47:83-88, <https://doi.org/10.3958/059.047.0106>
- Delgado-Ortiz J. C., M. Beltrán-Beache, E. Cerna-Chávez, L. A. Aguirre-Urbe, J. Landero-Flores, Y. Rodríguez-Pagaza y Y. M. Ochoa-Fuentes (2019) *Candidatus Liberibacter solanacearum* patógeno vascular de solanáceas: Diagnóstico y control. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 22:1-12, <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.177>
- Fagen J. R., M. L. Leonard, J. F. Coyle, C. M. McCullough, A. G. Davis-Richardson, M. J. Davis and E. W. Triplett (2014) *Liberibacter crescens* gen. nov., sp. nov., the first cultured member of the genus *Liberibacter*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64:2461-2466, <https://doi.org/10.1099/ijs.0.063255-0>
- Fernández-Falcón M., C. E. Alvarez, R. Gorrín, M. M. Hernández and A. A. Borges (2009) Influence of a menadione derivative on banana Panama disease development and yield enhancement.

- The Open Horticulture Journal 2:49-53, <https://doi.org/10.2174/1874840600902010049>
- García M. R. y R. Pérez L. (2003) Fitoalexinas: mecanismo de defensa de las plantas. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 9:5-10.
- García-Machado F. J., A. L. García-García, A. A. Borges and D. Jiménez-Arias (2022) Root treatment with a vitamin K₃ derivative: A promising alternative to synthetic fungicides against *Botrytis cinerea* in tomato plants. *Pest Management Science* 78:974-981, <https://doi.org/10.1002/ps.6707>
- Greenway G. A. and S. Rondon (2018) Economic impacts of zebra chip in Idaho, Oregon, and Washington. *American Journal of Potato Research* 95:362-367, <https://doi.org/10.1007/s12230-018-9636-2>
- Hansen A. K., J. T. Trumble, R. Stouthamer and T. D. Paine (2008) A new huanglongbing species, "*Candidatus* Liberibacter psyllauros", found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and Environmental Microbiology* 74:5862-5865, <https://doi.org/10.1128/AEM.01268-08>
- Hidalgo-Gómez Y., J. A. Carrillo-Salazar, R. I. Rojas-Martínez, A. Rivera-Peña y O. J. Ayala-Garay (2022) Síntomas foliares, biomasa y calidad de tubérculo de genotipos de papa inoculados con *Candidatus* Liberibacter solanacearum. *Revista Fitotecnia Mexicana* 45:323-323, <https://doi.org/10.35196/rfm.2022.3.323>
- Jiménez-Arias D., F. J. García-Machado, S. Morales-Sierra, E. Suárez, J. A. Pérez, J. C. Luis, JC and A. A. Borges (2019) Menadione sodium bisulphite (MSB): beyond seed-soaking. Root pretreatment with MSB primes salt stress tolerance in tomato plants. *Environmental and Experimental Botany* 157:161-170, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.009>
- Levy J. G., R. Gross, A. Mendoza-Herrera, X. Tang, K. Babilonia, L. Shan and C. Tamborindeguy (2020) Lso-HPE1, an effector of *Candidatus* Liberibacter solanacearum, can repress plant immune response. *Phytopathology* 110:648-655, <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0252-R>
- Liefting L. W., P. W. Sutherland, L. I. Ward, K. L. Paice, B. S. Weir and G. R. G. Clover (2009) A new '*Candidatus* Liberibacter' species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93:208-214, <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-3-0208>
- Lin H., M. S. Islam, Y. Bai, A. Wen, S. Lan, N. C. Gudmesta and E. L. Civerolo (2012) Genetic diversity of '*Candidatus* Liberibacter' strains in the United States and Mexico revealed by simple sequence repeat markers. *European Journal of Plant Pathology* 132:297-308, <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9874-3>
- López M. L. M. (2017) Manual Técnico del Cultivo del Tomate *Solanum lycopersicum*. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. San José, Costa Rica. 126 p.
- Mayo-Hernández J., J. Molina-Padilla, J. Corrales-Reynaga, O. García-Martínez y J. C. Terrazas-Portillo (2018) Efecto ovicida de spirotetramat y flupyradifurone en *Bactericera cockerelli* Sulc (Hemiptera: Trioziidae). In: Memorias I Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Academia Mexicana de Entomología Aplicada, León, Guanajuato, México. pp:132-136.
- Mendoza-Herrera A., J. Levy, K. Harrison, J. Yao, F. Ibanez and C. Tamborindeguy (2018) Infection by *Candidatus* Liberibacter solanacearum haplotypes A and B in *Solanum lycopersicum* 'MoneyMaker'. *Plant Disease* 102:2009-2015, <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-17-1982-RE>
- Munyaneza J. E. (2015) Zebra chip disease, *Candidatus* Liberibacter, and potato psyllid: a global threat to the potato industry. *American Journal of Potato Research* 92:230-235, <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9448-6>
- Munyaneza J. E., V. G. Sengoda, J. M. Crosslin, G. De la Rosa-Lozano and A. Sanchez (2009) First report of '*Candidatus* Liberibacter psyllauros' in potato tubers with zebra chip disease in Mexico. *Plant Disease* 93:552-552, <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-5-0552A>
- Pushpalatha H. G., S. R. Mythrashree, R. Shetty, N. P. Geetha, R. G. Sharathchandra, K. N. Amruthesh and H. S. Shetty (2007) Ability of vitamins to induce downy mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet. *Crop Protection* 26:674-1681, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.02.012>
- Rama Rao A. V., K. Ravichandran, S. B. David and S. Ranade (1985) Menadione sodium bisulphite: a promising plant growth regulator. *Plant Growth Regulation* 3:111-118, <http://doi.org/10.1007/BF01806050>
- Rojas-Martínez R. I., E. Zavaleta-Mejía, D. L. Ochoa-Martínez, I. Alanís-Martínez and F. García-Tapia (2016) Association of *Candidatus* Liberibacter solanacearum with the decline of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Plant Pathology* 98:191-196.
- Roque-Enriquez A., J. C. Delgado-Ortiz, M. Beltrán-Beache, Y. M. Ochoa-Fuentes y E. Cerna-Chávez (2021) Parámetros agronómicos del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculado con *Candidatus* Liberibacter solanacearum y tratados con fosfitos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 8:e2552, <https://doi.org/10.19136/era.a8n1.2552>
- Shaner G. and R. E. Finney (1977) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056, <https://doi.org/10.1094/Phyto-67-1051>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2019) Panorama agroalimentario 2022 Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México, México. 216 p.
- Steiner A. A. (1961) A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soils* 15:134-154.
- Swisher Grimm K. D., D. R. Horton, T. M. Lewis, S. F. Garczynski, A. S. Jensen and B. A. Charlton (2022). Identification of three new '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' haplotypes in four psyllid species (Hemiptera: Psylloidea). *Scientific Reports* 12:20618, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24032-9>
- Yaseen W., M. Iqbal, I. Hussain, S. Khaliq and M. A. Ashraf (2021) Exogenous menadione sodium bisulphite increases pigments, osmoprotectants and alters metabolism to attenuate cadmium toxicity on growth and yield in summer squash (*Cucurbita pepo*). *International Journal of Agriculture & Biology* 25:1321-1330, <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1794>
- Zhang S., M. Jain, L. A. Fleites, P. A. Rayside and D. W. Gabriel (2019) Identification and characterization of menadione and benzethonium chloride as potential treatments of Pierce's disease of grapevines. *Phytopathology* 109:233-239, <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0244-FI>