



Abanico Agroforestal. Enero-Diciembre 2023; 5:1-8. <http://dx.doi.org/10.37114/abaagrof/2023.6>
Nota de Investigación. Recibido: 18/04/2023. Aceptado: 31/10/2023. Publicado: 24/11/2023. Clave: e2023-2
<https://www.youtube.com/watch?v=x6wRQcF0SQI>

Control preventivo del cáncer bacteriano mediante aplicación de agua electrolizada en cultivo de tomate

Preventive control of bacterial cancer by applying electrolyzed water in tomato crops



Medina-Saavedra Tarsicio^{1ID}, Mexicano-Santoyo Lilia^{2*ID}, García-Vieyra Isabel^{1ID},
Rangel-Campos Damián^{1ID}, Mexicano-Santoyo Adriana^{3ID}

¹Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Privada Arteaga s/n, Col. Centro, C.P. 38900, Salvatierra, Guanajuato, México. ²Instituto Tecnológico de Roque, División de Posgrado e Investigación, Km.8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Apartado Postal 508, C. P. 38110, Celaya, Guanajuato, México. ³Instituto Tecnológico de Cd. Victoria, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Boulevard Emilio Portes Gil #1301 Pte. A.P. 175 C.P. 87010 Cd. Victoria, Tamaulipas. México. *Autor de Correspondencia: Mexicano-Santoyo Lilia, Km.8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Apartado Postal 508, C. P. 38110, Celaya, Gto., México. E-Mail: tarsicioms@hotmail.com, lilia_lasalle@hotmail.com, isabel.garcia@ugto.mx, ds.rangelcampos@ugto.mx, mexicanoa@gmail.com

Resumen

Clavibacter michiganensis subsp *michiganensis* causa la enfermedad del cáncer bacteriano en el cultivo del tomate. Durante la producción se utiliza el control químico que llega a generar un efecto fitotóxico en las plantas y resistencia a la sustancia activa por parte del patógeno. El objetivo fue evaluar el efecto del agua electrolizada como tratamiento preventivo del cáncer bacteriano en el cultivo de tomate. Se aplicaron tratamientos preventivos que consistieron en T1: Agua electrolizada oxidante, T2: Bactericida comercial (Kasumin), T3: Plantas sin tratar. Durante la etapa vegetativa se midieron las variables de diámetro de tallo, número de hojas, número de racimos y altura de la planta, se determinó la severidad y el Log₁₀(UFC/g de muestra). Los resultados muestran el mayor diámetro de tallo en T1 (1.49 ± 0.28), en cuanto al número de hojas no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos (P < 0.05), el menor número de racimos y la menor altura de la planta se observó en T3. La menor severidad fue observada en T1, finalmente el valor más bajo de poblaciones bacterianas se obtuvo en T1. Se concluye que el agua electrolizada podría ser una alternativa para ser aplicada en plantas de tomate para reducir el daño causado *Clavibacter*.

Palabras clave: agua electrolizada oxidante, fitopatógeno, *Clavibacter michiganensis*

Abstract

Clavibacter michiganensis subsp *michiganensis* causes the bacterial cancer disease in tomato crops. During production, chemical control is used, which generates a phytotoxic effect in the plants and resistance to the active substance on the part of the pathogen. The objective was to evaluate the effect of electrolyzed water as a preventive treatment of bacterial cancer in tomato crops. Preventive treatments were applied that consisted of T1: Oxidizing electrolyzed water, T2: Commercial bactericide (Kasumin), T3: Untreated plants. During the vegetative stage, the variables of stem diameter, number of leaves, number of clusters and plant height were measured, severity and Log₁₀ (CFU/g of sample) were determined. The results show the largest stem diameter in T1 (1.49 ± 0.28), in terms of the number of leaves, no statistical differences were observed between treatments (P < 0.05), the lowest number of clusters and the lowest plant height was observed in T3. The lowest severity was observed in T1, finally the lowest value of bacterial populations



was obtained in T1. It is concluded that electrolyzed water could be an alternative to be applied to tomato plants to reduce the damage caused by *Clavibacter*.

Keywords: oxidizing electrolyzed water, plant pathogen, *Clavibacter michiganensis*.

INTRODUCCIÓN

Clavibacter michiganensis subsp michiganensis es una bacteria patógena que causa la enfermedad del cáncer bacteriano, una enfermedad de importancia económica, debido a que causa grandes pérdidas durante la producción del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Orzali *et al.*, 2020). Los síntomas típicos de la enfermedad son marchitamiento unilateral de las hojas, decoloración del tejido vascular y necrosis en las hojas (Sen *et al.*, 2013). En el fruto se manifiesta con la aparición de manchas negras con un halo blanco llamado ojo de pájaro (Tancos *et al.*, 2013). Para el control de este fitopatógeno se utilizan el control químico, sin embargo, algunos de estos compuestos pueden generar un efecto fitotóxico en las plantas o generan resistencia por parte del patógeno (Nandi *et al.*, 2018). Debido a esto, es necesario aplicar nuevas estrategias para un control más efectivo durante la producción. En este sentido, el agua electrolizada es una opción viable, ya que se ha informado que puede reducir las poblaciones tanto de hongos como bacterias. En particular, el agua electrolizada oxidante ha mostrado tener efecto bactericida en muchas bacterias patógenas en condiciones “*in vitro*” (Hsu & Kao, 2004; Fujiwara, 2009; Ovissipour *et al.*, 2015; Quan *et al.*, 2010; Al-Qadiri *et al.*, 2019) y hongos (Fujiwara *et al.*, 2011; Guentzel *et al.*, 2011). Su fuerte actividad antimicrobiana se debe a su alto E_{redox} , su pH bajo y a las especies de cloro presentes ($HClO$, Cl_2 y ClO^-) (Pangloli & Hung, 2011; Kim & Hung, 2012). Debido a esto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de agua electrolizada oxidante como tratamiento preventivo del cáncer bacteriano en el cultivo de tomate.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aplicación de Tratamientos en plantas de tomate

La plántula utilizada durante los experimentos fue variedad saladette, genotipo Galilea de un mes de edad. Primeramente, se realizó el trasplante en suelo y después de 15 días, se aplicaron los tratamientos que consistieron en T1: Agua electrolizada oxidante, T2: Bactericida comercial (Kasumin), T3: Plantas sin tratar. Para cada experimento se utilizaron conjuntos de 3 plantas por tratamiento y se realizaron tres repeticiones, 48h después de haber aplicado los tratamientos, las plantas fueron inoculadas por inyección en la primera hoja, con una suspensión bacteriana de *Clavibacter michiganensis subsp michiganensis* (*Cmm*) a una concentración de 10^8 UFC/mL. Los tratamientos fueron aplicados una vez por semana.



Medición de parámetros agronómicos y severidad en plantas de tomate

Se determinó la severidad de la enfermedad y se midieron las variables de diámetro de tallo (DT), número de hojas (NH), número de racimos (NR) y altura de la planta (AP). Para determinar la severidad de la enfermedad se utilizó la escala diagramática propuesta por Aires *et al.* en 2011.

Determinación de la presencia de *Cmm* en las plantas

Para observar si *Cmm* se encontraba presente en las plantas, tres semanas después de haber inoculado las plantas, se tomaron muestras de un gramo de la segunda hoja de cada una de las plantas, se realizaron diluciones seriadas, se hizo la siembra en placa utilizando medio sólido de agar nutritivo y las placas fueron incubadas a 27°C durante 48h. transcurrido el tiempo de incubación se realizó el conteo en placa y se determinaron las UFC/g de muestra.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante una prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y una Prueba de Dunn's para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a diámetro de tallo (DT), número de hojas (NH), número de racimos (NR) y altura de la planta (AP). Los resultados muestran que el mayor DT se obtuvo con T1 ($P > 0.05$). El mayor NH, NR y AP se observó al aplicar los tratamientos T1 y T2. Por otra parte, no se observaron diferencias estadísticas entre estos tratamientos ($P < 0.05$), lo que sugiere que el agua electrolizada no afecta el crecimiento de las plantas, contribuye al control del cáncer bacteriano y puede ser una alternativa al uso del bactericida Kasumin.

Tabla 1. Variables DT, NH, NR y AP en plantas de tomate tratadas

Tratamiento	DT (cm)	NH	NR	AP (m)
T1	1.49 ± 0.28 ^a	16.67 ± 3.16 ^a	7.56 ± 1.24 ^a	1.34 ± 0.26 ^a
T2	0.94 ± 0.29 ^b	16.78 ± 2.39 ^a	7.78 ± 1.64 ^a	1.25 ± 0.26 ^a
T3	0.61 ± 0.17 ^c	16.78 ± 2.11 ^a	5.67 ± 1.66 ^b	0.90 ± 0.37 ^b

Xu *et al.* (2012) evaluaron el peso fresco en plántulas infectadas con *Cmm* a humedades relativas alta y baja. Los autores comentan que independientemente de la cantidad de humedad en el ambiente, las plántulas infectadas con *Cmm* presentaron un menor peso en la raíz. Takishita *et al.* (2018) reportan un mayor peso de tallo y raíz, altura de la planta y área foliar en plantas de tomate después de 3, 5 y 7 días de la inoculación con *Cmm* y



tratadas con *Pseudomonas* sp. 23S. En el presente trabajo al evaluar las variables agronómicas (DT, NH, NR y AP), se observó un efecto similar, ya que las plantas T3 mostraron un menor diámetro de tallo, número de racimos y altura de planta. Por otra parte, cuando las plantas de tomate recibieron algún tratamiento (T1 y T2), no presentaron diferencias estadísticas significativas en el número de hojas, número de racimos y altura de la planta ($P < 0.05$), siendo así, que la aplicación de tratamientos en el cultivo favorece a controlar la enfermedad causada por *Cmm*, a un mejor crecimiento y producción de biomasa en las mismas.

En la Figura 1 se presenta la severidad causada por *Cmm* en las plantas de tomate. Se observa que la menor severidad se obtuvo con T1 (42.52%), siendo este tratamiento estadísticamente diferente con respecto a T2 (58.51%) y T3 (51.18%) ($P > 0.05$).

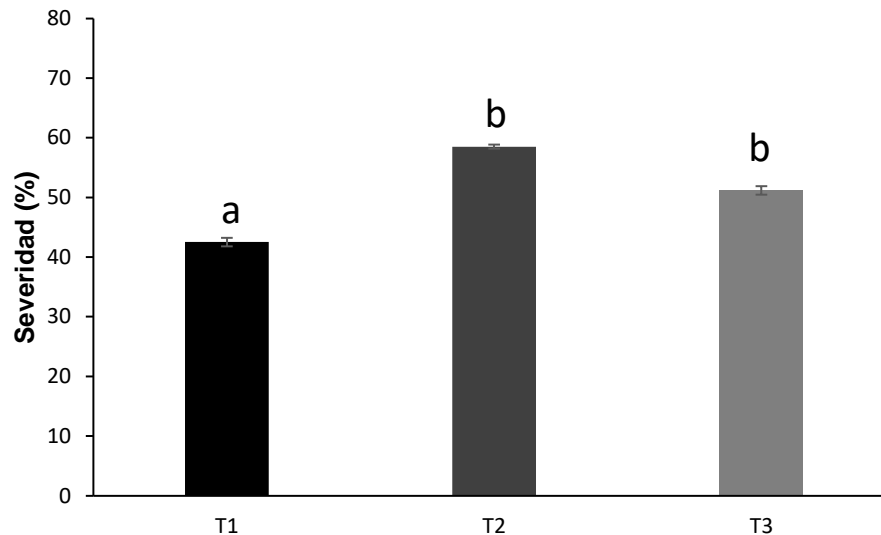


Figura 1. Porcentaje de severidad en plantas de tomate tratadas con T1: Agua electrolizada oxidante, T2: Kasumin y T3: Plantas sin tratar (testigo)

Rivera-Sosa *et al.*, (2021) reportan que los síntomas y la severidad causada por *Cmm* dependen de las características genéticas del cultivo y de la etapa fenológica en que se encuentre el mismo. En el presente trabajo, se observó que a pesar de que el genotipo utilizado era resistente a otros microorganismos patógenos y que se aplicaron tratamientos para el control del cáncer bacteriano, T3 (testigo) y T2 (Kasumin) mostraron porcentajes de severidad mayores al 50%. En este sentido, los autores antes mencionados comentan que Kasumin tiene un espectro muy reducido al ser aplicado y esto concuerda con lo observado en la presente investigación. Por otra parte, la menor severidad en las plantas se observó con T1, sugiriendo que el agua electrolizada podría ser una alternativa para ser aplicada en campo y reducir la severidad causada por *Cmm*.



Jang *et al.*, (2022) comentan que al aplicar tratamientos con extractos de *Bacillus* se logran reducir las poblaciones de *Cmm* con respecto a las plantas testigo. En el presente trabajo se observó un efecto similar al aplicar tratamiento con agua electrolizada oxidante (T1). Sin embargo, se observó un efecto contrario al aplicar T2, ya que el porcentaje de severidad en las plantas fue similar al observado en las plantas testigo, lo que sugiere que T3 ayuda a reducir de una manera más eficiente la severidad causada por *Cmm*.

Finalmente, en la Figura 2 se presentan las poblaciones bacterianas presentes en plantas de tomate reportado como Log_{10} UFC/g de muestra. En la Figura se observa que el menor número de poblaciones de *Cmm* ocurrió en aquellas plantas tratadas con agua electrolizada oxidante (T1) ($0.74 \pm 1.82 \text{ Log}_{10}$ UFC/g de muestra) ($P > 0.05$). Por otra parte, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T2 y T3 ($P < 0.05$), siendo estos tratamientos los que presentaron una mayor cantidad de bacterias, $6.17 \pm 0.25 \text{ Log}_{10}$ UFC/g de muestra y $6.92 \pm 1.55 \text{ Log}_{10}$ UFC/g de muestra, respectivamente.

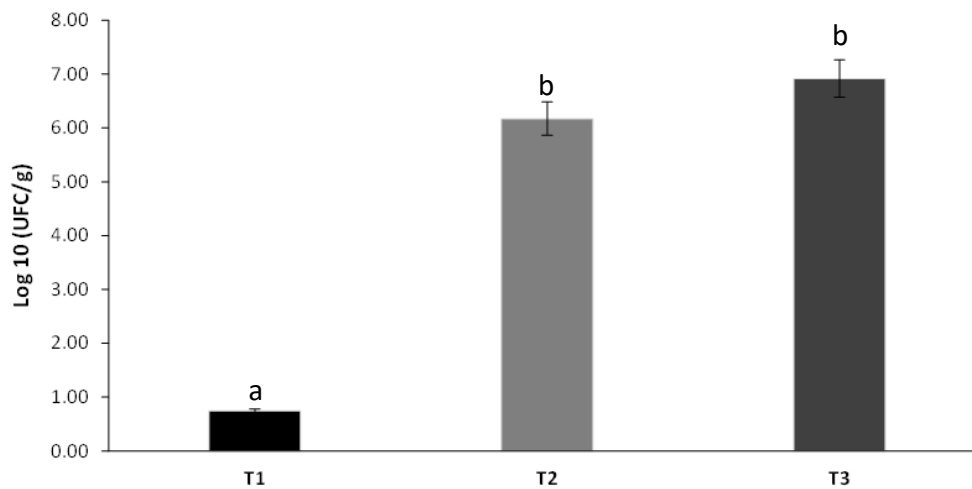


Figura 2. Poblaciones de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en plantas de tomate expresado como Log_{10} UFC/g de muestra

Tancos *et al.*, (2013) informan 9 y 10 logaritmos por gramo de muestra diez días después de la infección con diferentes cepas de *Cmm* en plantas de tomate. Jang *et al.*, (2022) informan diferentes valores de poblaciones de *Cmm* en nodos de la planta dependiendo la distancia del sitio de infección. Sus resultados muestran hasta seis logaritmos en el primer nodo de las plantas independientemente de los tratamientos aplicados y menos de cuatro logaritmos en el cuarto nodo al aplicar tratamientos con extractos de *Bacillus* y estreptomycin 20 días después de la inoculación. En el presente trabajo se encontró menos de un logaritmo al aplicar T1 y valores por arriba de seis logaritmos con T2 y T3



tres semanas después de la inoculación. Estos resultados muestran que el agua electrolizada puede reducir las poblaciones de *Cmm* en las plantas de tomate.

CONCLUSIÓN

El agua electrolizada podría ser una nueva alternativa para ser utilizada en el cultivo de tomate, ya que no afectó el crecimiento de las plantas, mostró ser efectiva para reducir las poblaciones de *Cmm* y por consecuencia, la severidad en las plantas de tomate.

LITERATURA CITADA

Al-Qadiri HM, Al-Holy MA, Shiroodi SG, Ovissipour M, Govindan BN, Al-Alami N, Rasco B. 2016. Effect of acidic electrolyzed water-induced bacterial inhibition and injury in live clam (*Venerupis philippinarum*) and mussel (*Mytilus edulis*). *International Journal of Food Microbiology*. 231:48-53. <https://doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.012>

Fujiwara K, Fujii T, Park J. 2009. Comparison of foliar spray efficacy of electrolytically ozonated water and acidic electrolyzed oxidizing water for controlling powdery mildew infection on cucumber leaves. *Ozone: Science & Engineering*. 31(1):10-14. <https://doi:10.1080/01919510802587358>

Fujiwara K, Fujii T, Park J. 2011. Successive spraying efficacy of acidic electrolyzed oxidizing water and alkalic electrolyzed reducing water on controlling powdery mildew infection and suppressing visible physiological disorder on cucumber leaves. *Horticulture, Environment and Biotechnology*. 52(4):387-392. <https://doi:10.1007/s13580-011-0174-9>

Guentzel JL, Callan MA, Liang Lam K, Emmons SA, Dunham VL. 2011. Evaluation of electrolyzed oxidizing water for phytotoxic effects and pre-harvest management of gray mold disease on strawberry plants. *Crop Protection*. 30(10):1274-1279. <https://doi:10.1016/j.cropro.2011.05.021>

Hsu S, Kao H. 2004. Effects of storage conditions on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*. 65(3):465-471. <https://doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.02.009>

Jang H, Kim ST, Sang MK. 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. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10020403>



Kim C, Hung Y. 2012. Inactivation of *E. coli* O157:H7 on blueberries by electrolyzed water, ultraviolet light, and ozone. *Journal of Food Science*. 77(4):206-211. <https://doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02595.x>

Nandi M, Macdonald J, Liu P, Weselowski B, Yuan ZC. (2018), *Clavibacter michiganensis* ssp. michiganensis: bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management. *Molecular Plant Pathology*. 19: 2036-2050. <https://doi.org/10.1111/mpp.12678>

Orzali L, Valente MT, Scala V, Loreti S, Pucci N. 2020. Antibacterial Activity of Essential Oils and *Trametes versicolor* Extract against *Clavibacter michiganensis* subsp. michiganensis and *Ralstonia solanacearum* for Seed Treatment and Development of a Rapid In Vivo Assay. *Antibiotics*. 9(9):628. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9090628>

Ovissipour M, Al-Qadiri HM, Sablani SS, Govindan BN, Al-Alami N, Rasco B. 2015. Efficacy of acidic and alkaline electrolyzed water for inactivating *Escherichia coli* O104:H4, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, and *Vibrio parahaemolyticus* in cell suspensions. *Food Control*. 53:117-123. <https://doi:10.1016/j.foodcont.2015.01.006>

Pangloli P, Hung Y. 2011. Efficacy of slightly acidic electrolyzed water in killing or Reducing *Escherichia coli* O157:H7 on iceberg lettuce and tomatoes under simulated food service operation conditions. *Journal of Food Science*. 76(6):361-366. <https://doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02219.x>

Quan Y, Choi KD, Chung D, Shin IS. (2010). Evaluation of bactericidal activity of weakly acidic electrolyzed water (WAEW) against *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*. 136(3):255–260. <https://doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.005>

Rivera-Sosa LM, Ramírez-Valverde G, Martínez-Yáñez B, Judith-Hernández A, Aranda-Ocampo S. 2022. Response of tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties to *Clavibacter michiganensis* subsp. michiganensis infection. *Revista mexicana de fitopatología*. 40(1):18-39. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-8>

Sen Y, Feng Z, Vandenbroucke H, Wolf J, Viser R, Heusden AW. 2013. Screening for new sources of resistance to *Clavibacter michiganensis* subsp. michiganensis (Cmm) in tomato. *Euphytica*. 190:309–317. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0802-1>



Takishita Y, Charron JB, Smith DL. 2018. Biocontrol Rhizobacterium *Pseudomonas* sp. 23S Induces Systemic Resistance in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Against Bacterial Canker *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Frontiers in Microbiology*. 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02119>

Tancos MA, Chalupowicz L, Barash I, Manulis-Sasson S, Smart CD. 2013. Tomato fruit and seed colonization by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* through external and internal routes. *Applied and environmental microbiology*. 79(22):6948–6957. <https://doi.org/10.1128/AEM.02495-13>

Xu X, Rajashekara G, Paul PA, Miller SA. 2012. Colonization of tomato seedlings by bioluminescent *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* under different humidity regimes. *Phytopathology*. 102(2):177–184. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-11-0090>

[Errata, Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-agroforestal/errata>