

Efecto de elicitors y nutrición en la infección de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en limón Mexicano

Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar, Gabriel Rincón-Enríquez*, Laboratorio de Fitopatología de la línea de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C., El Bajío del Arenal, C.P. 45019, Zapopan, Jalisco; **Christian Salvador Mendoza-Hernández**, Departamento de Ingeniería en Agrotecnología, Universidad Politécnica del Bicentenario, carretera libre Silao-Romita Km. 2, San Juan de los Duran, C.P. 36283, Silao de la Victoria, Guanajuato; **Laura Izascum Pérez-Valencia**, Instituto Tecnológico José Mario Molina Pasquel y Henríquez-Unidad Arandas. José Guadalupe Tejeda Vázquez S/N, col. Santa Bárbara, C.P. 47184, Arandas, Jalisco, México.

*Autor de correspondencia: grincon@ciatej.mx

Recibido: Julio 30, 2022.

Aceptado: Octubre 27, 2022.

Quiñones-Aguilar EE, Rincón-Enríquez G, Mendoza-Hernández CS y Pérez-Valencia LI. 2022. Efecto de elicitors y nutrición en la infección de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en limón Mexicano. *Revista Mexicana de Fitopatología* 40(4).

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2022-2>

Resumen. La enfermedad Huanglongbing (HLB), causada por la bacteria '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (CLAs), afecta a la industria citrícola del mundo. Una alternativa que se ha propuesto para su manejo ha sido la inducción de resistencia sistémica a través del uso de elicitors y de la nutrición. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes elicitors (biológicos, químico y de origen orgánico) con una fertilización química y orgánica en la concentración CLAs presente en árboles de limón Mexicano bajo condiciones de invernadero. Los elicitors utilizados fueron: *Bacillus subtilis* y *Funneliformis mosseae* (biológico); ácido salicílico (químico) y Plasmitox®, Virus-Stop® y Blindax® (de origen orgánico). La fertilización química se aplicó trimestralmente,

mientras que la orgánica, así como los elicitors, se aplicaron mensualmente, excepto, *F. mosseae* que se aplicó en las raíces durante el trasplante una sola vez. A los dos años se determinó la concentración de CLAs mediante qPCR. Ninguno de los elicitors evaluados redujo la concentración CLAs, sin embargo, *B. subtilis* presentó una concentración significativamente mayor al resto de los elicitors. Estos resultados podrían indicar que la nutrición química es un factor importante por evaluar y que se debe considerar cuando se aplican en conjunto con elicitors como *B. subtilis*.

Palabras clave: Inductor, Ácido salicílico, *Bacillus subtilis*, *Funneliformis mosseae*

La enfermedad Huanglongbing (HLB), cuyo agente causal es la bacteria '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (CLAs), es una de las principales enfermedades que afecta a la industria citrícola alrededor del mundo (Bové, 2006). En México, la presencia de *Diaphorina citri*, insecto vector de la bacteria, se reportó en los estados de Campeche y

Yucatán en 2002 (Halbert y Nuñez, 2004), cinco años después (2009), se detectaron síntomas de la enfermedad en Yucatán. La principal estrategia para evitar la diseminación de la enfermedad ha sido el uso intensivo de insecticidas para controlar el crecimiento poblacional y la dispersión del vector *D. citri*, la eliminación de árboles enfermos y la producción de plantas libres de HLB (Hall y Gottwald, 2011), así como, la aplicación intensiva de fertilizantes y antibióticos (Gottwald *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2011), sin embargo, en general, el uso excesivo de agroquímicos ocasiona daños al ambiente y en otros organismos (Thakur y Singh Sohal, 2013), por lo que, se han realizado diversos estudios para evaluar alternativas más eficientes para controlar enfermedades en plantas y disminuir el uso de agroquímicos.

Una de estas alternativas es la aplicación de elicitores, que son compuestos que estimulan cualquier tipo de defensa en la planta. Los elicitores pueden ser químicos, bióticos, abióticos y complejos, dependiendo de su origen y estructura molecular (Thakur y Singh Sohal, 2013). Algunos elicitores biológicos como la bacteria *Bacillus subtilis* o algunos hongos micorrízicos arbusculares (HMA), han sido utilizados para inducir resistencia sistémica en especies del género *Citrus* ante diversas enfermedades incluyendo al HLB (Graham, 1986; Chen *et al.*, 2020; Munir *et al.*, 2020; Asad *et al.*, 2021). Dentro de los elicitores abióticos (químicos) utilizados, el ácido salicílico ha mostrado buenos resultados reduciendo la concentración de CLas y del progreso del HLB en algunas especies de cítricos (Olivera-Coqueiro *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2018; Trinidad *et al.*, 2019). Resulta importante destacar que la condición nutricional de los árboles es un factor relevante que puede influir en la tolerancia hacia una enfermedad. Al respecto, Shen *et al.* (2013) destacan que la fertilización en combinación con ácido salicílico fue eficiente en la reducción de

la concentración de CLas y mitigó los síntomas de la enfermedad en árboles de *C. sinensis*.

Particularmente, los estudios sobre inductores de resistencia sistémica en *Citrus aurantifolia*, son escasos, por lo que es necesario, no solo la evaluación de inductores ya conocidos, sino la búsqueda de más compuestos o sustancias que induzcan resistencia sistémica, como serían los productos comerciales de origen orgánico. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de los inductores de resistencia sistémica (biológico, químico y de origen orgánico) en combinación con una fertilización química, sobre la concentración de CLas en árboles de *C. aurantifolia* en condiciones de invernadero.

Se utilizaron árboles certificados (Sanidad Vegetal-SENASICA) de limón Mexicano (*Citrus aurantifolia*) injertados sobre *C. macrophylla* de 18 meses provenientes de Tecomán, Colima. Los árboles de limón Mexicano (Lm), fueron inoculados con *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) vía injerto de yema utilizando varetas de árboles sintomáticos con HLB provenientes de huertos de Tecomán, Colima de acuerdo con lo propuesto por Coletta-Filho *et al.* (2010). El injerto se hizo ocho meses previo al trasplante a macetas de 20 L (16 kg de sustrato). Los árboles se regaron a capacidad de campo una vez por semana. Posteriormente fueron trasplantados en sustrato a base de suelo: arena: agrolita: turba (Sunshine Mix® No. 3) (50: 30: 10: 10, V/V/V/V) esterilizado (120 °C, 1.05 kg cm⁻², 6 h). El experimento se colocó en condiciones de invernadero en las instalaciones de la Unidad Zapotlan de CIATEJ en Jalisco. Los microorganismos *Funneliformis mosseae* y *Bacillus subtilis* se obtuvieron del cepario del laboratorio de Fitopatología del CIATEJ, mientras que el ácido salicílico se adquirió de Sigma-Aldrich (cat. 105910) y los productos de origen orgánico, Plasmix®, Blindax® y Virus-Stop® a través de un proveedor comercial

de la empresa Fagro® (fagro.com.mx). Para la fertilización química se aplicó triple 16 (16-16-16% de N-P-K) y urea (46% N) (Agrícola DASAM, México, <http://agricoladasam.com.mx/>), mientras para la fertilización orgánica se utilizó la lombri-composta líquida Biojal® (<https://hidroflora.mx/producto/03OR-HUMUS20LTS>) (Cuadro 1).

Se empleó un diseño completamente al azar con 10 tratamientos y cinco repeticiones de acuerdo con el Cuadro 1. La unidad experimental fue una maceta con un árbol de Lm. El tratamiento con el hongo micorrízico arbuscular (HMA) *F. mosseae* se aplicó en las raíces una sola vez durante el trasplante. El resto de los tratamientos con elicitores, así como la fertilización química y orgánica comenzaron a aplicarse 30 días después del trasplante. Los elicitores y la fertilización orgánica se aplicaron mensualmente mientras que la fertilización química trimestralmente (cuatro veces al año). Los tratamientos que recibieron agentes de control químico se aplicaron a la filosfera mediante aspersión de acuerdo con las concentraciones y volúmenes indicados en el Cuadro 1. La variable de respuesta que se analizó fue la concentración bacteriana de CLas mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa del ADN en tiempo real (qPCR).

El qPCR se realizó dos años después de la primera aplicación de los elicitores, ya que, Coletta-Filho *et al.* (2010) reportan que las concentraciones de CLas no se detectan antes de este tiempo en árboles adultos. La edad de las plantas fue de 4 años 2 meses al momento de la toma de muestras.

Para la extracción de ADN de cada unidad experimental, se muestreó la quinta hoja descendente del ápice de cuatro ramas ubicadas en los puntos cardinales de aproximadamente 4-5 meses de edad. Estas hojas se congelaron a -80 °C, liofilizaron (72 h; TFD5503 IIShinBioBase, Korea), molieron (60 s, 25 Hz, MM400 Retsch, Alemania) y almacenaron a temperatura ambiente hasta su uso para la extracción de ADN. Mediante el protocolo de CTAB al 3% propuesto por Zhang *et al.* (1998). La concentración y la pureza del ADN se determinó a 260 y 280 nm (Nano-Drop ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer; NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA).

Para determinar el título de CLas se realizó un análisis por (StepOne Applied Biosystems, USA) siguiendo lo descrito por Li y Levy (2006). Los valores de Ct fueron convertidos en concentración de células de CLas mediante una curva estándar descrita previamente por Lin *et al.* (2010) y usando

Cuadro 1. Tratamientos para determinar el efecto de elicitores y nutrientes para el manejo de CLas en plantas de limón Mexicano en invernadero.

Tratamiento (T)			Condiciones de la aplicación		
Tipo de agente	(T) Agente de control	CLas	Concentración	Total / árbol	Periodicidad
Biológico	(1) <i>Funneliformis mosseae</i> + FQ	(+)	5 esporas g ⁻¹ sustrato	500 esporas	Inicio experimento
	(2) <i>Bacillus subtilis</i> + FQ	(+)	2.5x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	100 mL	Mensual
Químico	(3) Ácido salicílico + FQ	(+)	500 µg L ⁻¹	50 mL	Mensual
	(4) Plasmix® + FQ	(+)	12 mL L ⁻¹	62.5 mL	Mensual
Orgánico	(5) Blindax® + FQ	(+)	1.5 mL L ⁻¹	62.5 mL	Mensual
	(6) Virus-Stop® + FQ	(+)	2.5 mL L ⁻¹	72.5 mL	Mensual
Nutrición vegetal	(7, 8) Fertilización química (FQ)	(+) (-)	Triple 17 + urea (46 % N)	37.5-4.5-4.5 g	Trimestral
	(9, 10) Fertilización orgánica	(+) (-)	Lombricomposta líquida	100 mL	Mensual

el Software 7500 System SDS versión 2.0.5. Los datos de la concentración bacteriana fueron tratados mediante un análisis de varianza de una vía y comparación múltiple de medias LSD, ambos a un nivel de significancia del 5 % ($p \leq 0.05$). Los datos fueron transformados con raíz cuadrada (\sqrt{x}) con el fin de alcanzar la normalidad y homocedasticidad. Estos análisis fueron realizados con el programa estadístico Statgraphics® Centurion XV versión 15.2.06 (StatPoint, 2005).

Los resultados indicaron que el tratamiento biológico con *Bacillus subtilis* presentó la mayor concentración de CLas (73,494.2 células/100 ng ADN) (Figura 1) y fue diferente estadísticamente al resto de los tratamientos con elicitores ($p \leq 0.05$). Este resultado difiere de otros estudios en los que se ha observado que las especies del género *Bacillus* actúan como inductores de resistencia sistémica ante patógenos presentes en especies de cítricos (Chen *et al.* 2020). Recientemente Adsad *et al.* (2021)

reportaron que, 60 días después de la aplicación, la cepa *B. subtilis* L1-21 en combinación con la solución Hoagland al 50%, redujo considerablemente la concentración de CLas en árboles de *C. lemon* asintomáticos, mientras que, en árboles sintomáticos, la cepa sin solución Hoagland tuvo mejores resultados, lo que sugiere que, el estado de avance de la enfermedad influye en la función elicitora de *B. subtilis*. En el presente estudio, los árboles de Lm, con el tratamiento de *B. subtilis* y fertilización química, no disminuyó la concentración de CLas en comparación con los otros tratamientos, lo que puede indicar que, no solo el estado de avance de la enfermedad, sino el tipo de cepa y fertilización influye en la capacidad de *B. subtilis* para inducir resistencia sistémica.

La concentración de CLas en el tratamiento biológico con *F. mosseae* (32,987.2 células/100 ng ADN) (Figura 1) mostró diferencias significativas con todos los tratamientos ($p \leq 0.05$) excepto con

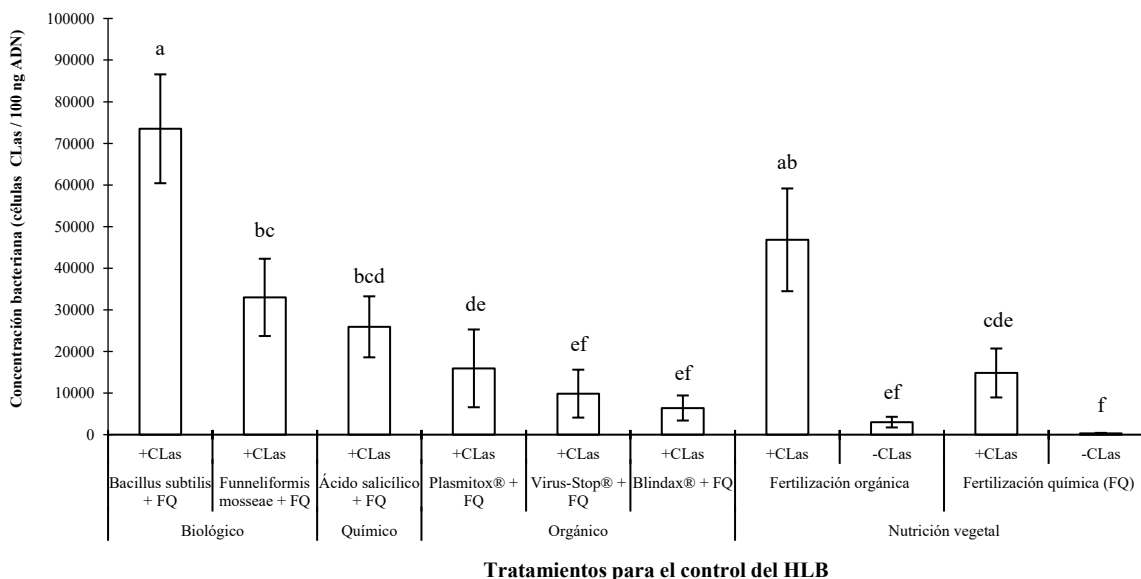


Figura 1. Efecto de la aplicación de distintos elicitores (biológico, químico, de origen orgánico) y nutrición vegetal en la concentración de CLas en plantas de limón Mexicano en condiciones de invernadero después de 2 años 8 meses de la infección. Las barras representan \pm el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba estadística LSD ($p \leq 0.05$).

el tratamiento de ácido salicílico. Los HMA como *F. mosseae*, son microorganismos benéficos que no solo son estudiados para ayudar a las plantas a obtener nutrientes y agua, sino por incrementar la resistencia de las plantas ante enfermedades y organismos patógenos (Ortas, 2012). En especies de importancia económica como el tomate, se ha estudiado su capacidad para inducir resistencia local y sistémica ante patógenos como *Phytophthora parasitica*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* y *Alternaria solani* (Pozo *et al.*, 2002, HoNg-Duc y Posta, 2018; Song *et al.*, 2015), sin embargo, dentro del género *Citrus* ha sido poco estudiada (Graham, 1986; Sikora, 1992; Calvet *et al.*, 1995; y Michelini *et al.*, 1993, mencionados en Ortas, 2012), por lo que, los resultados encontrados en este estudio podrían ser distintos dado que se trata de especies vegetales con ciclos de vida diferentes, el tomate es anual mientras que el Lm es una planta perene, lo cual podría influir en el efecto elicitor del HMA sobre el sistema de defensa del árbol de limón, sin embargo se requieren mayores estudios para confirmar esta posible hipótesis.

La concentración de CLas con ácido salicílico (25,910.7 células/100 ng ADN) (Figura 1) fue significativamente mayor a los tratamientos VirusStop y Blindax ($p \leq 0.05$) y no tuvo diferencias respecto al tratamiento con fertilización química (control). En este sentido, otros autores han reportado que, si bien el ácido salicílico promueve la resistencia sistémica en especies de cítricos, existen elicitores biológicos como *Azospirillum brasilense* Cd o algunos antibióticos que son inductores de resistencia más eficientes (Hu *et al.*, 2018; Trinidad *et al.*, 2019). En contra parte, Olivera-Coqueiro *et al.* (2015) señalan que el tratamiento con ácido salicílico aplicado a árboles de *C. sinensis* activó genes (1,425 genes) involucrados con los procesos metabólicos asociados con resistencia sistémica que los activados por quitosano (640 genes).

Las concentraciones de CLas en los tratamientos de origen orgánico Plasmitox® (insecticida), Virus-Stop® (antiviral) y Blindax® (fungicida) (15,931.5; 9,856.95 y 6,410.26 células/100 ng ADN respectivamente) fueron significativamente diferentes respecto a los tratamientos biológicos *B. subtilis* y *F. mosseae* ($p \leq 0.05$), pero no mostraron diferencia entre ellos, ni con los tratamientos de fertilización química y orgánica sin CLas (Figura 1), lo que sugiere que la nutrición química impacta en la disminución de las concentraciones de CLas. Una posibilidad para comprender este resultado es que la activación del sistema por elicitores de tipo insecticida, viral o fúngico puedan estar interfiriendo con la colonización de CLas en el floema de los árboles de limón, sin embargo, para corroborar esta explicación es necesario una investigación más detallada sobre los procesos de inducción de resistencia sistémica que supuestamente tienen estos productos.

Por último, la concentración de CLas en la fertilización química con y sin CLas fueron significativamente menores que en la fertilización orgánica con CLas (14,826.1 y 4,6812.9 células/100 ng ADN respectivamente) ($p \leq 0.05$); esto indica el potencial efecto benéfico de la fertilización química dado que la aparición del HLB fue tardía. Existe controversia sobre el potencial de la nutrición para reducir los efectos del HLB. Algunos autores mencionan que diferentes tipos de programas de nutrición mejorados en *C. sinensis*, no han disminuido los síntomas de la enfermedad ni la concentración de CLas (Gottwald *et al.*, 2012; Bassanezi *et al.*, 2021), mientras que otros han demostrado, en la misma especie y en *C. reticulata*, que la nutrición química, reduce los síntomas de la enfermedad (Pustika *et al.*, 2008; Shen *et al.*, 2013). Los resultados de este trabajo son similares a estos últimos autores, ya que, se observa que la fertilización química por si sola presenta una concentración de CLas significativamente

menor comparada con la fertilización orgánica con CLas e incluso respecto al tratamiento biológico con *B. subtilis*. Cabe mencionar que se detectó CLas tanto en los tratamientos con fertilización orgánica como química y “sin CLas”, esto indica que a pesar del cuidado que se tuvo con los árboles de Lm, hubo contaminación probablemente por la presencia del vector (*D. citri*), lo cual evidencia la problemática de esta enfermedad a nivel de campo e incluso a nivel de condiciones controladas como lo es en invernadero, esto evidencia el nivel de bioseguridad que debe generarse en la producción de cítricos bajo invernadero.

En conclusión, el tratamiento biológico con *B. subtilis* mostró ser el menos eficiente en la reducción de concentración de CLas en Lm. El resto de los tratamientos presentaron menores concentraciones de CLas en comparación con *B. subtilis*, sin embargo, ninguno de estos fue diferente del tratamiento con fertilización química. Se recomienda evaluar a profundidad la capacidad para inducir resistencia sistémica sin este tipo de fertilización. El tratamiento con fertilización química (sin elicitor y +CLas) mostró reducir la concentración de CLas en árboles de Lm bajo condiciones de invernadero.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al proyecto 2012-03-193066 de Fondo Mixto de Fomento Científico y Tecnológico CONACYT-Gobierno del estado de Michoacán.

LITERATURA CITADA

- Asad S, He P, He P, Li Y, Wu Y, Ahmed A, Wang Y, Munir S and He Y. 2021. Interactions between indigenous endophyte *Bacillus subtilis* 11-21 and nutrients inside citrus in reducing Huanglongbing pathogen *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Pathogens* 10 (10): 1–14. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101304>
- Bassanezi RB, Primiano IV and Vescove HV. 2021. Effect of enhanced nutritional programs and exogenous auxin spraying on Huanglongbing severity, fruit drop, yield and economic profitability of orange orchards. *Crop Protection* 145: 105609 <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105609>
- Bove JM. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathology* 88: 7–37.
- Calvet C, Pinochet J, Camprubi A and Fernandez C. 1995. Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated ba-29 quince rootstock. *Mycorrhiza* 5(4): 253–258. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00204958>
- Chen K, Tian Z, He H, Long C and Jiang F. 2020. *Bacillus* species as potential biocontrol agents against citrus diseases. *Biological Control* 151: 104419. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104419>
- Coletta-Filho HD, Carlos EF, Alves KCS, Pereira MAR, Boscariol-Camargo RL, de Souza AA and Machado MA. 2010. In planta multiplication and graft transmission of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ revealed by Real-Time PCR. *European Journal of Plant Pathology* 126:53–60. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-009-9523-2>
- Gottwald TR, Graham JH, Irey MS, McCollum TG and Wood BW. 2012. Inconsequential effect of nutritional treatments on Huanglongbing control, fruit quality, bacterial titer and disease progress. *Crop Protection* 36: 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.01.004>
- Graham JH, 1986. Citrus mycorrhizae - potential benefits and interactions with pathogens. *Hortscience* 21(6): 1302–1306.
- Halbert SE and Núñez CA. 2004. Distribution of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchoeta: Psyllidae) in the Caribbean Basin. *Florida Entomologist* 87(3): 401–402. [http://dx.doi.org/10.1564/22aug11](http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0401:DOTACP]2.0.CHall DG and Gottwald TR. 2011. Pest management practices aimed at curtailing citrus Huanglongbing disease. <i>Outlooks on Pest Management</i> 22: 189–192. <a href=)
- HoNg Duc, NN and Posta K. 2018. Mycorrhiza-induced alleviation of plant disease caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and role of ethylene in mycorrhiza-induced resistance in tomato. *Acta Biologica Hungarica* 69(2):170–181. <https://doi.org/10.1556/018.69.2018.2.6>
- Hu J, Jiang J and Wang N. 2018. Control of citrus Huanglongbing via trunk injection of plant defense activators and antibiotics. *Phytopathology* 108(2): 186–195. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-17-0175-R>
- Li W, Hartung J and Levy L. 2006. Quantitative real-time PCR for detection and identification of *Candidatus Liberibacter* species associated with citrus Huanglongbing. *Journal of Microbiological Methods* 66: 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.10.018>
- Lin H, Chen C, Doddapaneni H, Duan Y, Civerolo EL, Bai X and Zhao X. 2010. A new diagnostic system for ultrasensitive and specific detection and quantification of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the bacterium associated with citrus Huanglongbing. *Journal of Microbiological Methods* 81:17–25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2010.01.014>
- Michelini S, Nemeč S and Chinnery LE. 1993. Relationships between environmental-factors and levels of mycorrhizal infection of citrus on 4 islands in the eastern Caribbean.

- Tropical Agriculture 70(2): 135–140.
- Munir S, Li Y, He P, He P, Ahmed A, Wu Y and He Y. 2020. Unraveling the metabolite signature of citrus showing defense response towards *Candidatus Liberibacter asiaticus* after application of endophyte *Bacillus subtilis* L1-21. Microbiological Research 234: 126425. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126425>
- Olivera-Coqueiro DSO, de Souza AA, Takita MA, Rodrigues CM, Kishi LT and Machado MA. 2015. Transcriptional profile of sweet orange in response to chitosan and salicylic acid. BMC Genomics 16(1): 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1440-5>
- Ortas I. 2012. Mycorrhiza in citrus: growth and nutrition. Pp 1–35: *In*: Srivastava AK (ed.). Advances in Citrus Nutrition. The Netherlands: Springer Verlag https://doi.org/10.1007/978-94-007-4171-3_23.
- Pozo MJ, Cordier C, Dumas-Gaudot E, Gianinazzi S, Barea JM and Azcón-Aguilar C. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. Journal of Experimental Botany 53(368): 525–534. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.368.525>
- Pustika AB, Subandiyah S, Holford P, Beattie GAC, Iwanami T and Masaoka Y. 2008. Interactions between plant nutrition and symptom expression in mandarin trees infected with the disease huanglongbing. Australasian Plant Disease Notes 3(1): 112–115. <https://doi.org/10.1007/bf03211261>
- Shen W, Cevallos-Cevallos JM, Nunes da Rocha U, Arevalo HA, Stansly PA, Roberts PD and van Bruggen AHC. 2013. Relation between plant nutrition, hormones, insecticide applications, bacterial endophytes, and *Candidatus Liberibacter Ct* values in citrus trees infected with Huanglongbing. European Journal of Plant Pathology 137(4): 727–742. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0283-7>
- Sikora RA. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological-control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 30: 245–270. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.001333>
- Song Y, Chen D, Lu K, Sun Z and Zeng R. 2015. Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. Frontiers in Plant Science 6: 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00786>
- StatPoint, Inc. StatGraphics Centurion XV version 15.02.06, 2005. Warrenton, Virginia, USA. www.statgraphics.com
- Thakur M and Sohal BS. 2013. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. ISRN Biochemistry 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/762412>
- Trinidad-Cruz JR, Rincón-Enríquez G, Quiñones-Aguilar EE, Arce-Leal AP y Leyva-López NE. 2019. Inductores de resistencia vegetal en el control de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en árboles de limón (*Citrus aurantifolia*) mexicano. Revista Mexicana de Fitopatología 37(2): 304–317. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1901-1>
- Zhang Y, Uyemoto J and Kirkpatrick B. 1998. A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. Journal of Virological Methods 71: 45–50. [http://dx.doi.org/10.1016/s0166-0934\(97\)00190-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0166-0934(97)00190-0)