



**Centro de Investigación en
Alimentación y Desarrollo A.C.**



XXIX Simposium Internacional del Manzano y Frutales de Clima Templado

**Monitoreo de poblaciones de *Erwinia amylovora* y el
uso de bacterias benéficas para su control**

**M.C. América Jocelyn Pérez Alvarez
M.C. Daniel Alejandro de la Peña Baca**

Cd. Cuauhtémoc, Chih. Octubre de 2023



Aspectos generales

Tizón de fuego/Mancha de fuego

- ✓ Presencia en 50 países
- ✓ Fisiopatología compleja
- ✓ Evolutivamente rápida



Agente causal: *Erwinia amylovora* (Burrill 1882)



- ✓ Hemibiotrófico
- ✓ RT 4 - 30 °C (27.5 °C)
- ✓ Producción de EPS's
- ✓ Resistente a antibióticos
- ✓ Mecanismos de adaptación

Manejo en el Huerto

Modelos de predicción

- ✓ Disponibilidad de inóculo
- ✓ Características del árbol
- ✓ Condiciones climáticas



Control químico

- ✓ Antibióticos: Estreptomycin, Oxitetraciclina, Gentamicina, Kanamicina y Kasugamicina



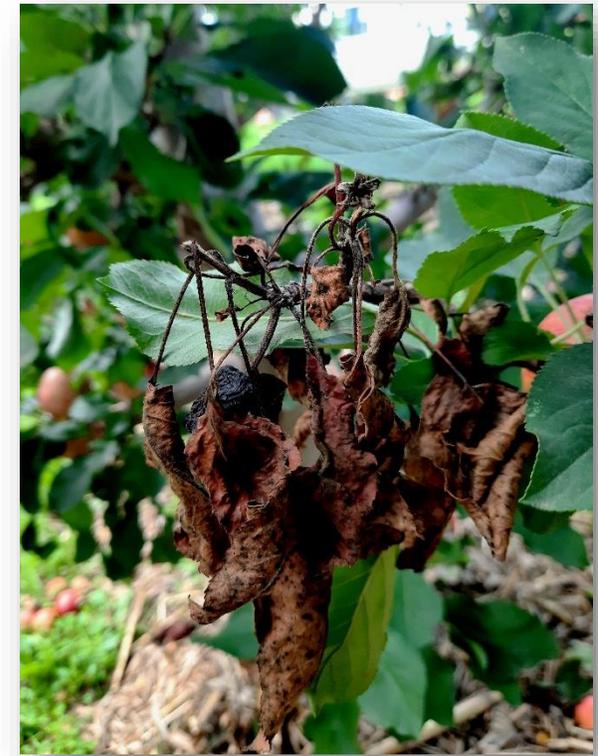
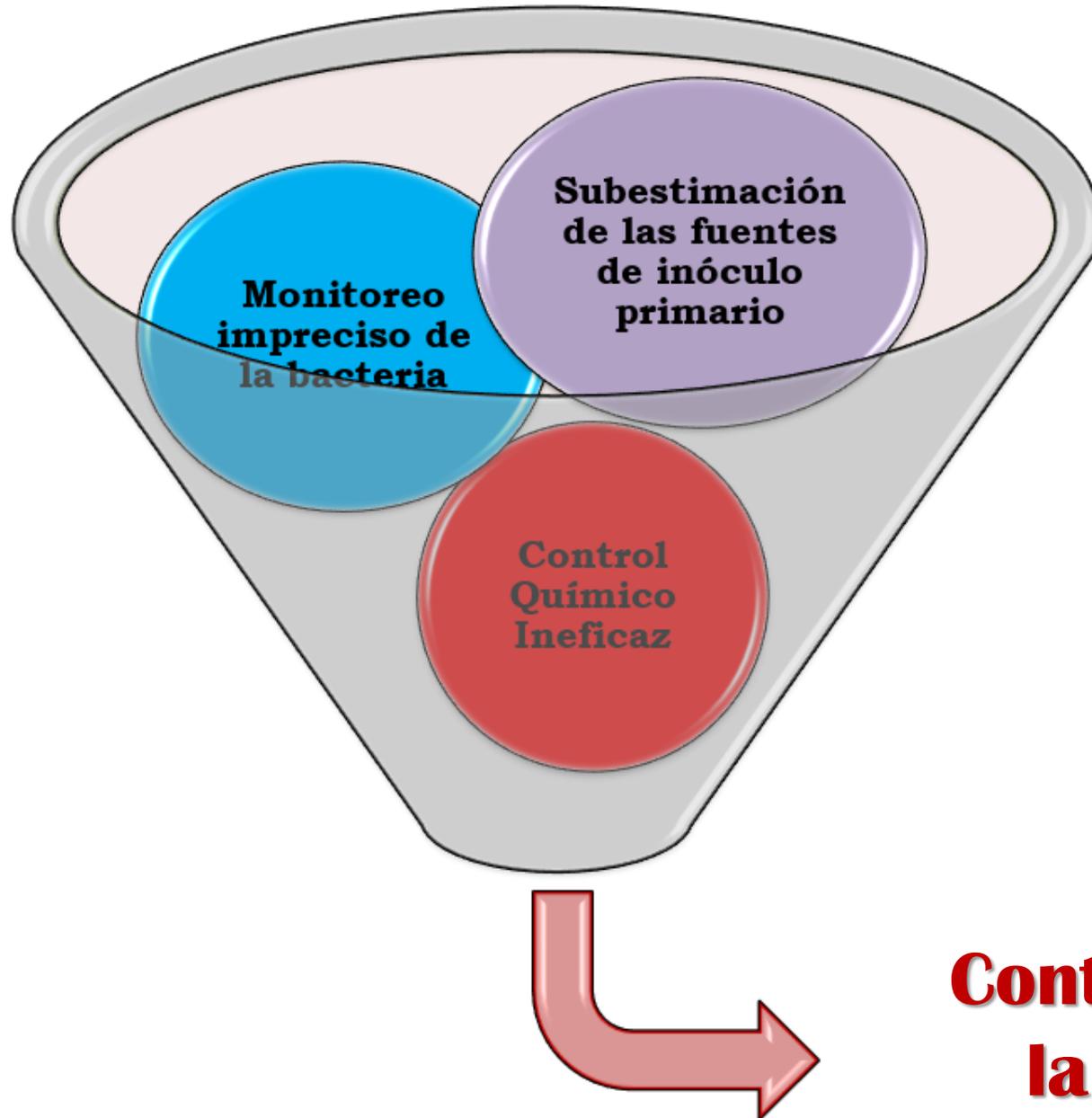
Poda sanitaria





¿Cuál es el problema?

¿Cuál es el problema?



Control poco efectivo de la mancha de fuego

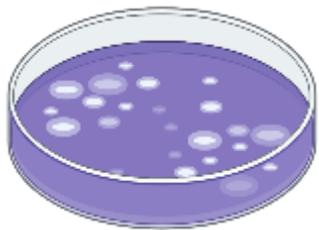


Fuentes de inóculo

Detección y cuantificación (Actual)

Recolección de muestras

- ✓ Impresión de estigmas florales



Cultivabilidad en medios selectivos



Medio CCT



Evaluación de riesgo
y toma de decisión

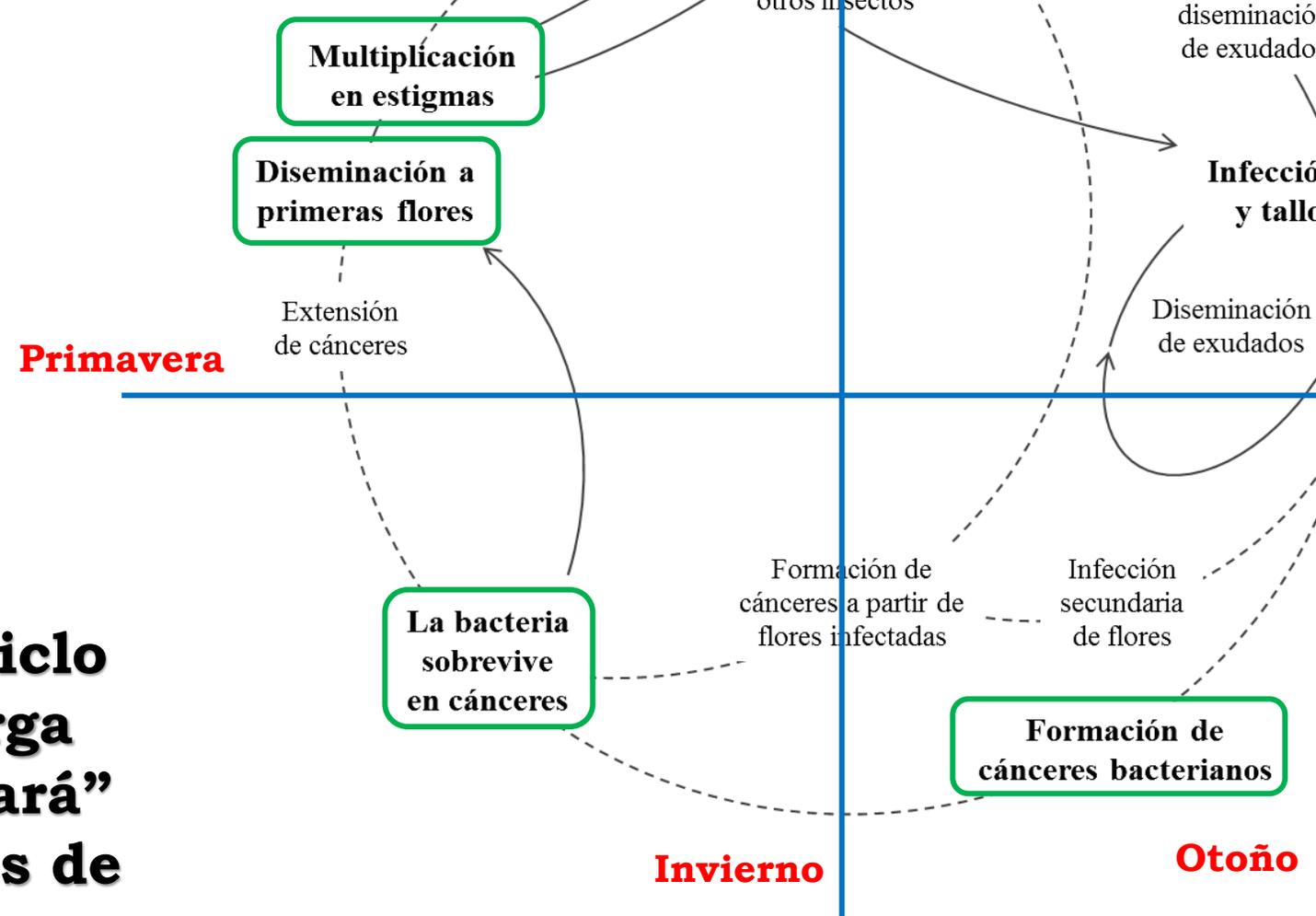
Detección y cuantificación (Propuesta)



Fuente de Inóculo Primario	Concentración de <i>E. amylovora</i>
Flores abiertas	1 - 10 ⁴ UFC/flor
Cánceres y exudados	10 ³ - 10 ⁶ UFC/g
Frutos momificados	10 - 10 ⁵ UFC/g
Suelo	1 - 10 ⁵ UFC/g
Brotes marchitos	10 - 10 ⁴ UFC/g
Malezas y arvenses	1 - 10 ³ UFC/flor
Presas para riego	1 - 100 UFC/L

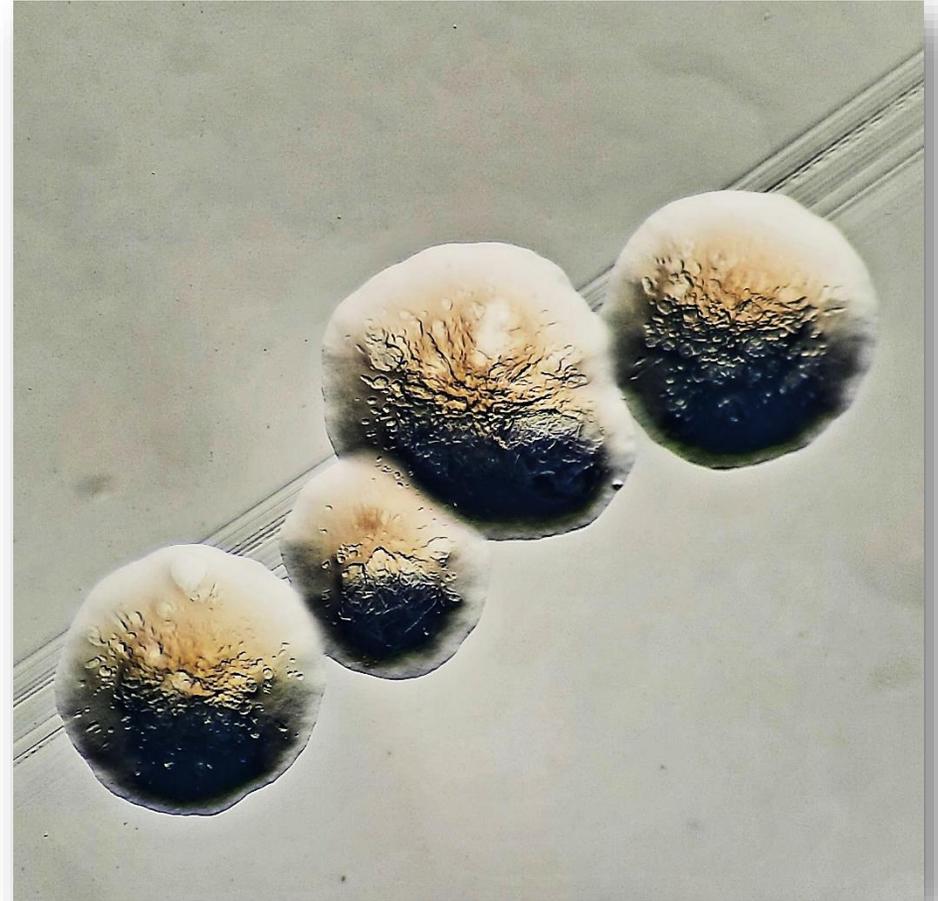
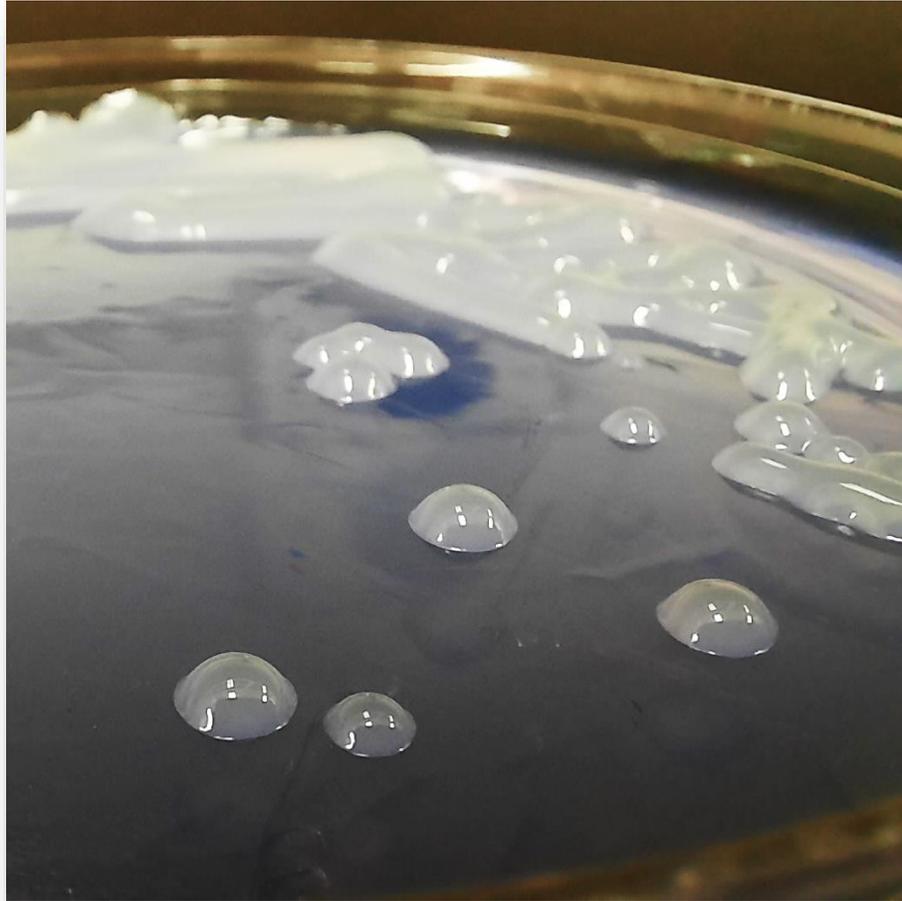


Muestrear al final del ciclo permite estimar la carga bacteriana que “hibernará” en las diferentes fuentes de inóculo

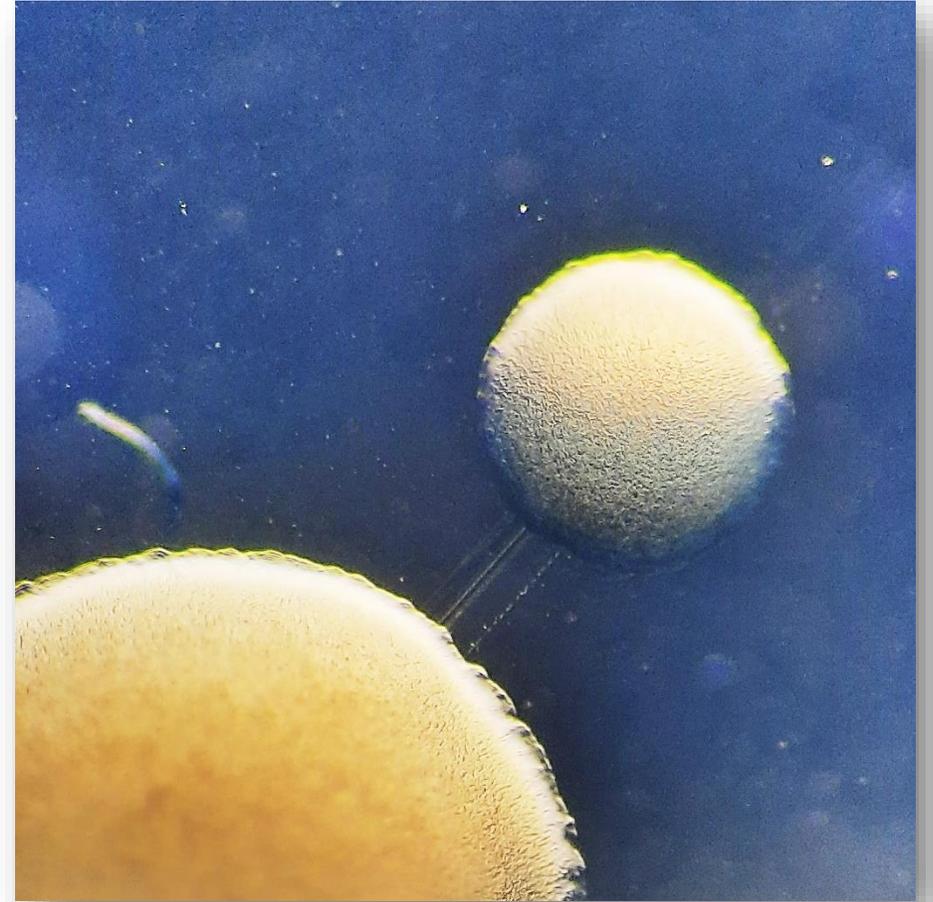




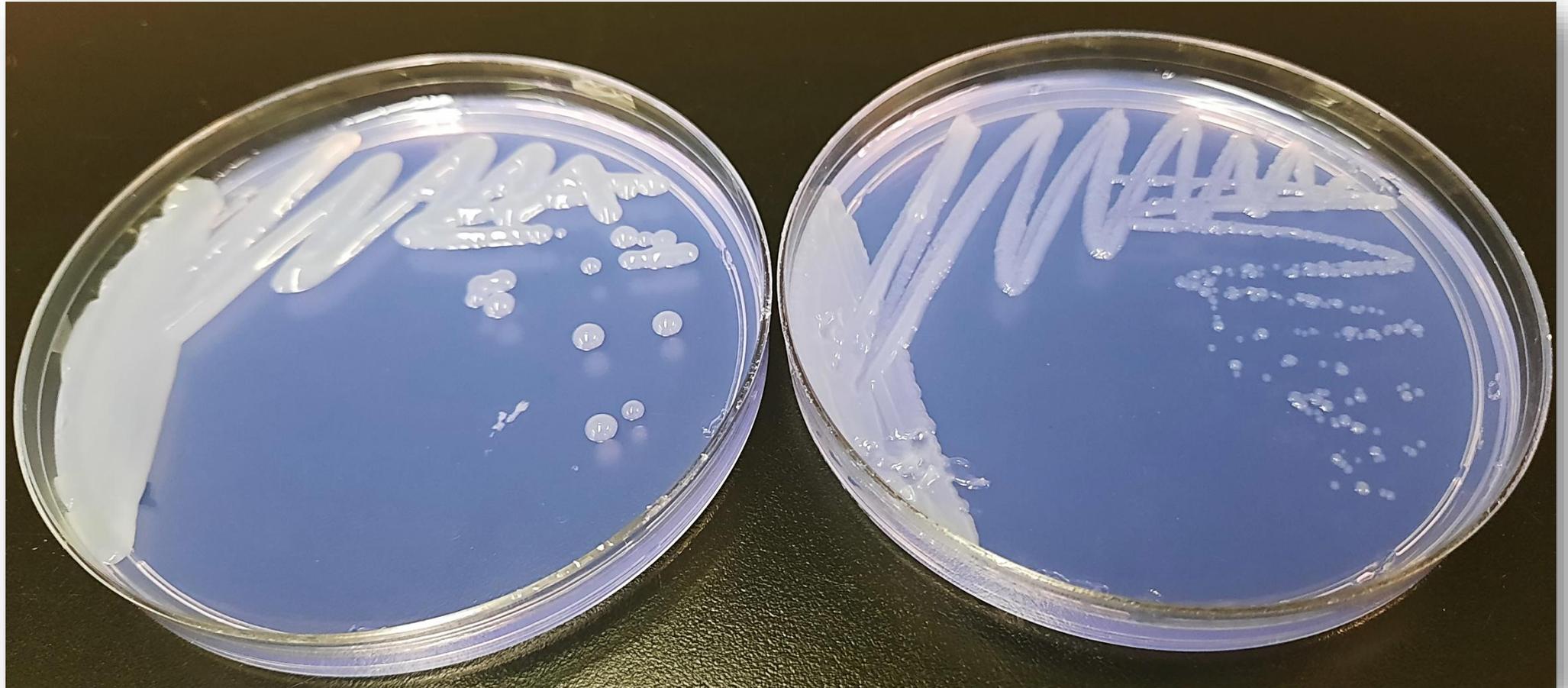
Monitorio



Colonias de *Erwinia amylovora* en agar CCT



Presuntas colonias de *Erwinia amylovora*



Comparación entre ambos aislados



Positivo (+)

- ✓ Crecimiento entre las 36 y 72 h
- ✓ Colonias definidas y de color perla incluso entre las 72 y 96 h
- ✓ Colonias definidas en agar nutritivo



Negativo (-)

- ✓ Crecimiento entre las 24 y 48 h
- ✓ Colonias mucoides/líquidas después de las 96 h
- ✓ Colonias difusas, planas y amarillentas en agar nutritivo



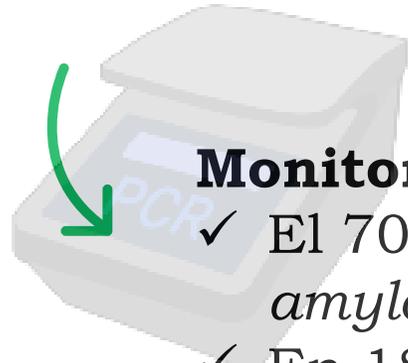
Positivo (+)

Positivo (+)

Negativo (-)

Aislados sobre agar rojo congo adicionado con sacarosa y sorbitol

Confirmación Mediante PCR



Monitoreo de aislados negativos

- ✓ El 70 % de las muestras analizadas contienen una mezcla de *E. amylovora* y bacterias similares no objetivo
- ✓ En 18 % de las muestras analizadas, las bacterias similares no objetivo fueron más abundantes que *E. amylovora*



Identificación genética

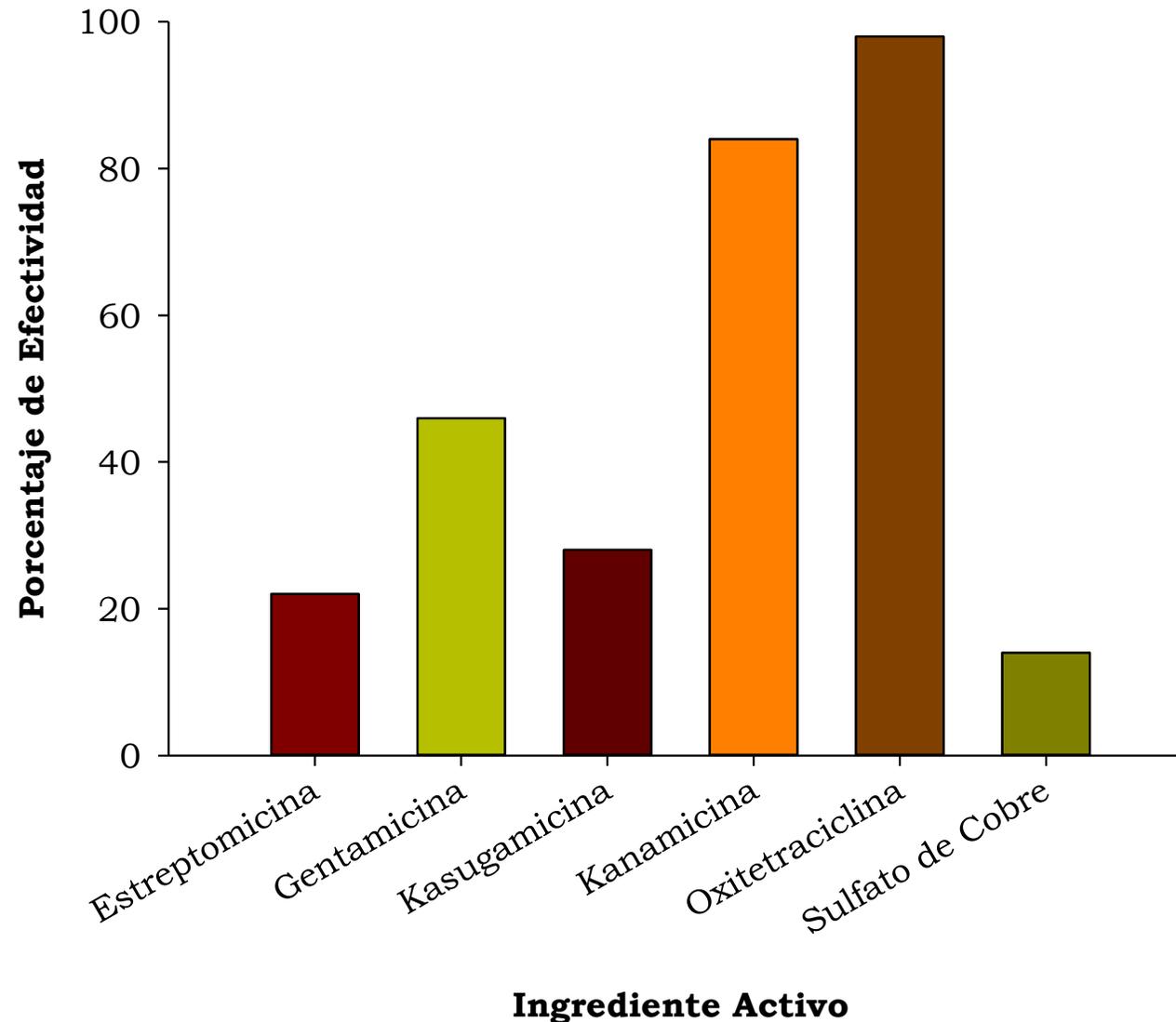
- ✓ La secuenciación genética de los aislados indica que se tratan de diferentes especies del género *Pseudomonas*, todas ellas sin reporte en huertos de frutales





Control químico

Efectividad del control químico frente a la mancha de fuego



- ✓ El estudio se realizó utilizando la dosis indicada en el huerto
- ✓ Se evaluaron 68 cepas nativas
- ✓ Los aislados provienen de Cuauhtémoc, Anáhuac, Álvaro Obregón, Guerrero y Namiquipa



Trabajos actuales

Fase no cultivable de la mancha de fuego

- ✓ Se trata de una adaptación frente al estrés ambiental y químico
- ✓ Se mantiene viva y patogénica pero no puede cultivarse en laboratorio
- ✓ Elude el monitoreo tradicional de la bacteria y es muy resistente

**¿Cuál es el peligro real en el huerto?
¿Cómo monitorearla de forma eficiente?**



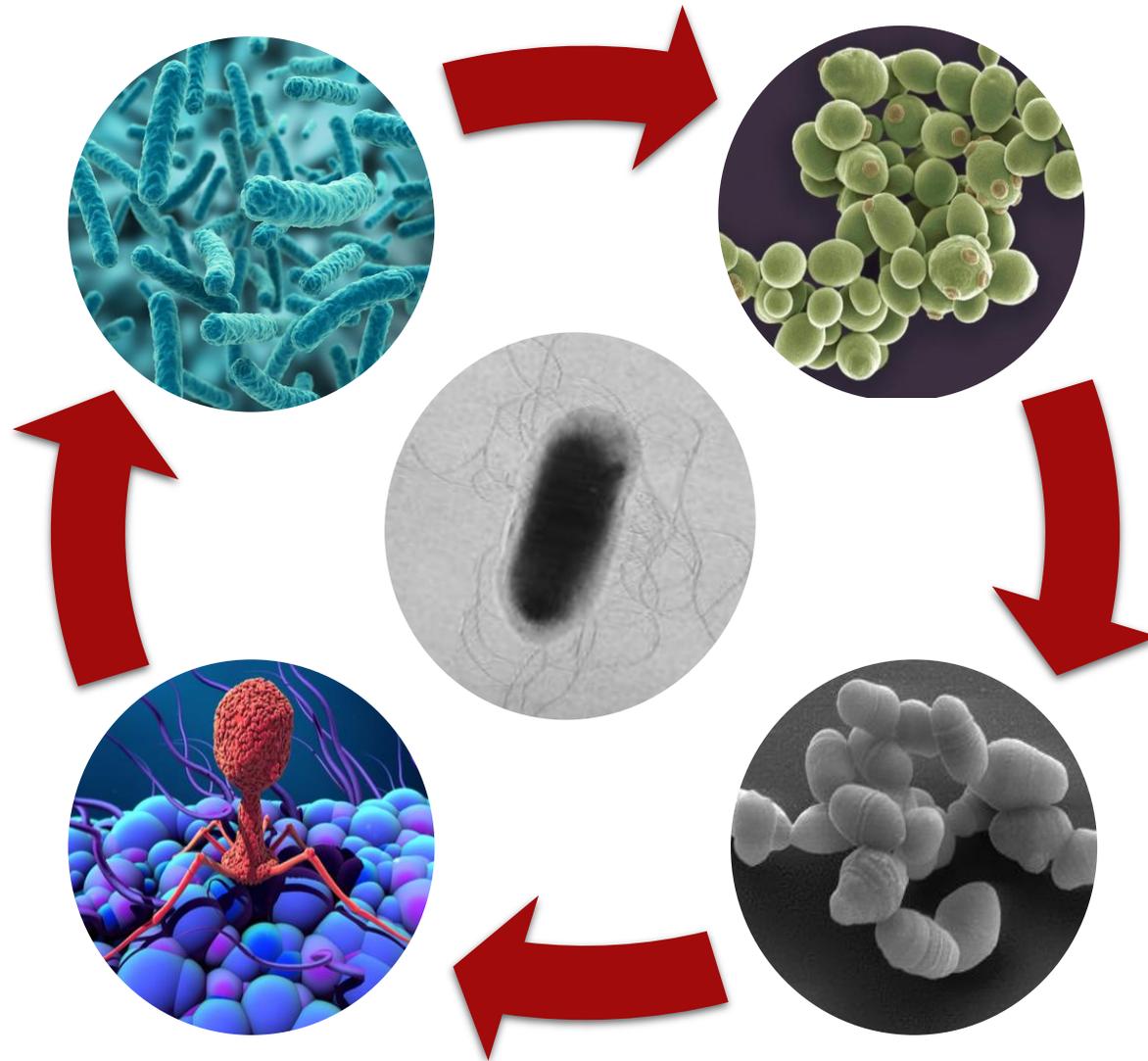
Control biológico de la mancha de fuego

- ✓ Esquema de control efectivo, eficiente y adaptable

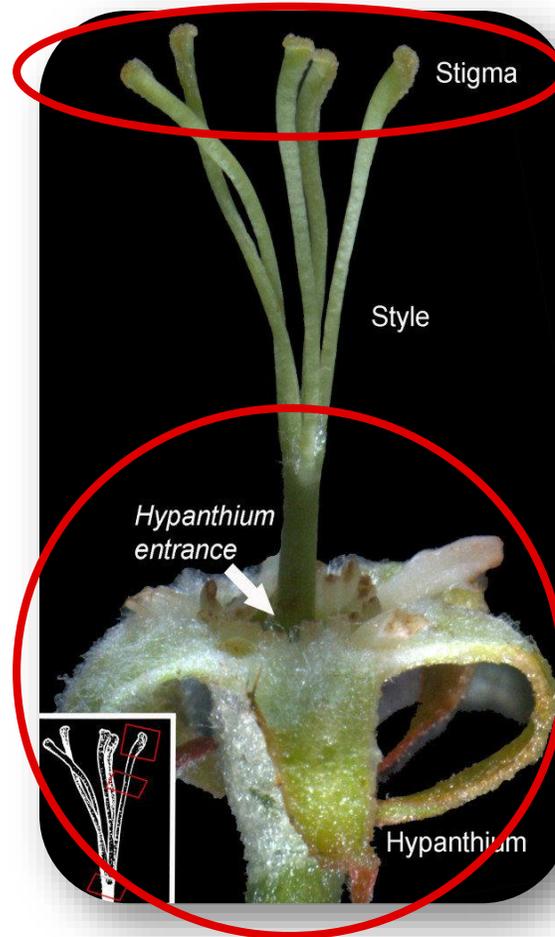


Control biológico del tizón de fuego

Bacterias antagonistas a *E. amylovora*



Bacterias antagonistas a *E. amylovora*. Género *Pantoea*



- ✓ *P. agglomerans*
- ✓ *P. vagans*



Productos comerciales a base de bacterias antagonistas

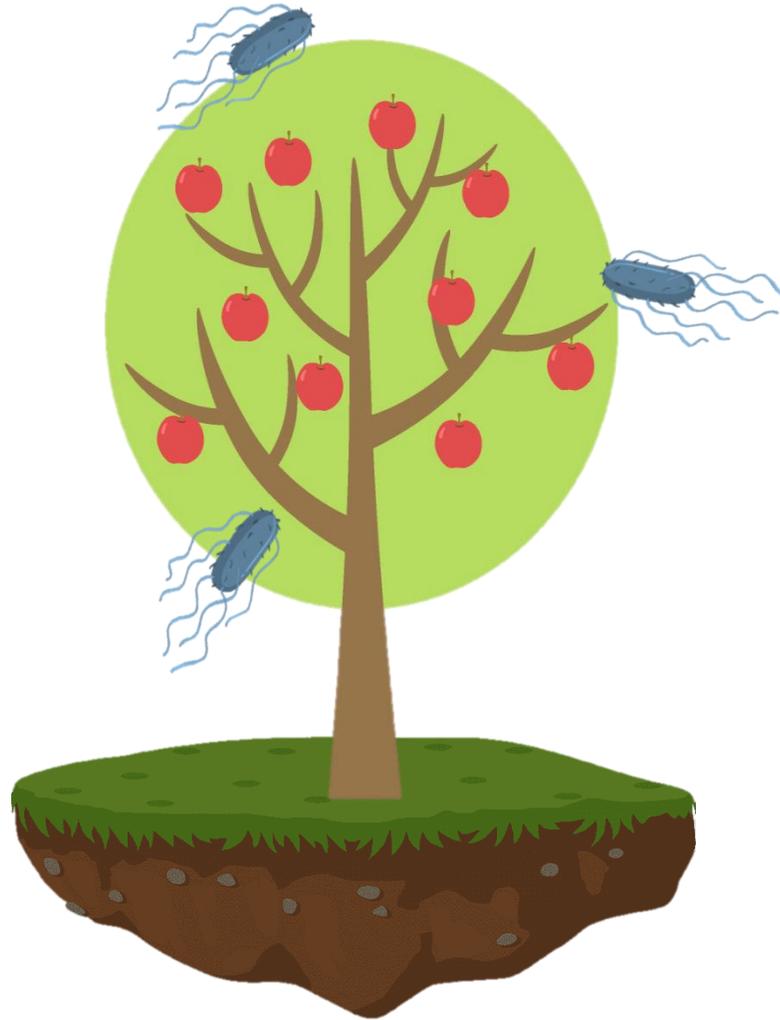
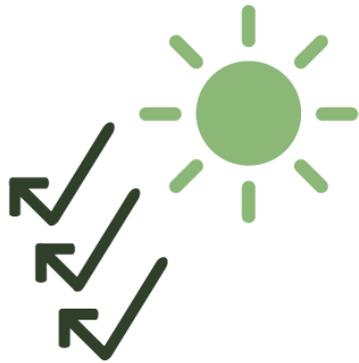


Bloomtime™
BlightBan~~X~~

Aislamiento de bacterias antagonistas



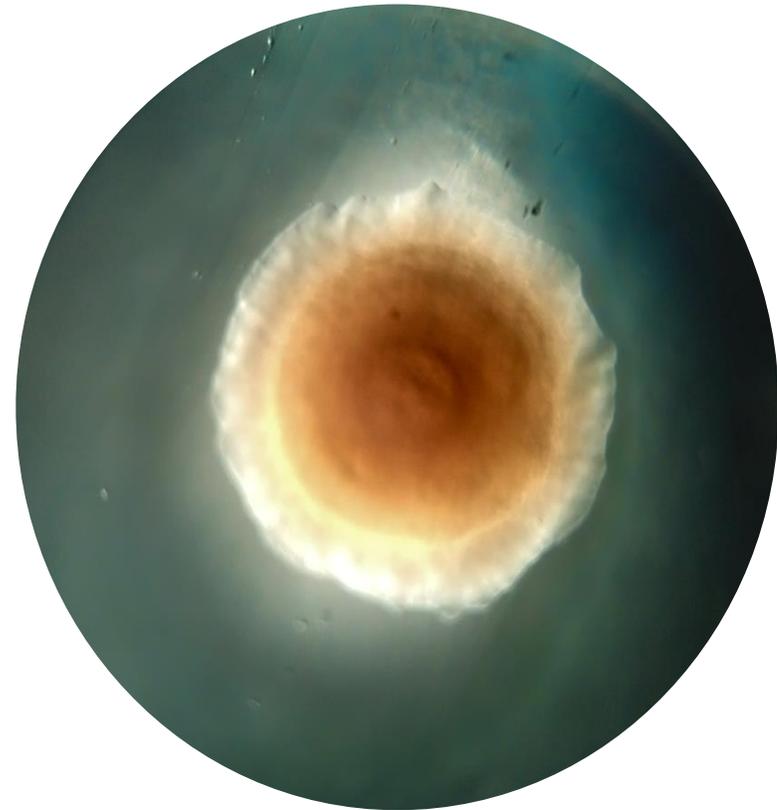
Aislamiento de bacterias antagonistas



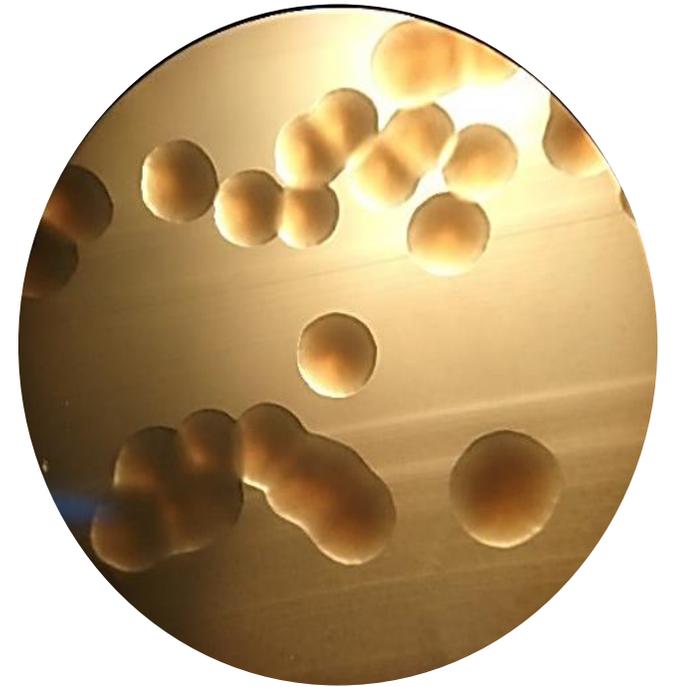
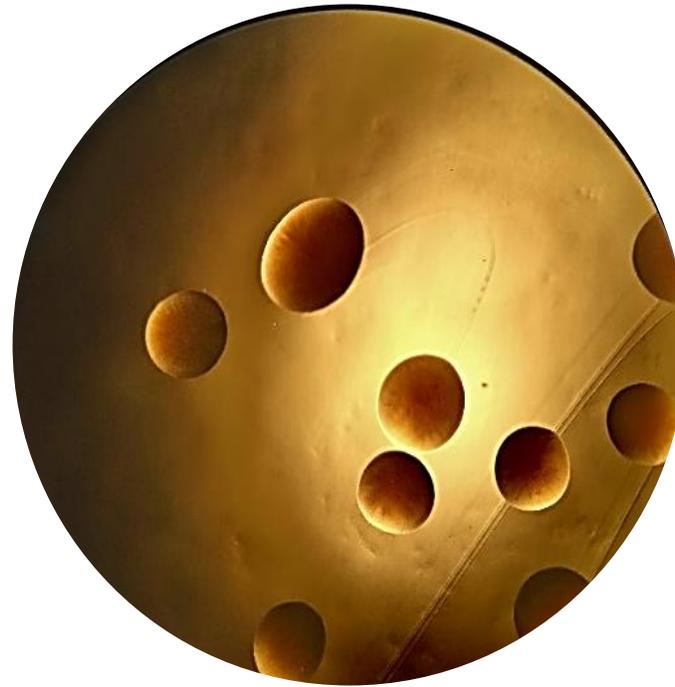


Proyecto CIAD

Evaluación de Bacterias de los Géneros *Pantoea* y *Pseudomonas* Nativas del Estado de Chihuahua como Antagonistas a *Erwinia amylovora*

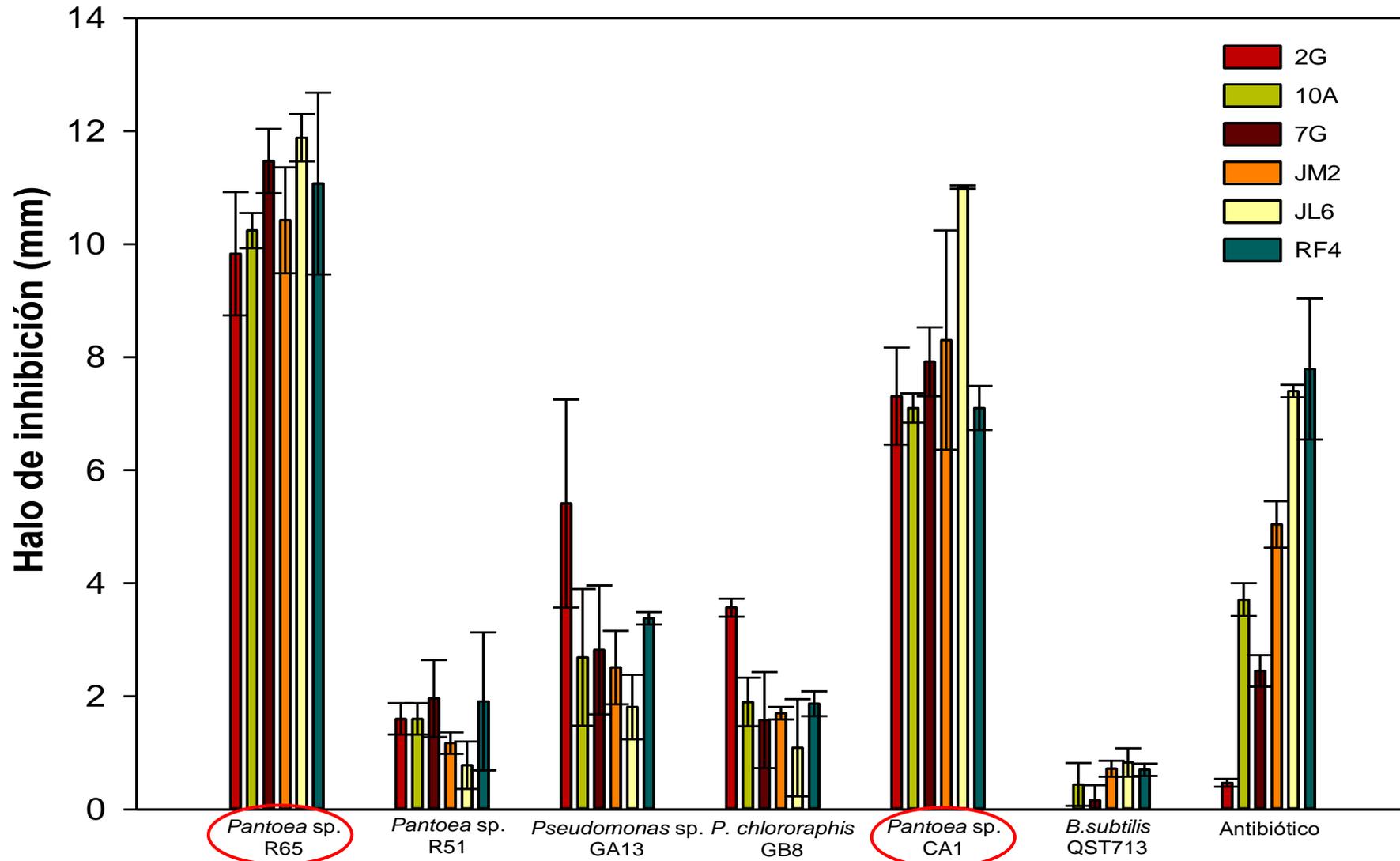
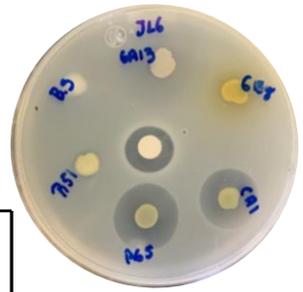


Aislados del género *Pantoea* nativos del estado de Chihuahua



Pantoea spp. R65, R51 y CA1

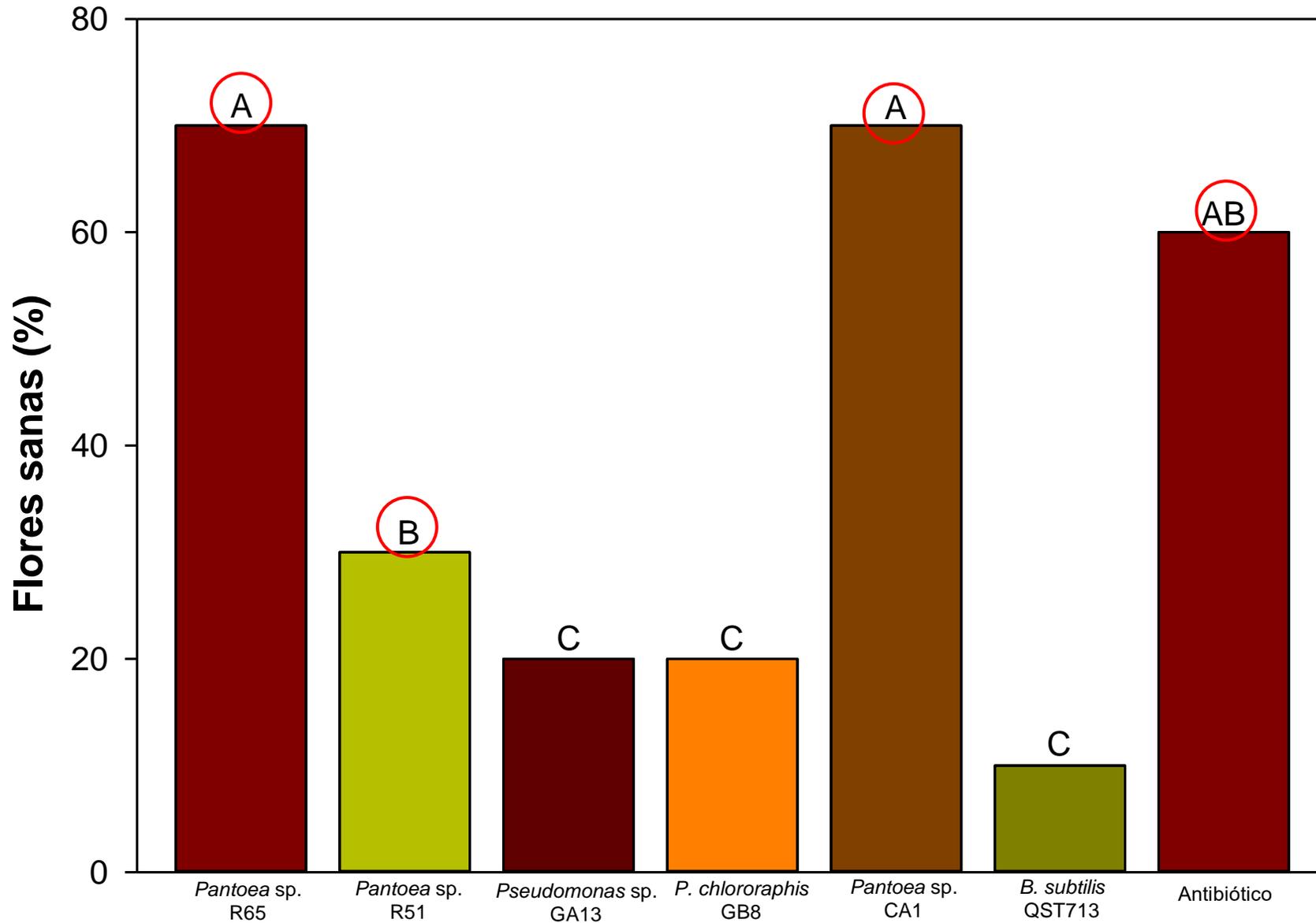
Validación *In vitro*



(+) sulfato de estreptomicina 18.75% y clorhidrato de oxitetraciclina 2%



Validación *In vivo*

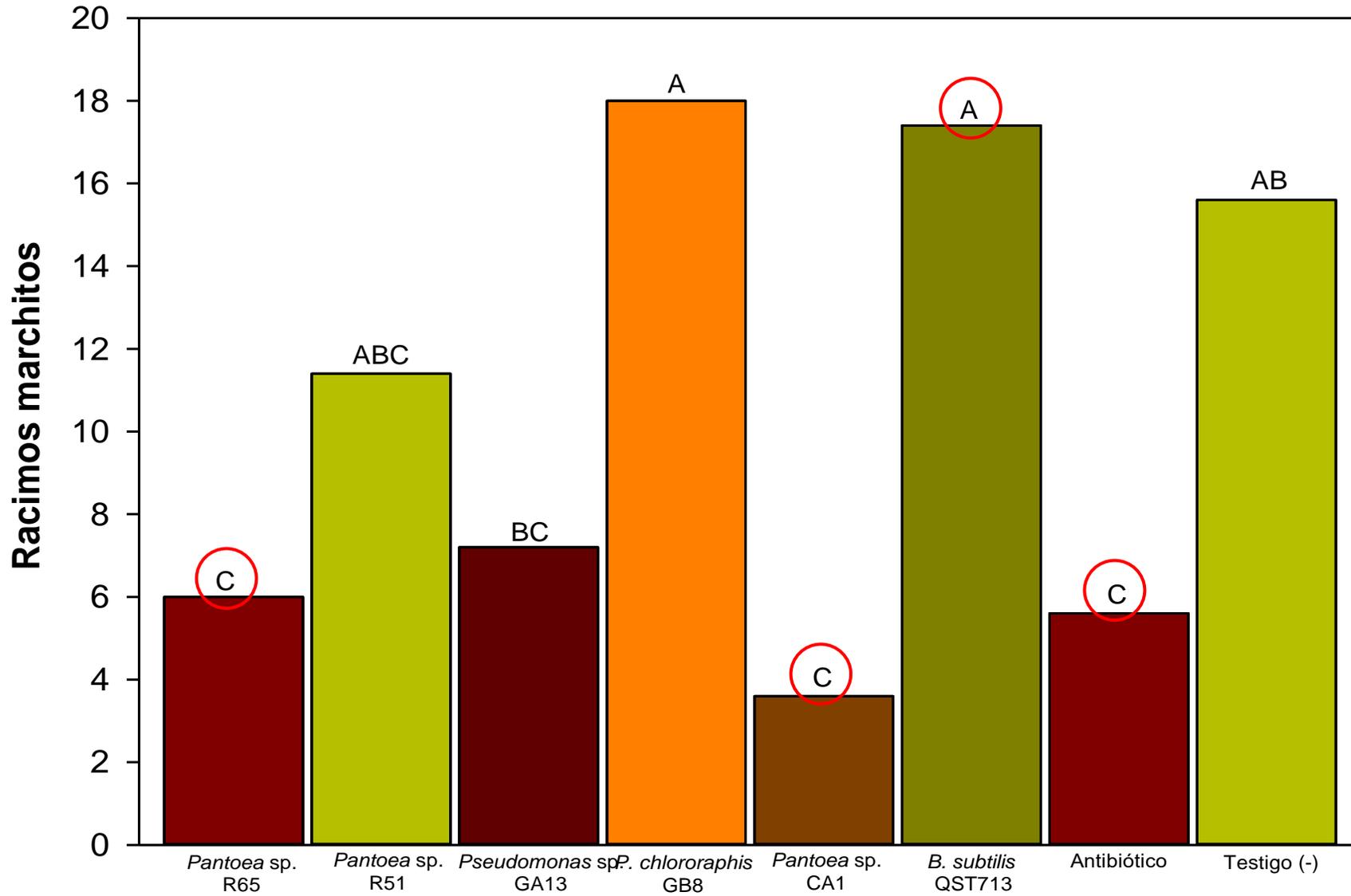


(+) sulfato de estreptomicina 18.75% y clorhidrato de oxitetraciclina 2%

Validación *In situ*



Variedad
'Royal Gala'



(+) sulfato de estreptomicina 18.75% y clorhidrato de oxitetraciclina 2%

Validación *In situ* Recuperación de antagonistas

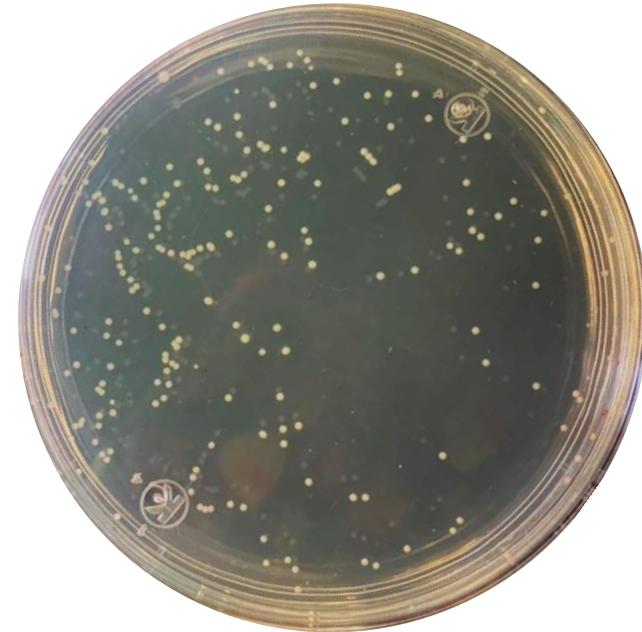
Año de aplicación	Aplicación (% floración)	<i>log/flor</i>		
		<i>Pantoea sp.</i> R65	<i>Pantoea sp.</i> R51	<i>Pantoea sp.</i> CA1
2021	Punta rosa	2.19	2.77	2.44
2021	10	2.30	2.78	3.83
2021	50	5.91	3.97	5.31

1,000,000 UFC/flor

Validación *In situ* Recuperación de antagonistas

Muestreo aleatorio de bacterias
del género *Pantoea*

100 UFC/flor

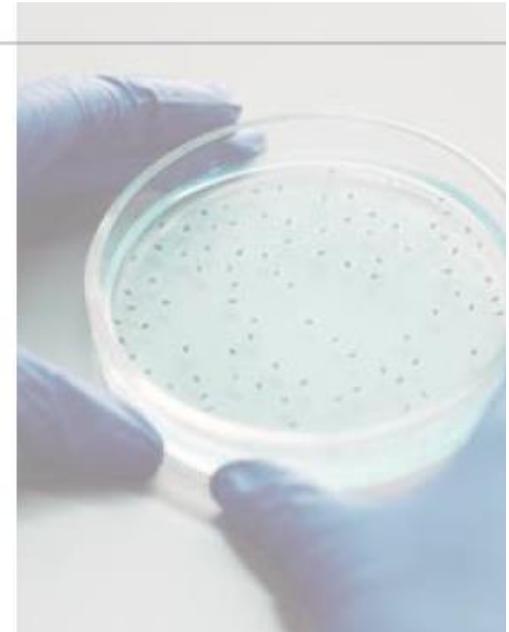


Proyecto CIAD



VOLUMEN 19 ■ EDICIÓN 2 ■ MAY-JUL

Control biológico de *Erwinia amylovora* mediante bacterias benéficas



I.H. América Jocelyn Pérez Álvarez, M.C. Alejandro Romo Chacón*, M.C.D. Alejandro de la Peña, M.C. Gerardo Pérez Ordoñez y Dr. Carlos Acosta Muñiz

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.
(CIAD) Unidad Cuauhtémoc





Comentario finales

- 
- Un vistazo más detallado a las técnicas de cultivo permitirá un monitoreo más eficiente
 - El monitoreo de más fuentes de inóculo es vital para establecer un esquema de control efectivo
 - Los antibióticos que ofrecen mejores resultados en la región son la kanamicina, gentamicina y oxitetraciclina
 - En casos de infección severa lo más aconsejable es hacer un estudio de poblaciones para establecer un esquema de control certero
 - Las bacterias del género *Pantoea* nativas del estado de Chihuahua, son una opción ideal para incorporarse al manejo integrado de la mancha de fuego causada por *E. amylovora*
 - Tener una visión de interés particular al manejo de esta enfermedad

PRIMERA PIEDRA 21 JUNIO 1927
CENTRO DE INVESTIGACION EN ALIMENTACION Y DESARROLLO A.C.
CIAD AC
UNIDAD CUAUHEMOC
GOBIERNO DEL ESTADO
CONAC
UNIFRUT
ASOCIACION DE MANZANEROS DE CUAUHEMOC AC

 CENTRO DE INVESTIGACION EN ALIMENTACION Y DESARROLLO A.C.
UNIDAD CUAUHEMOC, CHIH.



Gracias por su
atención