

ACCIÓN DE ANTAGONISTAS BACTERIANOS EN EL MANEJO INTEGRADO DE MANCHA DE FUEGO.

Jaime J. Martínez Téllez
Facultad de Ciencias Agrotecnológicas
Universidad Autónoma de Chihuahua

Yolanda Gabriela Rodríguez Manriquez
Laboratorio de Fitopatología
UNIFRUT

Introducción.

La mancha de fuego es por mucho la enfermedad producida por bacterias mas importante en la región manzanera del Estado de Chihuahua. Sus daños son muy importantes y en años de alta incidencia puede acabar con huertos enteros de acuerdo a la susceptibilidad de la variedad afectada.

Los síntomas de la enfermedad se pueden observar en brotes vegetativos, hojas, frutos, troncos, ramas o racimos florales. Después de las flores los brotes adventicios o “chupones” son los mas afectados (Fig. 1).

Erwinia amylobora es la responsable de causar esta enfermedad, esta bacteria inverna en los bordes de los chancros formados durante la estación anterior, sobre los hospederos que crecen cerca de los huertos y sobre las yemas y tejidos sanos leñosos. Al final de la primavera, estos chancros remanentes vuelven a mostrar actividad, se reproducen y se propagan hasta la corteza sana adyacente. Cuando el clima es húmedo, las masas bacterianas absorben agua mas allá de la capacidad de los tejidos lo cual hace que algunas porciones de ellas exuden a través de las lenticelas y salgan a la superficie del tejido gotas de “goma” que consiste en masas bacterianas, savia y subproductos bacterianos, siendo esta una fuente de inóculo para infecciones posteriores. Algunos insectos como las abejas y en menor proporción las moscas y hormigas son atraídas por la goma dulce y pegajosa; al impregnarse de ella, son un vehículo para la diseminación de la enfermedad. (Agrios, G. N. 2004)

De acuerdo a los trabajos realizados por Ramírez et al. en el 2003, en la región Noroeste del Estado de Chihuahua, las variedades con mayor incidencia de la enfermedad son la Golden Delicious y Rome Beauty; presentando la primera una incidencia mayor a la penetración de la bacteria por heridas de poda y por las flores, sin embargo , señalan también que el cultivar Red Delicious es severamente afectado en algunas áreas de la región manzanera. Es importante hacer notar que entre las variedades de reciente introducción, la “Gala “ y sus variantes es altamente susceptible a esta enfermedad.



Fig. 1. Aspecto de una rama infectada por Mancha de fuego

En esos mismos trabajos, se manifiesta que los mejores resultados de control se basan en: A). Cero riegos durante floración. B). La utilización de un modelo de predicción denominado MARYBLYT. C). Aspersiones de bactericidas definidas por el modelo, destinadas a reducir poblaciones de la bacteria y por lo tanto de los niveles de riesgo e infecciones.

Antibióticos y control de Mancha de fuego.

Durante los años 2004 y 2005, se realizaron una serie de muestreos en diferentes áreas y se aislaron cepas de *Erwinia amylobora*, las cuales fueron sometidas a pruebas de susceptibilidad a los antibióticos comerciales existentes en la región. Poniendo en evidencia la aparición de resistencia a ellos en diferentes áreas y existiendo diferencias de forma mas o menos generalizada.

Las pruebas realizadas incluyeron el antibiótico oxitetraciclina y las mezclas streptomycina/oxitetraciclina y oxitetraciclina/gentamicina.

En las pruebas realizadas en el año 2004, se observó que las cepas recolectadas en algunos predios muestran resistencia a diferentes productos comerciales conteniendo los antibióticos probados. La prueba consiste en colocar un disco de papel filtro impregnado con el producto a probar en una caja con el cultivo de la bacteria. Si el crecimiento no se inhibe, crecerá hasta el papel dando valores de 0.6cm; de acuerdo al grado de efectividad, se formará un círculo en el cual la bacteria no crece reportando valores máximos de 3. En dos de los predios, se observa una resistencia a cinco productos conteniendo oxitetraciclina y streptomycina (valores desde 0.6 a 0.9) y en el producto a base de oxitetraciclina y gentamicina se observa una disminución en la efectividad del producto (valor de 1).

En la Tabla 2. se muestran los resultados de las pruebas de resistencia a antibióticos de cepas de *Erwinia* recolectadas en predios de las principales regiones productoras, observando respuestas muy variables, concluyendo que en algunos predios pueden ser utilizados casi cualquier tipo de antibiótico con un resultado esperado satisfactorio, sin embargo, en algunos otros predios los resultados pueden ser variables, desde un buen control hasta un efecto nulo de los productos aplicados.

En este aspecto podemos concluir que independientemente de la efectividad del modelo de predicción que sea utilizado, la efectividad del control reside además en la determinación del grado y tipo de resistencia a los antibióticos que presente la cepa existente en la huerta.

El control se complica mas debido a que en los últimos años, la mala acumulación de frío, hace que la brotación y floración sea mas alargada, acrecentando el periodo en que el árbol es susceptible a infección.

Tabla I. Antibiogramas de Cepas de *Erwinia amylobora* en el 2004

| CEPAS DE ERWINIA | OXITETRACICLINA | | STREPTO./ OXI | | | OXI/GENTA |
|------------------|-----------------|------------|---------------|------------|------------|------------|
| | Producto 1 | Producto 2 | Producto 1 | Producto 2 | Producto 3 | Producto 1 |
| 1 | 3.4 | 3.3 | 1.6 | 1.5 | 2.6 | 3.2 |
| 2 | 0.6 | 0.6 | 0.8 | 0.9 | 0.8 | 1 |
| 3 | 0.6 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.8 | 1.5 |
| 4 | 2.7 | 3 | 2.4 | 2 | 2.3 | 2.3 |
| 5 | 2.2 | 3 | 2.2 | 2.2 | 2.4 | 2.2 |
| 6 | 2.3 | 2.6 | 2.2 | 2 | 2.3 | 1.4 |
| 7 | 2.9 | 2.8 | 2.3 | 1.8 | 2 | 1.9 |
| 8 | 1.3 | 1.2 | 1 | 1.1 | 0.8 | 1.1 |
| 9 | 1.7 | 2.2 | 1.8 | 1.5 | 2 | 1.7 |
| 10 | 2 | 2.4 | 2 | 1.5 | 2.1 | 1.9 |
| 11 | 2.5 | 2.7 | 1.3 | 1.8 | 2.5 | 2 |
| 12 | 2.6 | 3 | 2.4 | 1.7 | 2.2 | 2.5 |
| 13 | 0.8 | 0.6 | 2.7 | 2.1 | 2.2 | 1.4 |
| 14 | 3.2 | 3.3 | 2.9 | 2.4 | 2.1 | 2.4 |
| 15 | 0.6 | 0.6 | 1.6 | 1.9 | 2.1 | 1.2 |
| 16 | 1.2 | 1.2 | 0.6 | 1.5 | 2.1 | 1.9 |
| 17 | 1.7 | 1.6 | 1.8 | 2.1 | 2.3 | 1.4 |
| 18 | 2 | 3.2 | 1.5 | 1 | 2.3 | 2.5 |
| 19 | 2.6 | 2.4 | 1.4 | 1.7 | 1.6 | 2.7 |
| 20 | 1.3 | 3 | 1.8 | 1.3 | 2.6 | 2.2 |
| 21 | 2.3 | 2.5 | 2 | 1.9 | 2.1 | 1.3 |

Tabla 2. . Antibiogramas de Cepas de *Erwinia amylobora* con diferentes productos antibióticos

| LOCALIDAD | CEPAS de ERWINIA | 4/1000 | 4/1000 | 1/1000 | 3/1000 | 1/1000 | 1.6 | Agry 1kg | 0.6 | agry 1kg | 0.006 | |
|-----------|------------------|-------------|--------------|------------|--------|-------------|-------|-----------|------|-----------|------------|---------|
| | PREDIO | Cuprim. agr | Terr. Agríc. | Agrym. 100 | H2O2 | Cuprim. 100 | bac2x | terr .4kg | agry | terr 2 kg | Agrym. 100 | testigo |
| CUAUH | 1 | 3.4 | 3.3 | 1.6 | 3 | 1.5 | | | | | | 0.6 |
| CUAUH | 2 | 0.6 | 0.6 | 0.8 | 2.2 | 0.9 | | | | | | 0.6 |
| CUAUH | 3 | 0.6 | 0.6 | 0.7 | 1.6 | 0.8 | | | | | | 0.6 |
| CUAUH | 4 | 2.7 | 3 | 2.4 | 1.6 | 2 | | | | | | 0.6 |
| CUAUH | 5 | 2.2 | 3 | 2.2 | 2.3 | 2.2 | | | | | | 0.6 |
| CUAUH | 6 | 2.3 | 2.6 | 2.2 | 2.1 | 2 | | | | | | 0.6 |
| CUAUH | 7 | 2.9 | 2.8 | 2.3 | 1.1 | 1.8 | 2 | 2.3 | 1.6 | 3 | 1.3 | 0.6 |
| CUAUH | 8 | 1.3 | 1.2 | 1 | 1.7 | 1.1 | 0.8 | 1.4 | 1.5 | 1.4 | 1.4 | 0.6 |
| CUAUH | 9 | 1.7 | 2.2 | 1.8 | 2 | 1.5 | 2 | 1.8 | 1.7 | 2.1 | 1.2 | 0.6 |
| CUAUH | 10 | 2 | 2.4 | 2 | 1.6 | 1.5 | 2.1 | 2.3 | 1.6 | 2.7 | 1.4 | 0.6 |
| CUAUH | 11 | 2.5 | 2.7 | 1.3 | 1.6 | 1.8 | 2.5 | 1.5 | 1.5 | 2.8 | 1.5 | 0.6 |
| CUAUH | 12 | 2.6 | 3 | 2.4 | 1.5 | 1.7 | 2.2 | 2.7 | 1.6 | 3.4 | 1.6 | 0.6 |
| GRO | 13 | 0.8 | 0.6 | 2.7 | 0.9 | 2.1 | | | | | | 0.6 |
| GRO | 14 | 3.2 | 3.3 | 2.9 | 0.6 | 2.4 | | | | | | 0.6 |
| GRO | 15 | 0.6 | 0.6 | 1.6 | 0.6 | 1.9 | | | | | | 0.6 |
| GRO | 16 | 1.2 | 1.2 | 0.6 | 1.6 | 1.5 | 2.1 | 2.5 | 1.6 | 1 | 1.6 | 0.6 |
| GRO | 17 | 1.7 | 1.6 | 1.8 | 1.9 | 2.1 | 2.3 | 2.2 | 1.4 | 2 | 1.3 | 0.6 |
| GRO | 18 | 2 | 3.2 | 1.5 | 1.7 | 1 | 2.3 | 2 | 1.5 | 2.8 | 0.6 | 0.6 |
| GRO | 19 | 2.6 | 2.4 | 1.4 | 1.8 | 1.7 | 1.6 | 1.7 | 1.3 | 2.6 | 1.3 | 0.6 |
| JUNTA | 20 | 1.3 | 3 | 1.8 | 1.4 | 1.3 | 2.6 | 1.9 | 1.4 | 3.1 | 1.3 | 0.6 |
| NAM | 21 | 2.3 | 2.5 | 2 | 1.2 | 1.9 | | | | | | 0.6 |
| PROMEDIO | | 1.9 | 2.2 | 1.8 | 1.6 | 1.7 | 2.0 | 2.0 | 1.5 | 2.4 | 1.3 | |

Antagonistas bacterianos.

El uso de bacterias para el control biológico de enfermedades bacterianas es una práctica comercial ya difundida y encontramos algunos productos para control de enfermedades como la agalla de la corona, pudriciones blandas de tubérculos, pudrición café en durazno, mancha de fuego en manzano y peral. Entre las bacterias utilizadas como control biológico, encontramos a *Agrobacterium rabiobacter*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Lactobacillus Erwinia herbicola*, etc. (Agrios, G. N. 2004).

En el caso específico de Mancha de fuego, se ha utilizado *Pseudomonas fluorescens* cepa A-506 para control, considerándose como el primer producto comercial para este propósito, sin embargo los resultados no siempre han sido favorables por lo que se ha buscado últimamente el uso de otras cepas como la *Erwinia herbicola* cepa C9-1 para aplicación en combinación de *P. Fluorescens*, (Stelljes et al. 1998).

En 2005, se ha reportado el uso de *Pantoea agglomerans* cepa E325 como un biocontrol efectivo para mancha de fuego. (Suszkiw, 2005).

La forma en que los antagonistas bacterianos actúan es formando una población epifítica en la superficie del vegetal evitando que las bacterias patógenas se multipliquen y alcancen niveles que incrementen el riesgo de infección.

Como otros organismos, los microbios rara vez viven una vida solitaria. Al contrario, ellos están siempre en competencia con otros microorganismos tanto con epifíticos como con aquellos que causan enfermedad a las plantas. Por lo que tienen que utilizar su energía tanto para competir con otros microorganismos como para actuar para proteger la planta. La presencia de poblaciones de diferentes tipos de microbios permite establecer un equilibrio biótico que mejora la actividad de protección a las plantas. (Mark, 2002)

Con esta premisa en mente, se hizo una selección de materiales conteniendo diferentes cepas de microorganismos, tanto de bacterias (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nitrosomonas*) como de levaduras (*Saccharomyces*, *Candida utilis*) y se evaluaron en un complejo microbiológico (consorcio) denominado PG3, en pruebas de enfrentamiento con *Erwinia amylobora*; Al mismo tiempo, se comparó el comportamiento de *Pseudomonas fluorescens* cepa A506, ambas pruebas se realizaron utilizando la dosificación utilizada en campo para A506, es decir 300, 330 y 360gr. en 1000lts. de agua.

Los resultados nos muestran que a cualquier dosis utilizada, el complejo microbiológico PG3 inhibió completamente el crecimiento de *Erwinia*, mientras que la cepa A506 sí permitió crecimiento de la misma. (Fig. 2 y Tabla 3)

Los microorganismos contenidos en el consorcio PG3 son de ocurrencia natural y aun no han sido evaluados exhaustivamente con respecto a su resistencia a antibióticos, sin embargo es posible que el contenido de organismos que no son controlados por estos mismos, permita mantener una población epifítica importante de tal forma que limite el crecimiento de patógenos.

Tabla 3. Presencia de *Erwinia Amylobora* en cultivos de antagonistas bacterianos

| Cepa | Dosis 300 | 330 | 360 |
|------|-----------|-----|-----|
| A506 | +++ | + | + |
| PG3 | - | - | - |

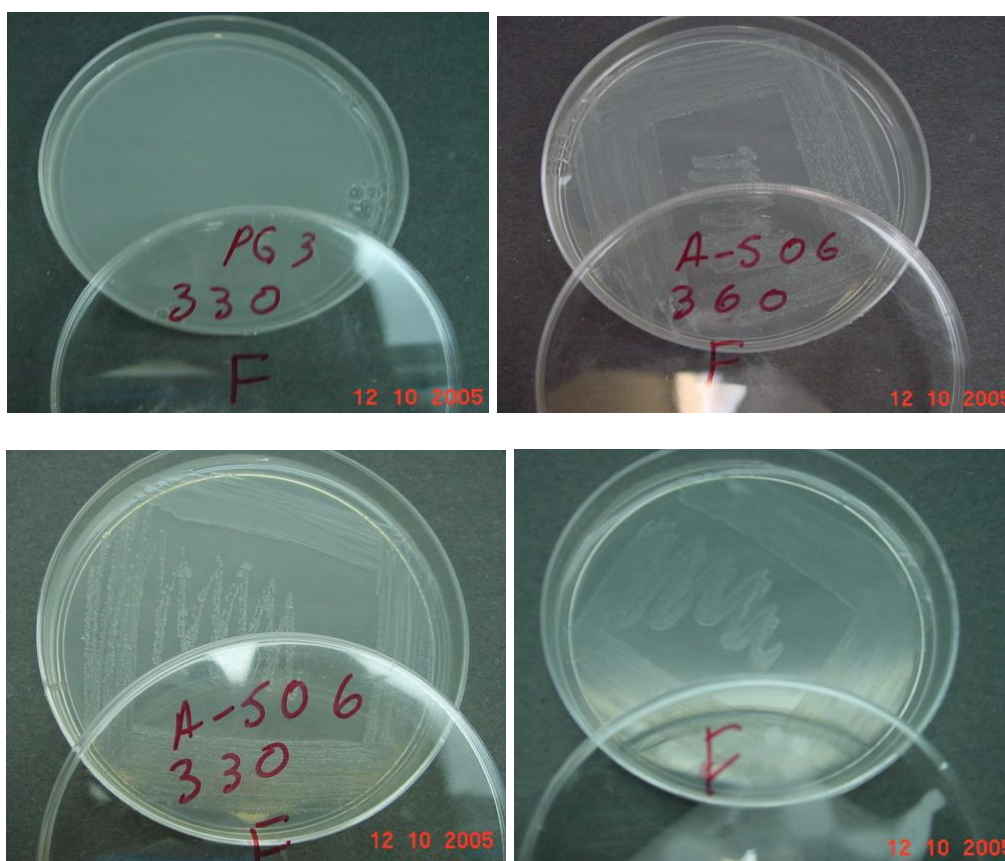


Fig. 2. Aspecto de las pruebas de crecimiento de *Erwinia amylobora* en presencia de *Pseudomonas Fluorescens* cepa A506 y el complejo microbiológico PG3

Conclusión

La mancha de fuego ha sido una enfermedad que causa daños severos a la población de manzanos de la región dejando pérdidas económicas considerables. Hasta el presente, su control ha sido basado en el uso de modelos de predicción de la infección y la aplicación de antibióticos y bactericidas, apoyados de algunas

prácticas culturales. Sin embargo la complejidad de la enfermedad, así como la resistencia que se ha venido generando por el uso indiscriminado de antibióticos, obliga a buscar alternativas o herramientas que coadyuven a su control. El uso de antagonistas bacterianos es una vía factible que permitiría una reducción del uso de antibióticos, al reducir por competencia la población epifítica de *Erwinia* reduciendo al mismo tiempo el riesgo de infección.

Literatura citada.

Agrios G.N. (2004) Tizón del fuego del peral y del manzano. Fitopatología, Cap. 12 pag. 562-567. Ed. Limusa, México , D.F.

Agrios G.N. (2004) Bacterias antagónicas Fitopatología, Cap. 9. Control de las Enfermedades de las plantas. pag. 207-209. Ed. Limusa, México , D.F.

Lindow, S. E., and Suslow, T. V. 2003. Temporal dynamics of the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescem* strain A506 in flowers in inoculated pear trees. *Phytopathology* 93:727-737.

Mark, G. L. 2002. Current Developments in Sustainable Agriculture. ECO-SAFE Technical Bulletin: (December 2002) No.1
<http://www.ucc.ie/biomerit/ecosafe.htm>

Ramirez I., M, Jacobo, J., Avila, M., Gutierrez R., Parra,R., (2003) Toma de decisiones con base a prácticas recomendadas para el manejo del tizón de fuego del manzano en la sierra de Chihuahua. Folleto Técnico Num. 16 pag. 19-24. Campo experimental Sierra de Chihuahua.

Stelljes, K.B. and D. Senft. 1998. Fire blight control, nature's way. *Agricultural Research*/Jan. 1998, p. 14-16.

Suszkiw, Jan (2005) Fight fire with fire. *Western Fruit Grower*