

Métodos de control de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* y de su portador *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, en agave mezcalero en Oaxaca, México*

Control methods of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and its phoretic *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, in agave mezcalero in Oaxaca, Mexico

Teodulfo Aquino Bolaños¹, Jaime Ruíz Vega¹ y Miguel A. Iparraguirre Cruz²

¹ Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Regional, Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional. (CIIDIR IPN Unidad Oaxaca). Hornos 1003 Santa Cruz Xoxocotlán C. P. 71230 Oaxaca, México.

E-mail: aquino22@hotmail.com

RESUMEN. La enfermedad más peligrosa que afecta al cultivo de agave en Oaxaca, México, es la pudrición blanda del cogollo, conocida como mancha bacteriana, causada por la bacteria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones, 1901). Se determinó un método de control de la bacteria mediante agroquímicos, así como de su hospedante y los vectores de la misma. Se evaluó el efecto de la bacteria sobre hongos y nematodos entomopatógenos, los cuales son empleados en el control de larvas y adultos del picudo de agave. El Agrimicín y el azufre controlaron e inhibieron colonias de la bacteria con más del 90 % en ambos casos. Se encontró que el suelo no es un agente causal que trasmite, o sea un hospedante de la bacteria; los insectos son vectores y las hojas de agave son hospedantes de *Pectobacterium carotovorum*. La bacteria no afectó a las poblaciones de hongos y nematodos entomopatógenos.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, picudo de agave, *Steinernema feltiae*.

ABSTRACT. The most dangerous sickness that affects the agave in Oaxaca, Mexico is the putrefaction of the bacterial spot which is caused by the *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones, 1901). It has been determined a controlling method for the bacteria based on some agrochemicals as well as the vector and shelterers. It was evaluated the effect of the bacteria on fungi and nematodes entomopathogenic, which were employed for controlling the larvae and the mature of agave weevil. The Agrimicin and sulfurcoul control and stop the colonies of the bacteria in a 90 % in both cases. It was also found that; the soil is not a factual agent that transmits or shelters the bacteria, that the insects are vector and that the agave leaves are shelters of the bacteria, did not affect the colonies of fungi and entomopathogenic nematodes.

Key words: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, agave weevil, *Steinernema feltiae*.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad más peligrosa que afecta al cultivo de maguey es la pudrición blanda del cogollo, llamada secazón o mancha bacteriana, causada por la bacteria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones, 1901). En CRT (1999) se estimó que de los 203 millones de plantas de agave tequilana cultivadas, el 22,3 % se encontraban dañadas en diferentes grados de afectación por esta bacteria.

En Oaxaca, México, *P. carotovorum* se observa principalmente durante la temporada de lluvias, el daño comienza con una pequeña lesión (0,5 a 2,0

cm) de diámetro de forma circular, de color café oscuro y que crece de forma irregular. (Arredondo *et al.*, 2005). Hay evidencia de que el picudo de agave es un vector que introduce la bacteria a la planta de maguey, Rodríguez (1999). Existen pocos estudios para determinar el daño real de esta bacteria a plantas de agave y la importancia que tiene este insecto como su agente transportador.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación de diferentes agroquímicos en colonias de *P. carotovorum* y determinar el hospedante y los vectores de esta bacteria, además del efecto de *P.*

* Premio de Centro Agrícola a trabajos presentados en AGROCENTRO 2009

carotovorum en hongos y nematodos entomopatógenos que son utilizados como métodos de control del picudo de agave.

MATERIALES Y MÉTODOS

Métodos de control químicos sobre la bacteria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*

Se determinó el efecto de 6 agroquímicos como métodos de control de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones, 1901) (Hauben et al., 1999) en condiciones de laboratorio. Se prepararon 5 placas por concentración y un testigo. Los agroquímicos evaluados fueron Agrimicín 500 (2,5 kg/ha), Azufre (2,5 kg/ha), Furadan (2 L/ha), Ridomil + Bravo (2 kg/ha), Captan (2,25 kg/ha) y Daconil (2 kg/ha).

Las pruebas se realizaron “in Vitro” mediante el método del crecimiento de colonias y se utilizó el medio de cultivo BD Bioxion (agar Mac Conkey), envenenado con la dosis letal media recomendada por el fabricante que indica para su uso en mg i.a./l de cada plaguicida utilizado. El medio preparado se vertió en placas de petri de 9 cm de diámetro. A este disco de agar se le sembraron 10 colonias de la bacteria, y se incubaron por 7 días a temperatura de 23 °C, luego se contó el número de colonias presentes. (Berta et al., 1998)

Otra forma de evaluar el efecto de agroquímicos sobre *P. carotovorum*, fue cultivando la bacteria, siguiendo la metodología antes mencionada, las aplicaciones de los agroquímicos a las colonias de la bacteria fueron en forma directa con una microjeringas Socorex de 100-000 microlitros de capacidad, en ambos casos, las observaciones se hicieron a diario, por un periodo de 7 días.

Análisis de datos

Se trabajó con el programa estadístico SAS. Se realizó un análisis de varianza y posteriormente se aplicó la prueba de Tukey, para la separación de medias por tratamiento, las variables evaluadas fueron inhibición y mortalidad de colonias de la bacteria.

Hospedantes y vectores de la bacteria *P. carotovorum*

En campo, se tomaron muestras de suelos, hojas en plantas de maguey y adultos del picudo de agave en tres sitios productores de maguey: Tlacolula, Matatlan y Ocotlán, en los valles del estado de Oaxaca. En la toma de las muestras de suelo se utilizó la metodología propuesta por Petersen et al. (1996) and Boone et al. (1999). Se seleccionaron y tomaron 20 muestras por sitio, a una profundidad de (0-25 cm) donde se encuentra la raíz de agave. (Arredondo et al., 2005). Se tomaron 300 g. del perfil completo del suelo por muestra, estas se depositaron en bolsas de plástico transparente y fueron llevadas al laboratorio de microbiología del CIIDIR IPN-Oaxaca. En las mismas parcelas se hicieron recorridos en zig-zag y se tomaron al azar 50 muestras de hojas de maguey enfermas, secas y sanas. (Anaya y Rosales, 1999 y Arredondo et al., 2005), este material fue depositado en bolsas de papel estraza del no. 13 de 10 kg de capacidad. Los insectos adultos fueron extraídos de plantas de maguey sanas y dañadas, con pinzas entomológicas marca Bio Star. Se tomaron 30 insectos por sitio de estudio, estos se depositaron en botes transparentes de 300 ml de capacidad para su traslado al laboratorio de entomología. (Arredondo et al., 2005)

Las pruebas se trabajaron “in vitro” mediante el método del crecimiento de colonias y se utilizó un medio de cultivo (BD Bioxion). El medio preparado se vertió en placa de petri de 9 cm de diámetro. El aislamiento de la bacteria del suelo se realizó con un asa de platino, para lo cual se le agregó agua destilada al suelo hasta que se humedeciera, después se tomó una muestra para sembrarla en el medio de cultivo antes mencionado. (Berta et al., 1998)

El aislamiento de la bacteria en hojas e insectos, se hizo por medio de un raspado del tejido enfermo con el asa de platino y se sembró en el medio de cultivo.

Las siembras de los inóculos se dejaron por 7 días a temperaturas de 23 °C en las placas. Las observaciones se hicieron a diario. Se prepararon 5 placas por concentración, además un testigo. La evaluación del crecimiento de las colonias de las bacterias se realizó de manera cualitativa mediante la siguiente escala propuesta por Berta et al., (1998):

- +++ Crecimiento intenso
- ++ Crecimiento normal
- + Crecimiento contable
- Sin crecimiento

Efecto de *P. carotovorum* sobre agentes entomopatógenos

En laboratorio, se evaluaron los nematodos entomopatógenos (*S. feltiae* y *H. bacteriophora*) a dos concentraciones, 20 y 40 nematodos/1

bacteria y los hongos (*B. bassiana* y *M. anisopliae*) a una concentración 100 microlitros/1 bacteria. Se trabajó con 7 tratamientos, 5 repeticiones y un testigo (40 nematodos/sin bacteria). Para determinar el efecto de la bacteria, se utilizaron placas de Petri, a estas se les colocó dentro papel filtro y se humedeció, encima del papel de filtro se colocó un portaobjetos con una colonia de la bacteria, después se aplicaron nematodos y hongos; las aplicaciones fueron directas sobre la bacteria. (Aquino *et al.*, 2006)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Métodos de control químicos sobre la bacteria *P. carotovorum*

Estos bioensayos indican que el Agrimicín y el azufre, estadísticamente son diferentes al resto de los tratamientos ya que pueden inhibir la germinación de las colonias de la bacteria *P. carotovorum*, el primero en un 100 % y el segundo en un 96%. Además, estos dos agroquímicos resultan ser excelentes para matar a la bacteria una vez presente, Agrimicín controló un 82 % y el azufre el 100 % de colonias de *P. carotovorum* (Tabla 1).

Como se muestra en este trabajo las acciones pueden ser de eliminar o prevenir la presencia de *P. carotovorum*, Arredondo *et al* (2005), propone acciones preventivas para evitar la presencia de *P. carotovorum* aplicando Oxitetraciclina + Zinc a una dosis de 1.5 Kg/ha.

Los fungicidas evaluados no inhibieron ni controlaron las poblaciones de *P. carotovorum*. De los dos insecticidas evaluados Furadan inhibió y controló un 60% de colonias y Endosulfan no tuvo ningún efecto sobre la bacteria.

Hospedantes y vectores de la bacteria *P. carotovorum*

Tabla 1. Porcentaje de germinación y mortalidad de *P. carotovorum* por el efecto de agroquímicos

Tratamiento	Germinación		Mortalidad	
Agrimicín 500 (2.5 kg/ha)	0	a*	82	a
Azufre (2.5 kg/ha)	4	a	100	a
Furadan (2.0 l/ha)	40	b	60	b
Ridomil + bravo (2 kg/ha)	100	c	10	c
Captan (2.25 kg/ha)	100	c	0	c
Daconil (2. kg/ha)	100	c	0	c
Testigo	100	c	0	c

Letras desiguales denotan diferencias significativas para Tukey P a 95 %

Los resultados encontrados en este experimento confirman lo que ya habían citado Mayea *et al.* (1994). Se demostró que bajo condiciones de campo el suelo no es un agente causal que transmita o sea un hospedante de *P. carotovorum*. Se encontró que los insectos son vectores de las pudriciones, al comer el adulto del fruto ingieren las bacterias y las transmiten a plantas sanas. En hojas de agave cortadas y tiradas hubo una presencia contable de la bacteria y en hojas secas tiradas no hubo presencia de la bacteria. (Tabla 2)

Efecto de *P. carotovorum* sobre agentes entomopatógenos

El efecto de *P. carotovorum* en dos nematodos *S. feltiae* y *H. bacteriophora* a 20 y 40 nem/1 colonia

después de 8 y 10 días hizo que no se encontrara mortalidad alguna en los entomopatógenos utilizados; a los 12 días se encontró 8,6 % de la población de nematodos muertos y 0 % de mortalidad en los dos hongos evaluados *B. bassiana* y *M. anisopliae*.

Tabla 2. Hospedantes y vectores de la bacteria *P. carotovorum* en los Valles del Estado de Oaxaca, México

Bacteria	Suelo	Hojas secas	Hojas recién cortadas	Insectos
- sin crecimiento	X	X		
+ Crecimiento contable			X	
++ Crecimiento normal				
+++ Crecimiento intenso				X

CONCLUSIONES

1. Se encontró que el Agrimicín y el azufre puede hinhibir y controlar colonias de *P. carotovorum* en más del 90 % en ambos casos.
2. El suelo no es un hospedante de la bacteria *P. carotovorum*, por lo cual no la puede transmitir. Los insectos son vectores de las pudriciones y las hojas de agave son hospedantes de *P. carotovorum*.
3. *P. carotovorum* no presenta efecto alguno sobre las poblaciones de hongos y nematodos entomopatógenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aquino B. T.; V. J. Ruiz; C. M. Iparraquirre: "Control biológico del picudo negro (*Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal) con nematodos y hongos entomopatógenos en agave en Oaxaca, México". *Revista Científica UDO Agrícola* 6 (1): 92-101, 2006.
2. Anaya, R. S. y N. J. Romero : *Hortalizas, plagas y enfermedades*, Ed. Trillas, México, 544 pp., 1999.
3. Arredondo, V. C. y P. H. Espinosa: Fondo Oaxaqueño para la conservación de la Naturaleza. Manual del Magueyero. Consejo Oaxaqueño del maguey y del mezcal, Oaxaca, México, pp. 20-28, 2005.
4. Berta, L. M. y L. Loreta: "Efectos de los plaguicidas sobre *Verticillum lecanii*", *Fito Sanidad un enfoque actual de la Sanidad Vegetal*. 2 (1-2): 33-35, 1998.
5. Boone, D. R., D. F. Grigal; P. Sollins; R. J. Ahrens and D. E. Armstrong: Soil sampling, preparation archiving, and cuality control (Eds) Standart soil mefhods for long term ecological. Research. Oxford University press, USA, pp. 3-27, 1999.
6. Consejo Regulador del tequila (CRT): Avances de la Investigación Científica del agave *Tequilana weber* variedad Azul, en *El agave*, pp. 6-7, 1999.
7. Bernache, P. F. y A. C. Avalos: Gaceta informativa, 1(2): 74-86, Unión agrícola regional de Mezcal tequilero del estado de Jalisco, Guadalajara, México.
8. Hauben *et al.*: Blackleg and bacterial soft rot *Pectobacterium carotovorum* subsp. atrosepticum (van Hall, 1902), 1999.
9. Mayea, S. S.; R. Andreu y Y. L. Herrera: *Enfermedades bacterianas. Enfermedades de las plantas cultivadas en Cuba*, pp. 243-244, 1994.
10. Petersen, G. R.: Methods of soil analysis part 3, Chemica Methods, Number 5, SSSA. Book series, USA, pp. 1-17, 1996.
11. Rodríguez, G. B: La investigación en agave tequilero en el CIATEJ, en: "*El agave*, Bernache". *Gaceta informativa*, 1(2): 2-3; Unión agrícola Regional de Mezcal Tequilero del estado de Jalisco, Guadalajara, México.
12. Statistical Analysis System (SAS): Statistical Analysis System, métodos estadísticos. Apoyos didácticos, No. 3, Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca, Centro de Investigación y Graduados Agropecuarios, pp. 23-24, 1994.

Recibido: 10/julio/2009
 Aceptado: 8/septiembre/2009