

Alternativas de control de *Pectobacterium carotovorum* Jones, causante de la pudrición blanda de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

Yonis Hernández^{1*}, Rafael Mejías¹, Petra Madriz², Bella Paiva¹, Paola Rodulfo¹

¹Instituto de Botánica Agrícola, Laboratorio de Bacterias Fitopatógenas, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101. Aragua Venezuela

²Instituto de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101. Aragua Venezuela

RESUMEN

Pectobacterium carotovorum, bacteria involucrada en las pudriciones blandas, es un patógeno del suelo de difícil control, no existen productos que sean efectivos en la reducción de la enfermedad, por lo que su manejo está limitado a la implementación de medidas culturales las cuales no funcionan con altas poblaciones del patógeno. Con la finalidad de encontrar una alternativa a esta problemática, se evaluó *in vitro* y en condiciones de umbráculo, el efecto de extractos acuosos, bacterias antagonistas, productos comerciales y un abono verde sobre el control de *Pectobacterium carotovorum*. Para las pruebas *in vitro*, los extractos se prepararon en una relación de un gramo de material vegetal por 3 mL de agua, los productos a las dosis comerciales, las bacterias en diluciones de 10⁸ UFC/mL. En las pruebas de umbráculo, los tratamientos excepto el abono verde, el cual se mezcló con el suelo ocho días antes, fueron aplicados semanalmente desde el momento de la plantación de los tubérculos, inoculando previamente el suelo con la bacteria patógena. *In vitro* fue medido el halo de inhibición del crecimiento de *P. carotovorum* y en umbráculo, la incidencia de la enfermedad, porcentaje de reducción de la incidencia y el porcentaje de eficiencia del control. El extracto de hojas de *Ricinus communis*, la bacteria *B. subtilis* y el sulfato de estreptomina produjeron los mayores halos de inhibición *in vitro*. En umbráculo, en todos los tratamientos, la incidencia de la enfermedad fue significativamente menor que la del control inoculado, sin embargo, el más efectivo fue el extracto acuoso de *R. communis*, seguido de Timorex gold®, sulfato de estreptomina y el abono verde de *Calotropis procera*. Todas estas herramientas incluyendo las bacterias antagonistas y algunos productos químicos pueden ser utilizados potencialmente en un plan de manejo para el control de *P. carotovorum*.

Palabras clave: Bacterias antagonistas, extractos acuosos, productos químicos, pudrición blanda.

Control Alternatives of *Pectobacterium carotovorum* Jones, the cause of soft rot of potato (*Solanum tuberosum* L.)

ABSTRACT

Pectobacterium carotovorum, a bacterium involved in soft rots, is a soil pathogen that is difficult to control; there are no products that are effective in reducing the disease, so its management is limited to the implementation of cultural measures, which do not work with high populations of the pathogen. In order to find an alternative to this problem, the effect of aqueous extracts, antagonistic bacteria, commercial

*Autor de correspondencia: Yonis Hernández

E-mail: yonisbact@gmail.com

products and a green manure on the control of *Pectobacterium carotovorum* was evaluated *in vitro* and under shade house conditions. For the *in vitro* tests, the extracts were prepared at a ratio of one gram of plant material per 3 mL of water, the products at commercial doses, the bacteria in dilutions of 10^8 CFU/mL. In the shade house tests, the treatments except green manure, which was mixed with the soil eight days before, were applied weekly from the time of planting the tubers, previously inoculating the soil with the pathogenic bacteria. *In vitro*, the growth inhibition halo of *P. carotovorum* was measured, and in the shade house, the incidence of the disease, the percentage of reduction of the incidence and the percentage of control efficiency were measured. *R. communis* leaf extract, *B. subtilis* bacteria and streptomycin sulfate produced the highest *in vitro* inhibition halos. In the shade house, in all treatments, disease incidence was significantly lower than that of the inoculated control, however, the most effective was the aqueous extract of *R. communis*, followed by Timorex gold®, streptomycin sulfate and *Calotropis procera* green manure. All of these tools including antagonistic bacteria and some chemicals can potentially be used in a management plan for the control of *P. carotovorum*.

Key words: Antagonistic bacteria, aqueous extracts, chemicals, soft rot.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los rubros más importante tanto en consumo como en producción en numerosos países, incluyendo a Venezuela. Es el cuarto cultivo en orden de importancia a nivel mundial y dentro del grupo de raíces y tubérculos hasta el año 2016 era el primero en el país (FAOSTAT, 2017; FEDEAGRO, 2018).

En la producción de papa las enfermedades constituyen un factor limitante en muchas partes del mundo ya que son las causantes de grandes pérdidas (Fiers *et al.*, 2012; Charkowski, 2018). Entre estas se destacan las pudriciones blandas causadas por bacterias de la Familia *Pectobacteriaceae* que afectan no solo en campo, sino también en almacén, canales de distribución y venta. El daño causado por estos patógenos constituye un importante problema en muchos países del mundo. Las principales bacterias involucradas son *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum*, *Dickeya dianthicola* y *Dickeya solani* (Gardan, 2003; Samson, 2005; Van der Wolf y De Boer, 2007; Charkowski, 2018).

P. atrosepticum fue considerada como el principal causante de la pudrición negra en climas templados, y *Dickeya* spp. en regiones tropicales y subtropicales. *P. carotovorum* se considera que juega un papel menor en la producción de la enfermedad en zonas templadas (De Haan *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2008), sin embargo, en

condiciones tropicales, señala Pérombelon (2002), Agrios (2005) y Charkowski (2018) que tiene la gama de hospedantes más amplia del mundo y es la bacteria más frecuentemente encontrada en los campos afectados. Así mismo, está señalada como el principal agente causal de la pudrición aérea del tallo de la papa en aquellas zonas con altas temperaturas y frecuente riego por aspersión (Powelson, 1980; Kubheka *et al.*, 2013) y de los tubérculos durante el almacenaje (Abd El-Khair y Karima, 2007).

El control de estos patógenos es de suma importancia tanto en campo como en almacenamiento (Toth *et al.*, 2003; Agrios, 2005). Señala Charkowski (2018) que la pudrición blanda ha sido un constante problema en la producción de vegetales y particularmente en la producción de papa y que, si se desarrolla un programa efectivo para el manejo del patógeno, esto tendría un impacto significativo en la sostenibilidad y reducción de gastos en los sistemas de producción.

Actualmente no hay métodos para eliminar de los tejidos afectados, a las bacterias que causan las pudriciones blandas lo que significa que los agricultores no tienen forma de curar plantas infectadas (Charkowski, 2018). Las bacterias biocontroladoras y los bacteriófagos ofrecen posible solución a este dilema, sin embargo, en el primer caso, son pocas las cepas que han sido probadas contra *Pectobacterium* y *Dickeya* con resultados promisorios en ensayos de invernadero, pero ellas todavía no son ampliamente usadas en el campo. Aunado a esto, el uso frecuente de

espray que contienen cobre, reducen o eliminan la eficacia tanto del fago como de las bacterias biocontroladoras, (Pérombelon, 2002; Fiers *et al.*, 2012; Charkowski, 2015; Raoul des Essarts *et al.*, 2016; Charkowski, 2018)

Los plaguicidas son un elemento crucial para el mantenimiento de la industria agroalimentaria moderna, pero la tendencia cada vez más acentuada a disminuir los costos de producción y los niveles de residuos de pesticidas agrícolas, el respeto por el medio ambiente y la falta de productos químicos eficaces en muchos casos, sitúa al control integrado como la alternativa más viable en el manejo de enfermedades en las plantas (Pérombelon, 2002; Charkowski, 2015, 2018)

Con base a lo anteriormente expuesto y en vista del problema que representan las pudriciones blandas en la producción de papa, esta investigación tuvo como objetivo, evaluar *in vitro* e *in vivo*, alternativas de control sobre *P. carotovorum* uno de los patógenos involucrados en la pudrición blanda de la papa en Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bacterias Fitopatógenas del Instituto de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, en Maracay, estado Aragua; se trabajó en laboratorio y en umbráculo.

Estudios *in vitro*

En las pruebas *in vitro*, se probaron los productos comerciales Amonio cuaternario a granel, Champion®, Sulfato de Estreptomina®, Phytan®, Terra Cobre®, BiorendCu®, Validacin®, Kasumin®, Cobrex®, Timsen®, Cuprimicin®, y Dióxido de Cloro, extractos acuosos de orégano (*Origanum vulgare*), albahaca (*Ocimum basilicum*), flor escondida (*Phyllanthus niruri*), cariaquito (*Lantana camara*), mata ratón (*Gliricidia sepium*), guayaba (*Psidium guajava*), tártago (*Ricinus communis*), algodón de seda (*Calotropis procera*) y las bacterias *Pseudomonas fluorescens* cepa 26, *Bacillus subtilis*, *Priestia megaterium* (sinónimo *B. megaterium*), *Bradyrhizobium* sp., *Rhizobium* sp. y la combinación de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* cepa 26.

Preparación de los extractos acuosos

La elaboración de los extractos se realizó con material foliar fresco en una relación 3:1 (1 gramo de material fresco por 3 mL de agua destilada estéril). La misma relación fue utilizada en el caso del tártago del cual, además de la hoja, también se incluyó en el estudio la semilla y botón floral.

Se pesó el material y luego se procedió al lavado con agua de chorro y seguido con agua destilada, desinfección con alcohol al 40% por un minuto y finalmente dos lavados con agua destilada estéril. El material fue picado en trozos pequeños con una tijera desinfectada, posteriormente macerado con agua destilada estéril en un mortero estéril, todos los materiales se filtraron con gasa. Los extractos siempre fueron preparados al momento de su utilización.

Preparación de los productos comerciales.

Se prepararon asépticamente concentraciones acuosas de todos los productos al momento del ensayo y fueron colocadas en frascos de vidrio estériles. Para la mayoría de los productos se utilizaron las dosis comerciales recomendadas excepto en el caso del sulfato de Estreptomina a 200 ppm, Timsen al 2% y BiorendCu al 1, 2 y 5%.

Preparación de las bacterias antagonistas

Se siguió la metodología señalada por Mariano *et al.* (2005), la cual consistió en preparar suspensiones bacterianas de 48 horas de crecimiento en medio agar nutritivo a una concentración de 10^8 UFC/mL, con el tubo número 2 de la escala de Mc Farland (Gayathiri *et al.*, 2018). Para la combinación de *B. subtilis* con *P. fluorescens*, un tratamiento consistió en mezclar las suspensiones al momento del ensayo (Bs+Pf) y el otro, creciendo juntas en medio líquido peptonado (Bs y Pf) durante 24 horas (Schaad *et al.*, 2001).

Pruebas de efectividad *in vitro* con productos químicos, bacterias antagonistas y extractos acuosos

Para medir la efectividad *in vitro* de los extractos acuosos, productos químicos y bacterias sobre *P. carotovorum*, se utilizó el método de papel

de filtro (Lorian, 1980; Balouiri *et al.*, 2016). El procedimiento fue el siguiente: en placas de Petri que contenían medio de cultivo agar nutritivo (AN), fue sembrada por extensión en superficie, a razón de 100 μL , una suspensión de *P. carotovorum* ajustada a 10^8 UFC/mL con el tubo número 3 de la escala de Mc Farland (Gayathiri *et al.*, 2018), seguidamente colocados en forma equidistante los discos de papel de filtro estéril de 5 mm de diámetro, impregnados con 10 μL del tratamiento (producto químico, extracto o bacteria); fueron utilizados 5 discos/placa. El diseño fue un completamente aleatorizado con 6 repeticiones. El testigo estuvo constituido por discos a los cuales se le añadió 10 μL de agua destilada estéril. Las evaluaciones se realizaron a partir de las 48 horas, midiéndose con una regla graduada, el tamaño del halo de la zona de inhibición del crecimiento de *P. carotovorum*.

Pruebas de eficacia en umbráculo

Para esta prueba se utilizaron los productos comerciales Cumbre®, Timorex®, Biofat®, extractos acuosos de *Ricinus communis* (tártago), *Lantana camara* (cariquito) y *Psidium guajava* (guayaba), las bacterias *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* y un bioconsorcio denominado Biocon, el antibiótico Sulfato de estreptomina y *Calotropis procera* (algodón de seda) en forma de

abono verde. Se utilizaron tubérculos de papa de la variedad Kennebec los cuales fueron sembrados en macetas de 1,5 Kg de capacidad que contenían sustrato estéril en relación 3:1 (suelo/turba), inoculado dos días antes con una suspensión de *P. carotovorum* a una concentración de 10^8 UFC/mL, correspondiente al tubo N° 3 de la escala de Mc Farland (Gayathiri *et al.*, 2018).

Los extractos acuosos se prepararon en una relación de 1:3, es decir un gramo de material vegetal por 3 mL de agua destilada estéril; los productos a las dosis comerciales (0,5 g/L), las bacterias en soluciones a 10^8 UFC/mL y el abono verde a 25 g/1,5 kg de suelo. Los tratamientos a excepción del abono verde, el cual se mezcló con el suelo ocho días antes, fueron aplicados semanalmente a razón de 10 mL por planta, desde el momento de la plantación de los tubérculos, inoculando previamente el suelo con la bacteria patógena. El ensayo se realizó bajo un diseño completamente aleatorizado con ocho repeticiones (Cuadro 1).

Por cada tratamiento se registró la Incidencia de la Enfermedad (% I), Porcentaje de Reducción de la Incidencia (% R I) y el Porcentaje de Eficiencia del Control (% E C) de acuerdo a las siguientes fórmulas (Abd-El-Khair y Karima, 2007; Rahman *et al.*, 2017):

Cuadro 1. Tratamientos aplicados a plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) en las pruebas de umbráculo para el control de *Pectobacterium carotovorum*

Tratamiento	Descripción del tratamiento
T1	Plantas a las que se les aplicó solo agua
T2	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y no tratadas
T3	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con el extracto acuoso de <i>Psidium guajava</i>
T4	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con el extracto acuoso de <i>Ricinus communis</i>
T5	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con el extracto acuoso de <i>Lantana camara</i>
T6	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con Timorex Gold®
T7	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con <i>Bacillus subtilis</i>
T8	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con <i>Pseudomonas fluorescens</i>
T9	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con un Bioconsorcio
T10	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con Cumbre®
T11	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con Biofat®
T12	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con Sulfato de Estreptomina
T13	Plantas inoculadas con <i>P. carotovorum</i> y tratadas con abono verde de <i>Calotropis procera</i> .

$$\% I = \frac{\text{Número de plantas afectadas} \times 100}{\text{Número total de plantas por tratamiento}}$$

$$\% RI = \frac{\text{Incidencia en el control} - \text{Incidencia en el tratamiento} \times 100}{\text{Incidencia en el control}}$$

$$\% E C = \% \text{ total de plantas} - \% \text{ de plantas enfermas}$$

Se utilizó un testigo absoluto (suelo tratado solo con agua) y un testigo positivo (suelo solo tratado con la bacteria *P. carotovorum*). Las evaluaciones se realizaron a los 45 días. En el umbráculo se registraron temperaturas máximas de 42 °C, mínima de 26 °C y humedad relativa de 60–80%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas de efectividad *in vitro* con Productos químicos

Con los productos químicos, se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados (Cuadro 2). Las pruebas de medias indican que los mayores halos de inhibición del crecimiento de *P. carotovorum* fueron producidos por el Sulfato de estreptomina mientras que el Kasumin y el Dióxido de Cobre se comportaron igual que el testigo. Los demás productos desde el punto de vista estadístico tuvieron el mismo comportamiento en cuanto a los halos de inhibición producidos (Cuadro 3).

Con relación a la estreptomina, este es un antibiótico de amplio espectro con actividad contra bacterias Gram negativas y Gram positivas (Sundin y Wang, 2018). Vidaver (2002) señala que, generalmente este antibiótico se utiliza a dosis que van de 50 a 200 ppm, pero hay que tener

cuidado con la dosis y frecuencia de aplicación, para no inducir resistencia en la bacteria tratada. Varios autores (Rezzonico *et al.*, 2009; Stockwell y Duffy, 2012; Walsh *et al.*, 2014) señalan el efecto controlador de este antibiótico sobre bacterias fitopatógenas. Hernández y Trujillo (2003), en pruebas con medio líquido, encontraron control de *X. campestris*, *P. carotovorum*, *Pseudomonas* sp. y *X. campestris* pv. *poinsettiiicola*, pero no sobre *Burkholderia andropogonis* (ahora *Robbsia andropogonis*).

Los productos a base de cobre también son señalados por su efecto bactericida (Agrios, 2005; Garza *et al.*, 2002; Rashid *et al.*, 2013), encontraron que estos compuestos suprimieron *in vitro* el crecimiento de la bacteria causante de la pudrición blanda. En esta investigación, todos los productos a base de cobre también tuvieron efecto sobre la inhibición del crecimiento de *P. carotovorum*.

El Kasumin tuvo el menor efecto bactericida, sin embargo, este compuesto está señalado como un fungicida-bactericida de origen biológico, que tiene como ingrediente activo, la kasugamicina a concentración del 2%, antibiótico de amplio espectro el cual inhibe la incorporación de aminoácidos a la síntesis de proteínas en bacterias y hongos. Sigeo (1993) y McGhee y Sundin (2011), señalan que la kasugamicina tiene una fuerte actividad bacteriana *in vitro* y efectividad en campo, mientras que Farfan *et al.* (2014), reportan un efecto pobre sobre bacterias aisladas de *Passiflora edulis*, resultados que coinciden con esta investigación ya que la inhibición del crecimiento sobre *P. carotovorum* fue bajo.

Cuadro 2. Análisis de varianza por Kruskal-Wallis, para los halos de inhibición *in vitro* producidos por productos comerciales sobre *Pectobacterium carotovorum*

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Tratamiento	14	29462,8	2104,49	5,84	0,0000
Error	75	27016,2	360,22		
Total	89	56479,0			

Cuadro 3. Medias de halos de inhibición del crecimiento *in vitro* de *Pectobacterium carotovorum* con diferentes productos químicos

Tratamiento	Rangos de Medias	Grupos
Sulfato de Estreptomicina	71,58	A
Biorend Cu 5%	69,67	AB
Validacin	62,75	AB
Terra cobre	61,58	AB
Timsen 2%	58,33	AB
Champion	56,75	AB
Amonio cuaternario	54,58	AB
Biorend Cu 2%	47,08	AB
Cuprimicin	46,75	AB
Phyton	38,50	AB
Biorend Cu 1%	31,08	AB
Cobrex	26,83	AB
Kasumin	19,00	B
Dióxido de cobre	19,00	B
Testigo	19,00	B

Pruebas de efectividad *in vitro* con bacterias antagonistas

Con las bacterias antagonistas, hubo diferencias altamente significativas con respecto al halo de inhibición producido sobre *P. carotovorum* (Cuadro 4). Las pruebas de medias indican que el halo de inhibición de *Bacillus subtilis* es mayor que el de *B. megaterium*, *Bradyrhizobium* sp., *Rhizobium* sp. y el testigo. Los demás son estadísticamente iguales en su comportamiento (Cuadro 5).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Reinoso *et al.* (2006), los cuales obtuvieron *in vitro* que la cepa identificada como *Brevibacillus laterosporus*, resultó la mejor candidata como agente de control biológico de *Pectobacterium carotovorum*. Por otro lado, Toledo (2004) obtuvo tres cepas de *Bacillus* sp. con potencial antagonístico. Long *et al.* (2003) y Rashid *et al.* (2013) encontraron actividad antagonística *in vitro* de *Bacillus* y *Pseudomonas* sobre *Pectobacterium carotovorum*.

Cuadro 4. Análisis de varianza por Kruskal-Wallis, para los halos de inhibición producidos por bacterias antagonistas sobre *Pectobacterium carotovorum*

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Tratamiento	8	8841,6	1105,20	20,23	0,0000
Error	44	2404,4	54,64		
Total	52	11246,0			

Cuadro 5. Medias de halos de inhibición del crecimiento de *Pectobacterium carotovorum* producidos por bacterias antagonistas

Tratamiento	Rangos de Medias	Grupos
<i>Bacillus subtilis</i>	42,42	A
<i>P. fluorescens</i> y <i>B. subtilis</i>	38,75	AB
<i>P. fluorescens</i> + <i>B. subtilis</i>	38,58	AB
<i>P. fluorescens</i>	38,25	AB
<i>Faskia</i> sp.	32,58	AB
<i>B. megaterium</i>	12,50	B
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	12,50	B
<i>Rhizobium</i> sp.	12,50	B
Testigo	12,50	B

Salem y Abd El-Shafea (2018), observaron control *in vitro* con las bacterias *Streptomyces* spp., *P. fluorescens*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*.

Pruebas de efectividad *in vitro* con extractos acuosos

Con los extractos acuosos, se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Cuadro 6). Según las pruebas de medias (Cuadro 7) Los resultados estadísticos indican que el halo de inhibición de *Ricinus communis* semilla es mayor que el producido por *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare* y el testigo. Así mismo el de *R. communis* hoja y *R. communis* botón floral son mayores que el de *O. vulgare* y el testigo. Los demás son iguales.

Para el control de *Pectobacterium* spp., se han probado *in vitro*, extractos de diferentes especies de plantas y se ha reportado capacidad inhibitoria del crecimiento de la bacteria con *Corchorus capsularis*, *Swertia chirata* (Rahman *et al.*, 2012), *Zingiber officinale*, *A. indica* (Umunna y Anselem, 2014), *Curcuma longa*, *A. indica* y *A. cepa* (Akbar *et al.*, 2014).

Quintana *et al.* (2018) con *Ralstonia solanacearum*, encontraron efecto bactericida de los extractos acuosos y etanólicos de tártago y guayaba, resultados similares a los encontrados en esta investigación.

Pruebas de eficacia en umbráculos

En las pruebas de umbráculo, según el análisis de varianza, hubo un efecto diferencial de los tratamientos aplicados, sobre la pudrición blanda por *P. carotovorum* en plantas de papa (Cuadro 8) (Figura 1).

En todos los tratamientos, la Incidencia de la Enfermedad fue significativamente menor que la del control inoculado (solo patógeno y no tratado), que mostró una incidencia de pudrición blanda del 87,5% y la reducción de la Incidencia fue cero (Cuadro 9).

El extracto de hojas de *Ricinus communis*, fue el más efectivo en reducir la enfermedad, seguido de Timorex Gold®, Sulfato de Estreptomicina y el abono verde de *Calotropis procera* mientras que el extracto de *Psidium guajava* y el bioconsorcio

Cuadro 6. Análisis de varianza por Kruskal-Wallis, para los halos de inhibición producidos por extractos vegetales sobre *Pectobacterium carotovorum*

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Tratamiento	10	19183,1	1918,31	26,5	0,0000
Error	55	3974,4	72,26		
Total	65	23157,5			

Cuadro 7. Medias de halos de inhibición del crecimiento de *Pectobacterium carotovorum* producidos por extractos vegetales

Tratamiento	Rangos de Medias	Grupos
<i>Ricinus communis</i> semilla	61,417	A
<i>Ricinus communis</i> hoja	55,917	AB
<i>Ricinus communis</i> botón floral	55,167	AB
<i>Lantana camara</i>	37,917	ABC
<i>Psidium guajava</i>	32,750	ABC
<i>Phyllanthus niruri</i>	30,583	ABC
<i>Gliricidia sepium</i>	25,833	ABC
<i>Calotropis procera</i>	25,833	ABC
<i>Ocimum basilicum</i>	23,250	BC
<i>Origanum vulgare</i>	16,333	C
Testigo	3,500	C

Cuadro 8. Análisis de varianza por Kruskal-Wallis, del efecto de tratamientos sobre la pudrición blanda por *Pectobacterium carotovorum* en pruebas de umbráculo

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Tratamiento	12	15184	126533	2,24	0,0157
Error	91	51376	564,57		
Total	103	66560,0			



Figura 1. Plantas de papa (*Solanum tuberosum*) en pruebas de umbráculo presentando pudrición blanda en tallos causada por *Pectobacterium carotovorum*

bacteriano fueron los menos efectivos.

En el tratamiento con *Ricinus communis* solo hubo un 12% de incidencia de la enfermedad con una reducción de la Incidencia de 86,28% y una eficiencia de control de 88%, seguido de Timorex Gold®, el abono verde de *Calotropis procera* y el Sulfato de Estreptomicina con 25% de Incidencia, reducción de la Incidencia de 71,42% y una eficiencia de control de 75%.

Los tratamientos con mayor control de la pudrición blanda, fueron ejercidos por productos provenientes de plantas, ya sea extractos como el de *R. communis*, el producto comercial Timorex Gold que es un aceite extraído de *Malaleuca alternifolia* y

el abono verde de *Calotropis procera*, esto denota su potencial en el tratamiento de la pudrición blanda por métodos no peligrosos y más amigables con el ambiente.

Hay resultados de pruebas y efectividad de extractos provenientes diferentes especies de plantas en bacterias fitopatógenas incluyendo *P. carotovorum* (D'Anello, 2008; Arocha, 2010; Rahman *et al.*, 2012).

Bhat *et al.* (2017) encontraron que extractos de plantas de *Urtica dioica*, *Syzygium aromaticum* y *Salix alba*, disminuyeron la pudrición blanda en plantas de papa. Quintana *et al.* (2018), observaron en plantas de tomate inoculadas con *Ralstonia*

Cuadro 9. Incidencia, reducción de la incidencia y eficiencia de control de la pudrición bacteriana con la aplicación de tratamientos sobre *Pectobacterium carotovorum* en plantas de papa

Tratamientos	Total plantas	Plantas sanas	Plantas enfermas	% Incidencia de la enfermedad	% de reducción de la incidencia	% de eficiencia de Control
Testigo agua	8	8	0	0,0		
<i>Ricinus communis</i>	8	7	1	12,0	86,28	88,0
Timorex Gold®	8	6	2	25,0	71,42	75,0
Abono Verde de <i>Calotropis procera</i>	8	6	2	25,0	71,42	75,0
Sulfato de Estreptomina	8	6	2	25,0	71,42	75,0
<i>Lantana camara</i>	8	5	3	37,5	57,14	62,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	8	5	3	37,5	57,14	62,5
<i>Bacillus subtilis</i>	8	5	3	37,5	57,14	62,5
Cumbre®	8	5	3	37,5	57,14	62,5
Biofat®	8	5	3	37,5	57,14	62,5
<i>Psidium guajava</i>	8	3	5	62,5	25,00	37,5
Bioconsorcio	8	2	6	70,0	20,0	30,0
Testigo inoculado	8	1	7	87,5	0,0	12,5

solanacearum y tratadas con extractos acuosos y etanólicos de *R. communis*, sólo un 14,25 % de plantas con marchitez bacteriana.

Bacillus subtilis y *Pseudomonas fluorescens*, al igual que el extracto de *Lantana cámara* y los productos Biofat y Cumbre tuvieron también un efecto reductor de la incidencia de la pudrición blanda en un 57,14% y una eficiencia de control de 62,5%.

Algeblawi y Adam (2013) encontraron que los bioagentes *P. fluorescens*, *B. subtilis* y *B. thuringiensis*, redujeron la pudrición blanda en los tubérculos de papa causados por *E. carotovora* subsp. *carotovora* en experimentos en maceta. Los mejores resultados se obtuvieron cuando los aislamientos de *P. fluorescens* y *B. subtilis* se aplicaron contra *E. carotovora* subsp. *carotovora* en comparación con el tratamiento control.

Salem y El-Shafea (2018), señalan que la pudrición bacteriana producida por *E. carotovora* subsp. *carotovora* puede ser controlada biológicamente por *Streptomyces* spp., *B. subtilis*, *P. fluorescens* y *P. aeruginosa*. En esta investigación también se encontró efecto biocontrolador de las

bacterias *B. subtilis* y *P. fluorescens* sobre la reducción de la pudrición blanda por *P. carotovorum*.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en esta investigación, se puede elaborar un plan de manejo de la pudrición blanda de la papa causada por *P. carotovorum*, incluyendo los extractos de plantas de *R. communis*, el abono verde de *C. procera*, el Sulfato de Estreptomina, las bacterias antagonistas *B. subtilis* y *P. fluorescens* y los productos comerciales Timorex Gold Cumbre y Biofat.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abd El-Khair, H.; H.E. Karima. 2007. Application of Some Bactericides and Bioagents for Controlling the Soft Rot Disease in Potato. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 3(5): 463-473.

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th Edition Elsevier Academic Press. New York. pp. 647-651.
- Akbar, A.; S. Din; M. Ahmad; G.D. Khan; S. Alam. 2014. Effect of Phytobiocides in Controlling Soft Rot of Tomato. Journal of Natural Sciences Research. 4(11): www.iiste.org. ISSN 2224-3186 (Paper) ISSN 2225-0921 (Online).
- Algeblawi, A.; F. Adam. 2013. Biological control of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* by *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus thuringiensis*. International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences. 1(5):ISSN2320–ISSN4079.
- Arocha, A. 2010. Efecto de extractos etanólicos de *Gliricidia sepium* (Jacq) Stend, sobre el control de *Ralstonia solanacearum* Smith, en plantas de *Solanum melongena* L. Trabajo de Grado. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 40p.
- Balouiri, M.; M. Sadiki; S. Kraichi. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. Journal Pharmaceutical Analysis 6: 71-79.
- Bhat, K.A.; H.S. Viswanath; N.A. Bhat; T.A. Wani. 2017. Bioactivity of various ethanolic plant extracts against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot of potato tubers. Indian Phytopath. 70(4): 463-470. DOI 10.24838/ip.2017.v70.i4.76990
- Charkowski, A. 2015. Biology and control of *Pectobacterium* in potato. Am. J. Potato Res. 92: 223-229
- Charkowski, A. 2018. The changing face of bacterial soft-rot diseases. Annu. Rev. Phytopathol. 56: 269-288.
- de Haan, E.G.; T.C.E.M. Dekker-Nooren; G.W. van den Bovenkamp; A.G.C.L. Speksnijder; P.S. van der Zouwen; J.M. van der Wolf. 2008. *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* can cause potato blackleg in temperate climates. European Journal of Plant Pathology, 122(4): 561-569.
- D'Anello, K. 2008. Evaluación de extractos vegetales acuosos y etanólicos para el control de *Xanthomonas campestris* pv. *zinniae* (Hopkins & Dowson) y *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* (Pammel). Trabajo de Grado. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay, Venezuela. 32 p.
- Duarte, V.; S. H. De Boer; L.J. Ward; A.M.R. Oliveira. 2008. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. Journal of Applied Microbiology. 96: 535-545. doi:10.1111/j.13652672.2004.02173.x.
- FAOSTAT. 2017. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. [En línea]. Consultado: Septiembre, 2019. Dirección URL: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=es>.
- Farfán, L. M.; S.V. Benítez; L.M.H. Carvajal. 2014. Sensibilidad de bacterias procedentes de pasifloras a antibióticos y productos cúpricos. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 8(1): 20–33. <https://doi.org/10.17584/rcch.2014v8i1.2797>.
- FEDEAGRO (Confederación Nacional de Asociaciones de Productores Agropecuarios). 2018. [En línea]. Dirección URL: <https://fedeaagro.org/estadisticas-agricolas/produccion-agropecuaria/produccion/>. [Consultado: Julio, 2019].
- Fiers, M.; V. Edel-Hermann; C. Chatot; Y. Le Hingrat; C. Alabouvette; C. Steinberg. 2012. Potato soil-borne diseases. A review. Agron. Sustain. Dev. 32: 93-132. DOI 10.1007/s13593-011-0035-z. Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 32 (1): 93-132.
- Gardan, L. 2003. Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53: 381–391.

- Garza, J. A. G.; T. J. Blom; W. Brown; W. Allen. 2002. Pre and post-plant applications of copper-based compounds to control *Erwinia* soft rot of calla lilies. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 24(3): 274-280.
- Gayathiri, F.; B. Bharathi; K. Priya. 2018. Study of the enumeration of twelve clinical important bacterial populations at 0.5 McFarland Standard. *International Journal of Creative Research Thoughts*. 6(2): 880-893.
- Hernández, Y.; G. Trujillo. 2003. Sulfato de estreptomicina para el control de bacterias en plantas ornamentales. *Fitopatol. Venez.* 16: 46-47. (Abstract).
- Kubheka, G.C.; T.A. Coutinho; N. Moleleki; L.N. Moleleki. 2013. Colonization patterns of an mCherry-tagged *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* strain in potato plants. *Phytopathology* 103: 1268-1279.
- Long, H.H.; N. Furuya; D. Kurose; M. Takeshita; Y. Takanami. 2003. Isolation of endophytic bacteria from *Solanum* sp. and their antibacterial activity against plant pathogenic bacteria. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* 48(1-2): 21-28.
- Lorian, V. 1980. Antibiotics in laboratory medicine. Department of Pathology Albert Einstein College of Medicine, New York. USA. 432 p.
- Mariano, R.; A. Gomes; S. Michereff; S. Assis; E. Silveira. 2005. Antagonismo de bacterias a fitopatógenos. Manual de prácticas en fitopatología. 2da edición. Universidad Federal Rural de Pernambuco Recife, PE-Brasil. pp.127-135.
- McGhee, G.C.; G.W. Sundin. 2011. Evaluation of kasugamycin for fire blight management, effect on nontarget bacteria, and assessment of kasugamycin resistance potential in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*. 101(2): 192-204.
- Pérombelon, M.C. 2002. Potato diseases caused by soft rot erwinias an overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51: 1-12.
- Powelson, M. 1980. Seasonal incidence and causes of blackleg and a stem rot of potatoes in Oregon. *American Potato Journal* 57: 301-306.
- Quintana, Y.; Y. Hernández; R. Mejías. 2018. Extractos vegetales para el control de *Ralstonia solanacearum* Smith agente causal de la marchitez bacteriana del tomate. *Revista de la Facultad de Agronomía (UCV)* 44(2): 41-52.
- Rahman, M. M.; A. A. Khan; I. H. Mian; A. M. Akanda; M. Z. Alam. 2017. Effect of some chemicals on incidence of potato soft rot disease in Bangladesh. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* 52(2): 135-140.
- Rahman, M.M.; A.A. Khan; M.E. Ali; I.H. Mian; A.M. Akanda; S.B. Abd Hamid. 2012. Botanicals to Control Soft Rot Bacteria of Potato. *The Scientific World Journal*. Volume 2012, Article ID 796472, 6 pages. doi:10.1100/2012/796472.
- Raoul des Essarts, Y.; J. Cigna; A. Quêtu-Laurent; A. Caron; E. Munier; A. Beury-Cirou; V. Hélias; D. Faurea. 2016. Biocontrol of the Potato Blackleg and Soft Rot Diseases Caused by *Dickeya dianthicola*. *Applied and Environmental Microbiology* 82: 268-278.
- Rashid, M.; M. S. M. Chowdhury; N. Sultana. 2013. In-vitro Screening of some Chemicals and Biocontrol Agents against *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, the Causal Agent of Soft Rot of Potato (*Solanum tuberosum*). *The Agriculturists* 11(2): 1-9.
- Reinoso, Y.; L. Casadesus; A. Garcia; J. Gutierrez; V. Alvarez-Rivero. 2006. Aislamiento, seleccion e identificación de bacterias del genero *Bacillus* sp. antagonista de *Pectobacterium carotovorum*. *Fitosanidad* 10: 187-191.

- Rezzonico F.; V.O. Stockwell; B. Duffy. 2009. Plant agricultural streptomycin formulations do not carry antibiotic resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 53(7): 3173-3177.
- Salem, E. A.; Y. M. Abd El-Shafea. 2018. Biological control of potato soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28: 94. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0100-x>
- Samson, R. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder *et al.* 1953) Brenner *et al.* 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zae* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 1415–1427.
- Schaad, N.; J. Jones; W. Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3era ed. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota. USA. 371 p.
- Sigee, D. 1993. Bacterial Plant Pathology, cell and molecular aspects. Cambridge University Press. New York. 325 p.
- Stockwell, V. O.; B. Duffy. 2012. Use of antibiotics in plant agriculture. *Rev. Sci. Tech.* 31: 199–210.
- Sundin, G.W.; N. Wang. 2018. Antibiotic Resistance in Plant-Pathogenic Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 56: 8.1–8.20.
- Toledo, D. 2004. Evaluación *in vitro* del efecto de cepas nativas de la bacteria *Bacillus* sp. en el biocontrol de la bacteria *Erwinia carotovora* [En línea]. Consultado: Septiembre, 2018. Dirección URL: <http://www.bionativa.cl/v1/pdf/tesis/nacillus/t6.pdf>
- Toth, I.; K. Bell; M. Choleva; P. Birch. 2003. Soft Rot Erwiniae: from Genes to Genomes», *Molecular Plant Pathology* 4:17-30.
- Umunna, O.E.; A. B. Anselem. 2014. Control of postharvest rot of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) tuber *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Agriculture and Sustainability* 6(1): 50-68.
- van der Wolf, J.M.; H.S. De Boer. 2007. Potato biology and biotechnology. pp. 595–617. Elsevier, New York, NY.
- Vidaver, A.K. 2002. Uses of antimicrobials in plant agriculture. *Clin Infect Dis.* 1;34 Suppl 3: S107-110. doi: 10.1086/340247. PMID: 11988880.
- Walsh, F.; D.P. Smith; S.M. Owens; B. Duffy; J.E. Frey. 2014. Restricted streptomycin use in apple orchards did not adversely alter the soil bacteria communities. *Front. Microbiol.* 4: 1-8.