

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL**

TRABAJO DE DIPLOMA

***“Estudio Epidemiológico y Etiológico de la Bacteriosis de
la Pitahaya (*Hylocereus undatus*, Britt & Rose), Smith, y
su efecto sobre cinco variedades del cultivo”***

**Autores: Br. Gladys Fabiola Ríos Fornos
Br. Alberto Fabricio Villavicencio Castillo**

**Asesores: Lic. Verónica Guevara Torrez
Ing. MSc. Sergio Pichardo**

**Managua, Nicaragua
Noviembre 1997**

DEDICATORIA

A DIOS:

Que me ha dado alientos de vida, valor y fuerza para seguir.

A MIS PADRES:

María Auxiliadora Fornos Izabá

y

Germán Ríos Lazo,

que siempre me han brindado su apoyo.

A MI HIJO:

Kevin Gustavo Acevedo Ríos,

razón de mi vida.

Br. Gladys Fabiola Ríos Fornos

DEDICATORIA

A DIOS:

Por haberme guiado por el camino correcto.

A MIS ABUELOS:

Donatila, Eliseo y Alfonso,
recientemente fallecidos.

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

Br. Alberto Fabricio Villavicencio Castillo

AGRADECIMIENTO

A la Lic. Verónica Guevara Torrez y al Ing. Sergio Pichardo, quienes nos brindaron su valiosa cooperación y nos dirigieron en todo momento, haciendo posible la culminación de nuestra tesis.

Al Ing. Aurelio Llano por su generoso aporte, el cual enriqueció nuestros conocimientos aplicados en este trabajo.

A la Técnica Cándida Rosa Espinoza Gutierrez, quien nos proporcionó su grandiosa colaboración en las distintas pruebas de laboratorio, de las cuales obtuvimos los resultados ahora presentados.

Al Ing. Guillermo Reyes Castro, por su generosa orientación en Recursos Genéticos (REGEN).

INDICE

Dedicatoria	i
Agradecimiento	iii
Indice	iv
Resumen	vii
I.- Introducción	1
II.- Revisión bibliográfica	2
III.-Objetivos	3
3.1- Objetivo general	3
3.2- Objetivos específicos	3
IV.-Materiales y Métodos	4
4.1- Ubicación del experimento	4
4.2- Fase de campo	4
4.2.1- Agroecología del lugar, colecta de muestra de insectos, malezas y material enfermo de Pitahaya	4
4.2.2- Tipo de suelo	4
4.2.3- Monitoreo del estudio	5
4.3- Fase de laboratorio	5
4.3.1- Análisis de la muestra para determinar el agente causal de la Pudrición de la Pitahaya	5

4.3.2-	Descripción de las pruebas bioquímicas	6
4.3.3-	Aislamiento de la bacteria de tejido de insectos y malezas	8
4.3.4-	Cría de plantas en vitro	9
4.3.5-	Obtención de plantas a través de semillas sexuales	9
4.4-	Fase de invernadero	9
4.4.1-	Prueba de patogenicidad de la bacteria en plantas de tabaco y tomate	9
4.4.2-	Reaislamiento de la bacteria de plantas de tabaco y tomate	10
4.4.3-	Evaluación de cinco variedades de Pitahaya por su reacción ante la bacteria	10
4.4.4-	Inoculación de diferentes variedades de Pitahaya	11
4.5-	Realización de encuestas	11
V.-	Resultado y Discusión	12
5.1-	Identificación de la bacteria	12
5.1.1-	Pruebas bioquímicas	12
5.1.2-	Resultados de las pruebas bioquímicas	13-15
5.2-	Prueba de malezas como hospedero de <u>Erwinia carotovora</u>, Smith	15
5.3-	Resultados de las pruebas de patogenicidad de las plantas de Tabaco y tomate ante la bacteria <u>Erwinia carotovora</u>, Smith	16
5.4-	Plantas procedentes de semillas	16
5.5-	Resultados de la inoculación con <u>Erwinia carotovora</u>, Smith, de las cinco variedades de Pitahaya (cuadros 3, 4, 5)	17-19

VI.- Encuestas	20-21
VII.- Conclusiones	22
VIII.- Recomendaciones	23
IX.- Anexos	24
X.- Bibliografía	25

RESUMEN

En la finca “Quinto Patio” ubicada en la comarca Guanacaste del municipio de Diriomo, Dpto de Granada, se realizó colecta de malezas, insectos y material enfermo de Pitahaya. Los materiales colectados fueron analizados en el laboratorio de Microbiología e invernadero de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Agraria (UNA), ubicada en el km 12 ½ carretera Norte, Managua, Nicaragua.

El propósito del estudio fué determinar el agente causal de la enfermedad denominada Pudrición de la Pitahaya y de sus diseminadores, por medio de pruebas bioquímicas a bacterias aisladas de esquejes de Pitahaya infectados así como a insectos y malezas encontrados en este cultivo.

Los esquejes de Pitahaya colectados presentaron síntomas que catalogamos como sistémicos y localizados. Sistémicos por encontrarse manchas amarillas acuosas en todo el esqueje; localizados por encontrarse manchas oscuras ubicadas en un mismo punto.

En los esquejes de Pitahaya infectados se encontró la bacteria Erwinia carotovora, sbspp carotovora, Smith, que también fué aislada de insectos colectados. En las malezas no se encontró Erwinia, pero sí se encontró la bacteria del género Pseudomonas.

Se inocularon 50 plantas de 5 variedades (Lisa, Orejona, Cebra, Rosa, Chocoya) con las bacterias aisladas de los síntomas sistémicos y localizados, para observar la reacción de cada variedad ante la bacteria Erwinia carotovora, sbspp carotovora, Smith. Los síntomas que se encontraron en las plantas inoculadas fueron manchas oscuras y amarillas claras. Las variedades que presentaron menor reacción a la bacteria Erwinia carotovora, Smith, fueron la Chocoya y la Cebra. Las variedades Rosa, Orejona y Lisa resultaron susceptibles a la inoculación. Seguidamente se procedió al reaislamiento de los síntomas presentados en cada una de las variedades inoculadas, encontrandose que eran causados por Erwinia carotovora.

Se realizaron pruebas de patogenicidad a plantas de tabaco y tomate inoculándolas con la bacteria Erwinia carotovora, Smith. Las plantas mostraron amarillamiento. De estos síntomas se aisló la misma bacteria.

En las zonas de Carazo y Masaya se realizaron encuestas a viveristas. El objetivo de éstas fué determinar el tipo de prácticas que ellos realizan a las plantas de Pitahaya para evitar o controlar el ataque de la bacteriosis y a la vez conocer la reacción de cada una de las variedades ante la bacteria Erwinia carotovora, Smith.

I.- INTRODUCCION

La Pitahaya es un cultivo de importancia potencial en Nicaragua. En la actualidad Nicaragua es uno de los países con las mayores áreas de producción de esta fruta. Dada su aceptación en los mercados de exportación y su singular sabor, en los próximos años se prevé una ampliación considerable de este cultivo en América Central y México (Hessen J., Adolfo A., Tellez N., Lenin A., 1995).

La Pitahaya puede reproducirse por semillas ó por partes vegetativas. Este último tipo de reproducción es el más usual, debido a que las plántulas procedentes de semillas sexuales tienden a degenerarse y su desarrollo es muy lento (Hessen J., Adolfo A., Tellez N., Lenin A., 1995).

El cultivo de la Pitahaya se ve afectado por insectos, plagas y algunas enfermedades. La pudrición causada por la bacteria Erwinia carotovora, Smith, es la enfermedad que más daña este cultivo. Esta enfermedad fué reportada en Nicaragua por primera vez en 1979 como "*Pudrición acuosa*" (BND, 1979).

Los síntomas causados por esta enfermedad no están claramente definidos. Sin embargo la Comunidad Económica Europea reporta que inicia con manchas amarillas pequeñas en los tallos, que crecen a medida que se desarrolla la enfermedad. Luego las manchas se van uniendo hasta cubrir toda la vaina (CEE-ALA, INRA, 1994).

II.- REVISION BIBLIOGRAFICA

“El cultivo de la Pitahaya (*Hylocereus undatus*) es actualmente un cultivo muy promisorio entre los rubros no tradicionales de exportación. Por su excelencia en calidad como fruta fresca exótica ha tenido aceptación y demanda en el mercado internacional” (Hessen J., Adolfo A., Tellez N., Lenin A., 1995).

“En los últimos años el cultivo de la Pitahaya se ha visto afectado por diferentes problemas fitosanitarios, lo que ha obligado a los productores a eliminar algunos lotes o toda la plantación. Entre estos problemas podemos mencionar plagas y enfermedades” (CEE-ALA, INRA, 1994).

“Entre las plagas más importantes en el cultivo de Pitahaya en Nicaragua están: **Metamasius** sp (Picudo Negro), **Cutinus multivales** (Chocorrón ó Mayate Verde), **Leptoglossus zonatus** (Chinche Pata de Hoja), **Atta cephalotes** (Zompopos - Hormigas Cortadoras), **Euphoria** sp (Chocorroncillo Café), pájaros, ratones y garrobo” (Becerra Ochoa L. A., SF).

“El cultivo de la Pitahaya es afectado por varias enfermedades. Sin embargo la Pudrición de la Pitahaya causada por la bacteria **Erwinia carotovora**, Smith, es la enfermedad más importante” (CEE-ALA, INRA, 1994).

La Pudrición de la Pitahaya “es la enfermedad que más daño causa en las plantaciones de Pitahaya en Nicaragua”. “La bacteria que causa la enfermedad puede vivir en los rastrojos ó material vegetativo en estado de descomposición. La alta temperatura y baja humedad relativa favorecen el desarrollo de la bacteria” (Vargas R. Jasmina, 1991; CEE-ALA, INRA, 1994).

Los ataques de la Pudrición de la Pitahaya se presentan con mayor fuerza en la época seca. Desde Octubre se pueden comenzar a ver los síntomas de la enfermedad, que se asocia con el *Ojo de pescado*, producido por el hongo **Dothiorella** sp (CEE-ALA, INRA, 1994).

Otras enfermedades presentes son: Tizón (**Helminthosporium** sp), Pudrición Suave (**Fusarium** sp), Moho Verde (**Penicillium** sp), Ojo de Pescado (**Dothiorella** sp). También se reportan: **Curvularia** sp, **Phoma** sp, **Cladosporium** sp, **Volutella** sp y **Corvospora** sp (Gongora J., Narvaes G., 1994).

III.- OBJETIVOS

3.1- OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de la enfermedad denominada Pudrición del tallo de la Pitahaya.

3.2- OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1.- Evaluar la reacción de cinco variedades de Pitahaya ante la enfermedad conocida como Pudrición del tallo de la Pitahaya ó bacteriosis.
- 2.- Determinar el agente causal de la Pudrición del tallo de la Pitahaya ó bacteriosis a través de diferentes pruebas bioquímicas.
- 3.- Describir los síntomas de la Pudrición del tallo de la Pitahaya ó bacteriosis.
- 4.- Determinar el papel de los insectos y malezas en la Pudrición del tallo de la Pitahaya ó bacteriosis.
- 5.- Determinar las prácticas agronómicas más comunes utilizadas por los viveristas de Pitahaya, en las zonas de Carazo (San Marcos y Jinotepe) y Masaya (Masatepe).

IV.- MATERIALES Y METODOS

4.1- UBICACION DEL EXPERIMENTO

El estudio, que se desarrolló durante el período Enero '95 / Abril '96, se realizó en tres fases: la fase de campo, la fase de laboratorio y la fase de invernadero. La fase de campo se realizó en la finca "Quinto Patio", ubicada en la comarca Guanacaste del municipio de Diriomo, Dpto de Granada. Las fases de laboratorio e invernadero se realizaron en la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria (UNA), ubicada en el km 12 ½ carretera Norte, Managua, Nicaragua.

4.2- FASE DE CAMPO

4.2.1- AGROECOLOGIA DEL LUGAR, COLECTA DE MUESTRAS DE INSECTOS, MALEZAS Y MATERIAL ENFERMO DE PITAHAYA

"La elevación de la comarca Guanacaste es de 450 m s.n.m., con una precipitación promedio anual de 1500 mm. La temperatura anual promedio es de 26° C y la humedad relativa alcanza un 75%." (INETER, 1994).

4.2.2- TIPO DE SUELO

Los suelos de la comarca Guanacaste son de origen volcánico y se caracterizan por tener un alto contenido de carbono orgánico y un alto porcentaje de saturación de bases. Son suelos de textura franca, de moderadamente profundos a profundos, bien drenados, medianamente ácidos ó neutros, con moderada capacidad de retención de humedad. Estos suelos se encuentran en pendientes suaves ó moderadamente escarpadas (Hessen J., Adolfo A., Tellez N., Lenin A., 1995).

4.2.3- MONITOREO DEL ESTUDIO

Se realizaron visitas quincenales a la finca en estudio, para observar el comportamiento de los insectos y el de la enfermedad en el transcurso del tiempo. Seleccionando las plantas al azar en la plantación, se monitoreó la eventual presencia de insectos encima de las vainas. La captura de éstos se realizó de forma manual y/o con redes entomológicas. Se colectaron muestras de maleza utilizando el método del pié². Luego se llevaron al laboratorio para observar si fueran hospederas de la enfermedad.

Para tomar las muestras enfermas de Pitahaya en el campo se cortaron con tijeras de podar los entrenudos de las vainas enfermas, para ser procesadas e identificadas en el laboratorio de Microbiología de la escuela de Sanidad Vegetal.

4.3- FASE DE LABORATORIO

4.3.1- ANALISIS DE LAS MUESTRAS PARA DETERMINAR EL AGENTE CAUSAL DE LA PUDRICION DE LA PITAHAYA

Se tomaron trozos de tejido afectado y sano. Se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 5% por dos minutos y se enjuagaron con agua estéril. Luego se introdujeron en un erlenmeyer que contenía 100 ml de agua destilada estéril y se agitaron durante 5 minutos, para permitir que todo se homogeneizara. Se dejó en reposo durante 15 minutos. Posteriormente se hicieron diluciones en serie hasta alcanzar la dilución final de 10^{-6} , con el objetivo de facilitar una mejor distribución en el medio y obtener colonias más aisladas. Seguidamente se esparció 0.1 ml de la dilución con una espátula de Drigalski en platos petri con ANG (Agar Nutriente Glucosado).

Una vez que se obtuvieron las colonias bacterianas, se procedió a la identificación de éstas utilizando diferentes pruebas bioquímicas.

4.3.2- DESCRIPCION DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS

Estas pruebas permiten conocer si la bacteria es capaz de producir determinadas enzimas, para que al mezclarla con un reactivo establecido nos indique el género, especie y subespecie y nos permita determinar el agente causal de la Pudrición de la Pitahaya. Después de los resultados de las pruebas bioquímicas, se recurre a publicaciones especializadas para su comparación y descripción (Lelliot R. A., Stead D. E., 1978).

Las pruebas bioquímicas utilizadas fueron:

4.3.2.1- Prueba de oxidasa: se aplicó a un cultivo bacterial de 24 horas de edad.

Se tomó con un asa de platino esterilizada una parte del cultivo puro y se depositó en un pedazo de papel filtro. Seguidamente se le añadió una gota de Tetramethyl Phenylene Diamine Dihydrochloride al 1% para observar la reacción.

4.3.2.2- Prueba de catalasa: se tomó con una asa de platino esterilizada una

parte del cultivo puro y se depositó en un pedazo de papel filtro. Sucesivamente se mezcló con una gota de peróxido de hidrógeno al 3%.

4.3.2.3- Prueba de KOH: se tomó con una asa de platino esterilizada una parte

del cultivo puro y se depositó en un pedazo de papel filtro. Se añadió una gota de hidróxido de potasio (KOH) y se removió con el asa para espesarlo.

4.3.2.4- Pudrición suave del tejido de papa: los tubérculos de papa se lavaron con agua corriente y se sumergieron en alcohol al 70%. La papa se flameó y se cortó en rodajas de aproximadamente 7 mm de espesor. Las rodajas se depositaron en un plato estéril y se les hizo un surco en forma de “v” en la superficie. Se agregó agua destilada estéril al plato, no cubriendo las rodajas de papa. Sucesivamente se depositó una buena cantidad del cultivo puro en el centro de la “v” y se incubaron las rodajas a una temperatura de 30° C por 24 horas.

4.3.2.5- Prueba de oxidación-fermentación (OF): esta prueba fué realizada con cultivos aislados de síntomas sistémico y localizado. Se utilizaron 6 tubos: dos con parafina, dos sin parafina y dos de control. Seguidamente se inoculó la bacteria en los 4 primeros tubos y se observó la reacción producida.

4.3.2.6- Reducción de sacarosa: esta prueba se utilizó para diferenciar entre Erwinia carotovora, sbsp carotovora y atroseptica. Se tomaron 5 gr de sacarosa, 1,25 gr de peptona, 0,625 gr de extracto de levadura, 125 ml de agua destilada. Los reactivos se colocaron en un beaker y se removieron con un agitador de vidrio para homogeneizar la solución. Seguidamente la solución, vertida en tubos de ensayo, se introdujo en la autoclave por 15 minutos y luego se dejó enfriar. Sucesivamente se realizó la inoculación en tres tubos que contenían colonias aisladas con síntoma sistémico y en tres tubos que contenían colonias aisladas con síntoma localizado. Se dejaron los tubos como control de la prueba que se estaba realizando. A las 48 horas se agregó 1 ml de la solución de Benedith a cada uno de los tubos de ensayo. Luego se agitaron y se colocaron en agua hirviendo por 10 minutos. Seguidamente se observó la reacción en cada tubo.

4.3.3- AISLAMIENTO DE LA BACTERIA DE TEJIDO DE INSECTOS Y MALEZAS

Los insectos fueron colectados al azar, de forma manual y/o con redes entomológicas y fueron colocados en bolsas plásticas. Seguidamente fueron llevados al laboratorio donde se procedió a separar la cabeza del cuerpo del insecto. Las partes fueron desinfectadas con hipoclorito al 5% por 2 minutos y luego se lavaron con agua destilada estéril.

Sucesivamente se maceraron y se colocaron en platos petri que contenían el medio ANG. Los platos fueron incubados a 32° C por 24 horas. Después de este tiempo se realizaron las pruebas bioquímicas KOH, Catalasa, Oxidasa y Papa.

Se colectaron al azar muestras de malezas de las especies **Bidens pilosa** (canotillo), **Digitaria sanguinalis** (manga larga), **Cyperus ferax** (coquito), **Sida acuta** (escoba lisa). Seguidamente fueron colocadas en bolsas plásticas y llevadas al laboratorio de Microbiología de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria (UNA).

De las muestras se utilizaron solamente las hojas, que fueron lavadas con agua destilada y cortadas en pequeños trozos. Posteriormente fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5% durante 2 minutos. Seguidamente las hojas fueron maceradas y el extracto fué vertido en platos petri conteniendo ANG, para obtener crecimiento bacterial en el caso de que fueran hospedantes alternos del patógeno.

4.3.4- CRIA DE PLANTAS EN VITRO

Del material experimentado "vaina" se seleccionaron plantas que presentaban un desarrollo normal en el campo. Para evitar contaminación, las vainas fueron tratadas sumergiéndolas en una solución de cloro al 5% por 2 minutos. Luego se extrajo el punto de crecimiento (donde sale la espina) y se colocó en una solución nutritiva para que posteriormente se desarrollara.

4.3.5- OBTENCION DE PLANTAS A TRAVES DE SEMILLAS SEXUALES

Se seleccionaron algunos frutos y se extrajeron las semillas. Estas fueron lavadas y secadas sobre platos petri por tres días. Luego se procedió a desinfectarlas con una solución de cloro al 5% durante 2 minutos. Sucesivamente fueron lavadas otra vez con agua destilada y sembradas en un medio nutritivo (tres semillas por tubo).

4.4- FASE DE INVERNADERO

4.4.1- PRUEBA DE PATOGENICIDAD DE LA BACTERIA EN PLANTAS DE TABACO Y TOMATE

Para la inoculación de la bacteria se tomó el cultivo puro, obtenido 48 hrs después de la siembra. Se adicionó agua destilada estéril al plato petri, raspándose el crecimiento bacteriano con una asa de platino. Se preparó la suspensión bacteriana, cuya concentración fué estimada densitométricamente a 10^9 , y cuyo aspecto se presentó visiblemente turbio contra la luz.

Con un palillo estéril humedecido con dicha suspensión se pincharon e inocularon las hojas de las 20 plantas de tomate y tabaco. Seguidamente se dejaron en el invernadero por 24 hrs, cubriéndolas con bolsas negras para crear una cámara húmeda y tener éxito en la inoculación.

4.4.2- REAISLAMIENTO DE LA BACTERIA DE PLANTAS DE TABACO Y TOMATE

Posteriormente se observaron los síntomas y se procedió a reaislar la bacteria, para confirmar si dichos síntomas fueron causados por la bacteria Erwinia carotovora, Smith.

Después de siete días de inoculadas, las plantas de tabaco y tomate fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología para efectuar el reaislamiento. Se tomaron cuatro hojas de cada cultivo y se maceraron por separado con un mortero estéril. La suspensión resultante fué sembrada en un plato petri conteniendo ANG (Agar Nutriente Glucosado).

4.4.3- EVALUACION DE CINCO VARIEDADES DE PITAHAYA POR SU REACCION ANTE LA BACTERIA

Se añadió agua estéril a los platos que contenían las colonias de bacterias, las cuales luego fueron removidas con un asa estéril. Se ubicaron las colonias en tubos de ensayo que contenían agua esterilizada. Luego los tubos fueron colocados en el agitador por 1 minuto, para alcanzar la máxima turbidez y seguidamente ser llevados al lugar donde se realizó la inoculación a cada una de las variedades.

4.4.4- INOCULACION DE DIFERENTES VARIEDADES DE PITAHAYA

Se inocularon 50 plantas de Pitahaya de cinco variedades: Cebra, Lisa, Orejona, Rosa y Chocoya con las bacterias aisladas a partir de los tipos de síntomas localizado y sistémico.

De las 50 plantas, se inocularon 25 con la bacteria aislada de síntomas sistémicos y 25 con la bacteria procedente de síntomas localizados. La inoculación se hizo con aguja hipodérmica. Se inyectaron 2 cc de solución a cada una de las plantas. Se cubrieron las plantas con bolsas negras de polietileno, para crear condiciones de cámara húmeda. Se destaparon a las 48 horas, que es el tiempo en que la bacteria presenta sus primeros síntomas. Se anotaron y describieron los síntomas presentados por cada una de las variedades inoculadas, tomando datos hasta 120 horas después de la inoculación.

4.5- REALIZACION DE ENCUESTAS

Se realizaron encuestas a viveristas de las zonas de Carazo (San Marcos, Jinotepe) y de Masaya (Masatepe), para saber si ellos identifican la enfermedad conocida como Pudrición de la Pitahaya y a la vez para conocer las prácticas más comunes que ellos realizan para prevenir esta enfermedad. Querriamos además conocer el grado de resistencia observado por los viveristas en las diferentes variedades Cebra, Lisa, Orejona, Rosa y Chocoya (ver Anexos).

V.- RESULTADOS Y DISCUSION

5.1- IDENTIFICACION DE LA BACTERIA

5.1.1- PRUEBAS BIOQUIMICAS

Las pruebas bioquímicas realizadas demostraron que la bacteria que ataca las vainas o el tallo de Pitahaya es la Erwinia carotovora, sbspp carotovora, Smith, obtenida y aisladas de vainas de Pitahaya infectadas (cuadro 1).

Las colonias que crecieron en el medio ANG (Agar Nutriente Glucosado) fueron lisas y de color blanco cremoso.

El grupo de la Erwinia carotovora, Smith, se conoce por ser causante de podredumbres blandas, caracterizadas por la pudrición extracelular de grandes cantidades de enzimas pectolíticas y celulolíticas responsables de la maceración del tejido (Lelliot R. A., Stead D. E., 1978).

CUADRO 1: RESULTADO DE LA PRUEBAS REALIZADAS A LA BACTERIA AISLADA DE VAINAS DE PITAHAYA AFECTADAS POR PUDRICION. UNA, Managua, Nicaragua, 1995

PRUEBAS	RESPUESTAS
Prueba de Oxidasa	Negativa
Prueba de Catalasa H ₂ O ₂	Positiva
KOH	Negativa
Pudrición suave del tejido de papa	Positiva
Prueba de Oxidación - Fermentación	Positiva
Reducción de saccarosa	Negativa

En este cuadro se observan los resultados de las pruebas realizadas a la bacteria Erwinia carotovora, Smith.

5.1.2- RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS

Prueba de oxidasa: en el cultivo puro untado en el papel filtro después de cinco segundos no apareció un color azul violeta oscuro. Esto indicó que la prueba era negativa. Esta prueba generalmente es negativa para el género Erwinia, siendo positiva para las demás bacterias fitopatógenas.

Prueba de catalasa: la reacción que observamos fué la aparición inmediata de burbujas, lo que indicó que la prueba era positiva. La bacteria es capaz de producir enzima catalasa que permite el desdoblamiento del peróxido de hidrogeno de agua oxigenada a agua.

Prueba KOH: la reacción que observamos fué la formación de un hilo mucoso que se prendía del asa. Esto indicó que la prueba era negativa. Esta prueba permite también averiguar si la bacteria es gram negativa o gram positiva. Los resultados observados indicaron que la bacteria es gram negativa.

Prueba de pudrición suave de tejido de papa: al insertar el asa en la papa se comprobó que había una pudrición suave con coloración blanco cremoso en el interior del tubérculo y un desprendimiento de olor fétido. Estos resultados indicaron que la prueba era positiva. Una cepa bacteriana pertenece al género Erwinia cuando se presenta pudrición blanda en un tiempo de 24 horas. De no ser así nos encontraríamos en presencia de otro tipo de bacterias fitopatógenas.

Prueba de oxidación - fermentación (OF): la reacción produjo una coloración amarilla en la parte superior de algunos de los tubos, indicando que la prueba era positiva.

Prueba de reducción de sacarosa: la colonia de bacterias al interior del tubo que contenía síntomas sistémicos resultó de color café. En el tubo que contenía síntomas localizados la colonia no presentó este color. Esto indicó que la prueba era negativa. (Lelliot R. A., Stead D. E., 1978).

La bacteria causante de la podredumbre en la Pitahaya se disemina a través de los chinches (Leptoglossus zonatus, Dallas) que pertenecen al orden Hemiptera y a la familia Coreidae y a través de hormigones (Atta cephalotes) que pertenecen al orden Hymenoptera y a la familia Formicidae. Estos, además de ser portadores, permiten la entrada de otros patógenos, ya que dañan las vainas al alimentarse de ella (CEE-ALA, INRA, 1994).

Los extractos obtenidos del maceramiento de los especímenes, en la realización de las distintas pruebas bioquímicas, comprobaron que los insectos son portadores de la bacteria Erwinia carotovora, Smith (cuadro 2).

CUADRO 2: RESULTADO DE LAS PRUEBAS REALIZADAS AL CULTIVO PURO DE LA BACTERIA AISLADA DE INSECTOS COLECTADOS EN EL CULTIVO DE PITAHAYA. UNA, Managua, Nicaragua, 1996

ESPECIMEN	PRUEBA DE CATALASA	PUDRICION SUAVE DE TEJIDO DE PAPA	PRUEBA DE OXIDASA	PRUEBA KOH
Chinches Pata de hoja	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa
Hormigones	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa

Los resultados obtenidos de las pruebas nos indican que estos insectos son portadores de la bacteria Erwinia carotovora, Smith.

Los chinches y los hormigones son insectos muy frecuentes en los plantíos de Pitahaya. Se alimentan de vainas y brotes tiernos y son diseminadores de la enfermedad conocida como bacteriosis o Pudrición de la Pitahaya.

5.2- PRUEBA DE MALEZAS COMO HOSPEDERO DE Erwinia carotovora, Smith

Las malezas Bidens pilosa (Canutillo), Digitaria sanguinalis (Manga Larga), Cyperus ferax (Coquito) y Sida acuta (Escoba Lisa), que fueron sometidas a las pruebas, no resultaron ser hospederos de la bacteria. Sin embargo se obtuvo crecimiento de bacterias del género Pseudomonas que frecuentemente atacan a las hortalizas, lo que indica que las malezas colectadas que se encuentran comúnmente en los plantíos de Pitahaya no son reservorio de la bacteriosis causada por Erwinia.

5.3- RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE PATOGENICIDAD DE LAS PLANTAS DE TABACO Y TOMATE ANTE LA BACTERIA Erwinia carotovora, Smith

Las plantas de tabaco y tomate que fueron inoculadas con la bacteria mostraron amarillamiento y las hojas perdieron turgencias poco a poco hasta secarse. La bacteria fué reaislada y se demostró que los síntomas en las plantas eran causados por la bacteria Erwinia carotovora, Smith. Se ha encontrado Erwinia carotovora, Smith, en cultivos tales como caña de azúcar, cebolla, maíz y tomate. Por lo tanto no se recomienda asociar Pitahaya con estos cultivos, ni al momento de su establecimiento ni durante su desarrollo (M.A.G., 1993-1994).

5.4- PLANTAS PROCEDENTES DE SEMILLAS

Las plantas procedentes de semillas de Pitahaya germinaron a los siete días de sembradas. A los 30 días se inocularon con la bacteria Erwinia carotovora, Smith. El síntoma obtenido fué una coloración oscura de tejidos secos. No se presentaron los síntomas característicos que se observan en plantas adultas. Nunca se ha visto a la bacteria atacando brotes tiernos: probablemente por ésto las plantas no fueron dañadas. La lesión que se observó fué provocada por el pinchazo y no por el crecimiento de la bacteria.

CUADRO 3: RESULTADO DE LA INOCULACION CON Erwinia carotovora, Smith, DE LAS CINCO VARIEDADES DE PITAHAYA QUE MAS SE SIEMBRAN EN NICARAGUA, 48 HORAS DESPUES DE INOCULADA LA BACTERIA. UNA, Managua, Nicaragua, 1996

SINTOMA		V A R I E D A D				
		Lisa	Orejona	Cebra	Rosa	Chocoya
SISTEMICO	Punto amarillo	Manchas oscuras	Manchas amarillentas	Manchas oscuras	No se observó claramente	
	Punto color café oscuro	Manchas oscuras	Manchas amarillentas	Manchas oscuras	No se observó claramente	

- ◆ No hubo diferencias en el efecto de los síntomas aislados sistémicos y localizados sobre la enfermedad.
- ◆ Las variedades reaccionaron de diferente forma, debido al grado de resistencia de cada una de ellas.
- ◆ Posiblemente la variedad Chocoya sea la menos afectada, no presentando claramente los síntomas en las vainas. Esto indica que esta variedad es menos susceptible a la bacteriosis en relación con las otras variedades, como aseguran también la Cooperativa Humberto Tapia y el Centro Experimental Campos Azules.

CUADRO 4: RESULTADO DE LA INOCULACION CON Erwinia carotovora, Smith, DE LAS CINCO VARIEDADES DE PITAHAYA QUE MAS SE SIEMBRAN EN NICARAGUA, 72 HORAS DESPUES DE INOCULADA LA BACTERIA. UNA, Managua, Nicaragua, 1996

SINTOMA		VARIEDAD			
	Lisa	Orejona	Cebra	Rosa	Chocoya
SISTEMICO	Halo amarillo intenso; en el centro oscuro	Manchas negras con halo amarillo	Manchas amarillo intenso	Manchas oscuras con halo amarillento acentuado	Manchas oscuras, algunas negras
	Punto negro de consistencia suave	Manchas negras con halo amarillo	Manchas amarillo intenso, más pequeñas	Manchas oscuras con halo amarillento acentuado	Manchas oscuras, algunas negras

La bacteria Erwinia carotovora, Smith, al ser inoculada en las plantas de Pitahaya, puede presentarse en la forma sistémica ó localizada*.

De acuerdo con las pruebas bioquímicas realizadas, podemos asegurar que los síntomas sistémico o localizado que se presentan en los tallos de Pitahaya son causados por la bacteria Erwinia carotovora, Smith.

* sistémica: por encontrar manchas amarillas acuosas en toda la vaina; localizada: por encontrar manchas oscuras ubicadas en un mismo punto, no extendidas a lo largo de la vaina.

CUADRO 5: RESULTADOS DE LA INOCULACION CON Erwinia carotovora, Smith, DE LAS CINCO VARIETADES DE PITAHAYA QUE MAS SE SIEMBRAN EN NICARAGUA, 120 HORAS DESPUES DE INOCULADA LA BACTERIA. UNA, Managua, Nicaragua, 1996

SINTOMA	VARIEDAD				
	Lisa	Orejona	Cebra	Rosa	Chocoya
SISTEMICO	Afectación casi total; síntomas suaves	En la mayoría se extendieron manchas de color amarillo con café	Manchas reducidas de color negro, sin avance	Se extendieron manchas de color amarillo con café	Manchas reducidas
LOCALIZADO	Afectación casi total; síntomas suaves	En la mayoría se extendieron manchas de color amarillo con café	Manchas reducidas de color negro, sin avance	Se extendieron manchas de color amarillo con café	Manchas reducidas

- ◆ Las variedades menos afectadas son la Chocoya y la Cebra, ya que los síntomas retardan y se reducen al final de la prueba. Esto indica que estas variedades son más resistentes de las otras utilizadas en el estudio.
- ◆ Posiblemente la bacteria aislada de los dos síntomas, sistémico y localizado, sea la misma. Para la confirmación de estos resultados se necesita comprobar, a través de ulteriores estudios, si los síntomas presentados en cada una de las variedades son los mismos.

Los cuadros antes presentados reflejan el grado de resistencia de las variedades de Pitahaya Lisa, Orejona, Cebra, Rosa y Chocoya, ante la inoculación realizada con la bacteria Erwinia Carotovora, Smith, a partir de los síntomas sistémico y localizado.

VI.- ENCUESTAS

- ASPECTOS DE LOS CONOCIMIENTOS ACERCA DE LA REACCION DE ALGUNAS VARIEDADES DE PITAHAYA ANTE LA ENFERMEDAD CONOCIDA COMO PUDRICION DEL TALLO CAUSADA POR LA BACTERIA Erwinia carotovora, Smith*

N° de encuestados	Nombres ó institución y Municipio	Resistencia de variedades	Conocimiento e identificación de la enfermedad
1	Ing. Javier Alemán Masatepe	no tiene definidas las variedades	la conoce y la identifica a través de los síntomas presentados ante el ataque de la bacteria
2	Centro Experimental Campos Azules Masatepe	Chocoya RM Lisa S Cebra RM Rosa R Orejona S	la conoce y la identifica a través de los síntomas presentados ante el ataque de la bacteria
3	Chelol Cooperativa Humberto Tapia Jinotepe	no tiene datos de observación de la enfermedad en viveros	la conoce y la identifica a través de los síntomas presentados ante el ataque de la bacteria
4	Félix Vásquez San Marcos	Chocoya RM Lisa S Cebra R Rosa RM Orejona RM	la conoce y la identifica a través de los síntomas presentados ante el ataque de la bacteria

Claves:

S = Susceptible: la planta no tiene la capacidad de resistir el efecto de la enfermedad.

RM = Resistencia Media: la planta tiene la capacidad de superar parcialmente el efecto de un patógeno u otro factor perjudicial.

R = Resistente: la planta tiene la capacidad suficiente para superar total o parcialmente el efecto de un patógeno u otro factor perjudicial.

*: encuesta realizada en Enero 1997 en algunas plantaciones de los departamentos de Masaya y Carazo.

- ASPECTOS FITOSANITARIOS PARA LA PREVENCIÓN DE LA BACTERIA Erwinia carotovora, Smith*

N° de Encuestados	Nombres ó institución y Municipio	Desinfección de Herramientas	Procedencia del material vegetativo	Tratamiento a Plantas Enfermas
1	Ing. Javier Alemán Masatepe	Cloro al 3 %	Sn. Ignacio	Cirugía y Agrimisin 100
2	Centro Experimental Campos Azules Masatepe	Formalina	de sus plantaciones	Eliminación de Plantas
3	Chelol Cooperativa Humberto Tapia Jinotepe	Formalina	de sus plantaciones	Cirugía y Sellante Dithane M 45
4	Félix Vásquez San Marcos	Cloro al 3 %	Sn. Ignacio	Cirugía y Sellante Dithane M 45

encuesta realizada en Enero 1997 en algunas plantaciones de los departamentos de Masaya y Carazo.

VII.- CONCLUSIONES

- 1.- Las pruebas bioquímicas determinaron que en las muestras de tejidos infectados analizadas sólo existían bacterias Erwinia carotovora, sbsp carotovora.
- 2.- A través de las pruebas de patogenicidad realizadas a las plantas de tabaco y tomate se demostró y se comprobó que la bacteria Erwinia carotovora es patogénica.
- 3.- Los insectos chinches pata de hoja (Leptoglossus zonatus) y hormigones (Atta cephalotes) son portadores de la bacteria Erwinia carotovora, Smith, y podrían jugar un papel importante en su disseminación que causa la Pudrición del tallo de la Pitahaya.
- 4.- De las cinco variedades inoculadas Lisa, Orejona, Cebra, Rosa y Chocoya, sólo la Chocoya y Cebra mostraron escasa afectación por la bacteria Erwinia carotovora, sbsp carotovora, Smith.
- 5.- Según datos revelados por las encuestas, los viveristas no identifican de manera homogénea las reacciones de las diferentes variedades de Pitahaya ante la enfermedad conocida como Pudrición del tallo. Sin embargo logran identificar dicha enfermedad y realizan prácticas agronómicas y fitosanitarias para prevenirla.

VIII.- RECOMENDACIONES

- 1.- Se recomienda realizar estudios con un mayor número de pruebas bioquímicas y serológicas, para determinar si cada sintomatología sea causada por un sólo pv.
- 2.- Para estudios posteriores se deberá realizar el aislamiento de cada insecto por separado, para conocer el porcentaje de diseminación en cada uno de ellos y así correlacionar insectos, malezas y enfermedades con respecto al tiempo.
- 3.- Al momento de observar síntomas de bacteriosis en las vainas de Pitahaya dentro de la plantación, se recomienda realizar saneamiento en las plantas afectadas, cortando los esquejes afectados desde los entrenudos.
- 4.- Controlar los insectos chinches pata de hoja (Leptoglossus zonatus) cuando se encuentren en grupos numerosos y difundidos por toda la plantación. Controlar también los hormigones (Atta cephalotes) cuando se observen grandes poblaciones. El objetivo de estos controles es prevenir la difusión de la enfermedad mencionada en las distintas variedades de Pitahaya existentes en Nicaragua.

IX.- ANEXOS

FORMATO DE ENCUESTAS REALIZADAS A VIVERISTAS EN LOS DEPARTAMENTOS DE CARAZO Y MASAYA

I - Datos generales

1 - Nombre del productor;

2 - Ubicación de la unidad de producción (UP): municipio, comarca.

II - Datos del cultivo

1 - Variedad utilizada;

2 - Resistencia de variedades;

3 - Procedencia del material vegetativo;

4 - Desinfección de las herramientas de trabajo.

III - Plagas más comunes

1 - Práctica de control ó manejo;

2 - Productos químicos utilizados.

IV - Enfermedades más comunes

1 - Síntomas observados;

2 - Prácticas de control ó manejo;

3 - Productos químicos utilizados.

X.- BIBLIOGRAFIA

- ♣ AGRIOS G. N., 1991, **Fitopatología** (trad. Guzmán Ortiz M.), 5ta. reimp., Limusa, Mexico. pp 524-525
- ♣ BECERRA OCHOA L. A., SE, **El cultivo de la Pitahaya**, 7ma. edición, Litografía Cafetera Ltda., Manizales. p 13
- ♣ BND, 1979, **Manual de sistemas para la producción de Pitahaya**, Managua, Nicaragua. p 13
- ♣ GONGORA J., NARVAEZ G., 1994, **Manejo fitosanitario de la Pitahaya. Enfermedades.** Primer Encuentro Nacional del Cultivo de la Pitahaya; San Marcos, Carazo, Nicaragua. pp 99-104
- ♣ HESSEN J., ADOLFO A., TELLEZ N., LENIN A., 1995, **La Pitahaya se abre paso.** Agricultura de las Americas, vol. 44. Overland, EEUU. pp 6-8
- ♣ INTA, 1996, **Cultivo de la Pitahaya**, Guía Tecnológica, vol. 6. Managua, Nicaragua. p 15
- ♣ KLEMENT Z., RUDOLPH K., SAND D.C., 1990, **Methods in Fitobacteriology**, Academy Kiado, Budapest. p 110
- ♣ LELLIOT R. A., STEAD D. E., 1978, **Methods for the Diagnostic of bacterial diseases of plants**, Ed. Blackwell Scientific Publication, London. pp 190-199
- ♣ MAG, 1971, **Levantamiento de los suelos de la región pacífica de Nicaragua. Descripción de suelo**, vol. 2. Managua, Nicaragua. p 375
- ♣ MAG, 1993-1994, **Catálogo de plagas (bacterias, hongos, nemátodos e insectos) de la Pitahaya (*Hylocereus undatus*, Britt & Rose)**, Managua, Nicaragua. p 1-7
- ♣ PROYECTO CEE-ALA 86/30, 1994, Gobierno de Nicaragua; Desarrollo de la producción agrícola en la zona de la Meseta: **Guía tecnológica para la producción de Pitahaya**, 2da. edición, San Marcos, Carazo, Nicaragua. p 93
- ♣ ROMERO M. AMINTA, 1994, **Manejo fitosanitario de la Pitahaya en Nicaragua. Insectos.** Primer Encuentro Nacional del Cultivo de la Pitahaya, San Marcos, Carazo, Nicaragua. pp 91-96
- ♣ TALAVERA T., 1996, **Estudios de la dinámica de fósforo, nitrógeno y materia orgánica de los suelos volcánicos de Nicaragua** (No publicado)
- ♣ VARGAS R. JASMINA, 1991, **Diagnóstico bacteriológico del cultivo de la Pitahaya (*Hylocereus ocamponis*, Britt & Rose) en el municipio de La Concepción, Masaya** (No publicado)