

Primer reporte de *Pectobacterium* spp. asociada a *Opuntia ficus* en Baja California, México

First report of Pectobacterium spp. associated to Opuntia ficus in Baja California, México

Ariana Isabel Torres-Bojórquez¹; Lourdes Cervantes-Díaz¹;
Fidel Núñez-Ramírez¹; Antonio Morales-Maza^{2*}; Blancka Yesenia Samaniego-Gómez³

RESUMEN

Durante el ciclo de producción 2013-2014, se detectó la presencia de pudriciones blandas en plantas de nopal (*Opuntia ficus* cv Chicomostoc) en el Valle de Mexicali y Zona Costa de Baja California. El objetivo del presente trabajo fue determinar el agente causal de dichos síntomas, por lo que cladodios infectados fueron colectados y analizados con pruebas bioquímicas y fisiológicas, así como de patogenicidad. Basado en los resultados de las pruebas, el agente causal de las pudriciones blandas observadas en nopal fue *Pectobacterium* spp. Este es el primer reporte de dicha bacteria en la zona de Baja California.

Palabras clave: *Opuntia ficus*, pudrición blanda, *Pectobacterium*.

ABSTRACT

During the 2013-2014 production cycle, the presence of soft rot in *Opuntia ficus* cv Chicomostoc plants in the Mexicali Valley and West Coast of Baja California. The aim of this study was to determine the etiological agent of those symptoms, so infected pads were collected and proceeded to run morphological, physiological, and pathogenicity tests as well. Based on the results of the tests, the etiological agent of the soft rot observed in *Opuntia* was *Pectobacterium* spp. This is the first report of this bacteria in the Baja California area.

Key words: *Opuntia ficus*, soft rot, *Pectobacterium*.

En México, el nopal (*Opuntia ficus*) es un cultivo de importancia por su valor cultural y económico; sin embargo, el nopal también ha tenido una gran aceptación en el mundo, por sus valores nutricionales y múltiples usos. De ahí, su relevancia en las regiones en las que se cultiva (Coronado *et al.*, 2004; Stintzing, y Carle, 2005); asimismo, la producción de nopal ocupa el 2.2% de la superficie sembrada de hortalizas. Los principales estados productores son el Distrito Federal y Morelos (Financiera rural, 2011; SIAP, 2014). Para el caso del estado de Baja California se trata de un cultivo alternativo de reciente introducción con alta demanda para el estado y con potencial de exportación.

Recientemente se han observado plantaciones comerciales de nopal con cladodios presentando

decoloración de cutícula tipo clorosis, presencia de puntos pequeños de color café que con el tiempo crecen y forman manchas circulares con aspecto húmedo y pudriciones blandas, que desprenden olores fétidos, ubicadas en la parte apical del cladodio, en estados avanzados de la enfermedad se presenta pudrición en la base de la planta, que asciende y puede observarse al realizar cortes transversales en los cladodios; dichas pudriciones indican que el daño a la planta pudiera estar asociado a bacterias (Varvaro *et al.*, 1993; Corbo *et al.*, 2003), por lo que el objetivo del estudio fue identificar el agente patógeno responsable de la enfermedad.

Durante el ciclo agrícola 2013-2014 se colectaron 15 muestras de plantas de nopal verdura variedad Chicomostoc, provenientes

¹ Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, Baja California. México.

² INIFAP Campo Experimental Mexicali. Mexicali, Baja California.

³ Instituto Tecnológico de Conkal. Conkal, Yucatán, México.

* Corresponding Autor: morales.antonio@inifap.gob.mx.

de plantaciones comerciales de dos a tres años de edad establecidos en el valle de Mexicali y Zona Costa de Ensenada, Baja California. De las plantas enfermas se seleccionaron cladodios que presentaban diferentes grados de pudrición y asintomáticos. Fragmentos de cladodios con síntomas se lavaron y desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante un minuto, se trituraron y se colocaron en tubos con agua destilada estéril (ADE) para incubar tres horas. Posteriormente, se realizó la técnica de dilución en serie con el mismo líquido y se depositaron, y estriaron con ayuda de un asa de platino, 100 μ L (dilución 10^3 y 10^4) en cajas de Petri con medio papa dextrosa agar (PDA). Finalmente, las cajas se dejaron en incubadora a 28 ± 2 °C, durante 72 horas, haciendo observaciones cada 24 horas hasta la presencia de colonias bacterianas. De las colonias que presentaron distintas características se realizaron resiembras, de las que se determinaron sus características morfológicas y culturales: tamaño, forma, borde, elevación, aspecto o consistencia y características a la luz reflejada y transmitida en un microscopio estereoscópico y bajo luz ultravioleta a una longitud de onda de 360 nm. Además se realizaron pruebas bioquímicas y fisiológicas como tinción de Gram, prueba de Ryu, producción de oxidasa y catalasa, hidrólisis de almidón y licuefacción de gelatina. Adicionalmente se llevaron a cabo pruebas de patogenicidad, utilizando tubérculos de papa de la variedad Roset, previamente lavados con agua y jabón, y desinfectado con alcohol e hipoclorito al 3% y fueron cortados en rodajas, y en una caja de Petri con papel filtro humedecido con ADE, se colocaron tres rodajas de papa. Con un bisturí estéril se inoculó con la bacteria haciendo una incisión en el centro de las rodajas, además de un testigo (sin inocular). Las cajas se incubaron a 28 °C y se realizaron observaciones cada 24 horas. Para todas las pruebas se utilizaron cultivos bacterianos de 48 horas de crecimiento mantenidos a 28 °C y siguiendo metodología especializada (Schaad, 1988; Goto, 1992, Boyraz *et al.*, 2006).

Los resultados de los aislamientos fueron colonias bacterianas de crecimiento lento que se apreciaron hasta las 48 horas después de su siembra, estas fueron pequeñas, de color blanco-grisáceo,

circulares-puntiformes, con elevación convexa a cupuliforme y contorno entero. Bajo luz reflejada la colonia fue blanca y opaca bajo luz transmitida, y con consistencia seca. Bajo luz ultravioleta a 360 nm no se detectó que las bacterias produjeran un fluorocromo (fluorescencia), lo que descartó la posibilidad que la bacteria en estudio perteneciera al género *Pseudomonas*. Posteriormente, a las 72 horas después de su siembra, el medio de cultivo empezó a presentar coloración café-oscuro que con el transcurso de los días se fue intensificando. Por medio del microscopio óptico, se observó la presencia de gránulos oscuros, lo que indicó que la bacteria era capaz de producir pigmentos difusibles en medio de cultivo. Se menciona que en el caso de algunas bacterias del género *Pectobacterium* se forman gránulos de un polímero nombrado poli β -hidroxibutirato y que la presencia de estos gránulos se pueden identificar de manera visual como un pigmento difusible, de color café, en el medio de cultivo en que está creciendo la colonia bacteriana (Schaad, 1988). Asimismo, las pruebas bioquímicas indicaron que la bacteria resultó catalasa positiva, oxidasa negativa, no degradó almidón, hidrolizó gelatina, presentó reacción Gram negativa y Ryu positiva. Por otro lado, se observó reacción positiva en a la inoculación en rodajas de papa. La pudrición de papa es una prueba importante para determinar la patogenicidad de una bacteria y ubicarla dentro de un grupo específico por la capacidad de causar pudrición por la acción de enzimas pectolíticas que maceran el tejido parenquimatoso, alterando la integridad estructural del hospedante (Schaad, 1987, Goto, 1992). Los resultados de todas las pruebas anteriores indicaron que la bacteria pertenece al género *Pectobacterium* (Barras *et al.*, 1994; Boyraz *et al.*, 2006). Resultados similares han sido reportados donde los síntomas causados por esta bacteria se presentan en cladodios y base de los tallos; sin embargo, en nuestro conocimiento, este es el primer reporte de la bacteria afectando el estado de Baja California (Franco *et al.*, 2010; Baghaee-Ravari y Gerayeli, 2015). Estudios para la identificación y caracterización molecular, el monitoreo e impacto de los mismos se encuentran en progreso.

Literatura Citada

- Baghaee-Ravari, S and Gerayeli, N.
2015. Detection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* associated with bacterial soft rot of two succulent plants in Iran using *recA* AND *pmrA* genes. *J. of Plant Pat.*, 97 (1): 143-148.
- Barras, F.; Gijsegem, V.F. and Chatterjee, A.K.
1994. Extracellular Enzymes and Pathogenesis of Soft-Rot. *Erwinia. Annu. Rev. Phytopathol.*, 32 (1): 201-234.
- Boyraz, N.; Bastas, K.K.; Maden, S. and Yasar, A.
2006. Bacterial leaf and peduncle soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* on tulips in Konya, Turkey. *Phytoparasitica*, 34 (3): 272-280.
- Coronado, G.D.; Thompson, B.; Tejada, S.; Godina R.
2004. Attitudes and beliefs among Mexican Americans about type II diabetes. *J. Health Care Poor Underserved*, 15 (4): 576-588.
- Financiera rural
2011. Monografía del nopal y tuna. Folleto. 15 pp. Disponible en: http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/14/2013/anauales/anu_2251-6-2014-05-26.pdf Consultado en mayo de 2015.
- Franco, S.A.E.; Cordeiro, N.L.; Araújo, E.; Batista, L.E. and Souto, F.M.
2010. Occurrence and identification of the etiologic agents of plant diseases in cactus (*Opuntia ficus-indica* Mill.) in the semi-arid region of Paraíba. *Biotemas*, 23 (3): 11-20.
- Goto, M.
1992. Fundamentals of bacterial plant pathology. Academic Press, Inc. USA. 342 p.
- Schaad, N.W.
1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Second Edition. APS Press. The American Phytopathol. Society, St. Paul, Minnesota. p. 189.
- SIAP (Sistema de Información Agrícola y Pecuaria)
2014. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/> Consultado en mayo de 2015.
- Stintzing, F.C. and Carle, R.
2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49 (2): 175-194.
- Varvaro, L.; Granata, G. and Balestra, G.M.
1993. Severe *Erwinia*-Caused Damage on *Opuntia ficus-indica* in Italy. *J. Phytopathology.*, 138 (4): 325-330.

