

*EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS APLICACIONES PRIMAVERALES DE BACTOFUS EN EL CONTROL DE CÁNCER BACTERIAL (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) EN CEREZOS CV. BING*

ENSAYO TAVAN 2024-2025



ÍNDICE

OBJETIVO	3
MATERIALES Y MÉTODOS	3
Datos meteorológicos	4
Tratamientos	6
Evaluaciones	9
DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	13
RESULTADOS	14
Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC)	14
Incidencia de crecimiento bacteriano y atizonamiento sobre flores de cerezo cv. Bing, en cámaras húmedas	15
Incidencia de tizón en flores de cerezo cv. Bing, en condiciones de campo	16
Incidencia de daño generado por <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> en discos de hoja	17
Incidencia y severidad de daño producido por la bacteria en brotes, en condiciones de campo	18
CONCLUSIONES	19

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS APLICACIONES PRIMAVERALES DE BACTOFUS EN EL CONTROL DE CÁNCER BACTERIAL (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) EN CERZOS CV. BING

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de las aplicaciones primaverales de Bactofus en el control de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* en plantas de cerezo cv. Bing, se realizó un ensayo en un campo perteneciente a la Sociedad Agrícola Palo Alto, ubicado en la localidad de Requínoa, Región de O'Higgins, Chile.

Para el ensayo se utilizaron plantas de cerezo (*Prunus avium* L.) cv. Bing, plantadas el año 2012 con un marco de plantación de 5 x 2,5 m, conducidas en un sistema de tatura. Este ensayo se llevó a cabo desde el 2 de octubre de 2024 al 15 de noviembre de 2024, momento en el cual fue realizada la última evaluación.

Para cumplir con el objetivo señalado se establecieron cuatro tratamientos: un Testigo húmedo (T0), Bactofus a una dosis de 2,5 L*ha⁻¹ y pH4 a una dosis de 0,5 L*ha⁻¹ (T1), Sesquisulfato de estreptomicina + Clorhidrato de oxitetraciclina a una concentración de 60 g*hL⁻¹ (T2), y un bactericida biológico en base a cepas de *Bacillus* spp. y *Brevibacillus brevis* a una concentración de 150 g*hL⁻¹ (T3). Las aplicaciones se realizaron en los momentos de plena flor, 10 días después de la primera aplicación, y crecimiento de brotes. Se evaluó el recuento de UFC previo y posterior a la aplicación de plena flor, la incidencia de tizón de la flor en condiciones de campo y laboratorio, y la incidencia y severidad de daño en brotes.

Bajo las condiciones del presente ensayo se puede concluir que, la aplicación de Bactofus en el momento de plena flor, logra disminuir la población de bacterias del género *Pseudomonas* en flores de cerezo cv. Regina.

Todos los tratamientos aplicados logran disminuir el crecimiento bacteriano en el medio de cultivo respecto del testigo (T0), en la evaluación de flores dispuestas en cámara húmeda en condiciones de laboratorio, sin embargo, todos presentaron medias por sobre un 65,6%. No fue posible observar un efecto de los tratamientos en la evaluación de atizonamiento de flores dispuestas en cámara húmeda previamente inoculadas con el patógeno en campo.

La aplicación de Bactofus (T1) realizada en el momento de plena flor, logra disminuir el atizonamiento en flores inoculadas con el patógeno en condiciones de campo.

Las aplicaciones de Bactofus (T1) logran ser efectivas en disminuir la incidencia y severidad del daño producido por la bacteria en discos de hojas colectados 14 días después de la segunda aplicación del ensayo. No fue posible observar un efecto de las aplicaciones de Bactofus (T1) en brotes inoculados en condiciones de campo.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de las aplicaciones primaverales de Bactofus en el control de cáncer bacterial (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) en plantas de cerezo cv. Bing.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en un campo perteneciente a la Sociedad Agrícola Palo Alto, ubicado en la localidad de Requínoa (34°13' Latitud sur – 70°45' Latitud oeste), Región de O'Higgins, Chile.

Datos del cultivo

Nombre científico	<i>Prunus avium</i> L.
Variedad	Bing
Portainjerto	Maxma 14
Año de plantación	2012
Distancia de plantación	5 m x 2,5 m
Sistema de conducción	Tatura
Duración del ensayo	02/10/2024 a 15/11/2024



Figura 1. Plantas de cerezo cv. Bing correspondientes al ensayo.

Datos meteorológicos

Todos los datos climáticos fueron obtenidos de una estación meteorológica cercana al predio en el cual se desarrolló el estudio. El Cuadro 1 muestra el registro de las temperaturas mínimas y máximas, y las precipitaciones durante el período en que se efectuó el ensayo, mientras que el Cuadro 2 entrega el registro de temperaturas y precipitaciones en los momentos de aplicación. En las Figuras 2 y 3 se observan las gráficas para dichos datos.

Cuadro 1. Media aritmética mensual de temperatura mínima, temperatura máxima, oscilación térmica y precipitación acumulada mensual durante el período del ensayo.

Mes	Temperatura			Precipitación mm
	Mínima	Máxima	Oscilación térmica	
		°C		
Octubre	8,9	24,5	15,6	16,2

Cuadro 2. Registro de temperaturas y precipitaciones el día de la aplicación.

Fecha	Temperatura			Precipitación mm
	Mínima	Máxima	Oscilación térmica	
		°C		
02-10-2024	3,3	20,9	17,6	0,0
16-10-2024	6,9	22,0	15,1	0,0
29-10-2024	10,1	23,7	13,6	0,0

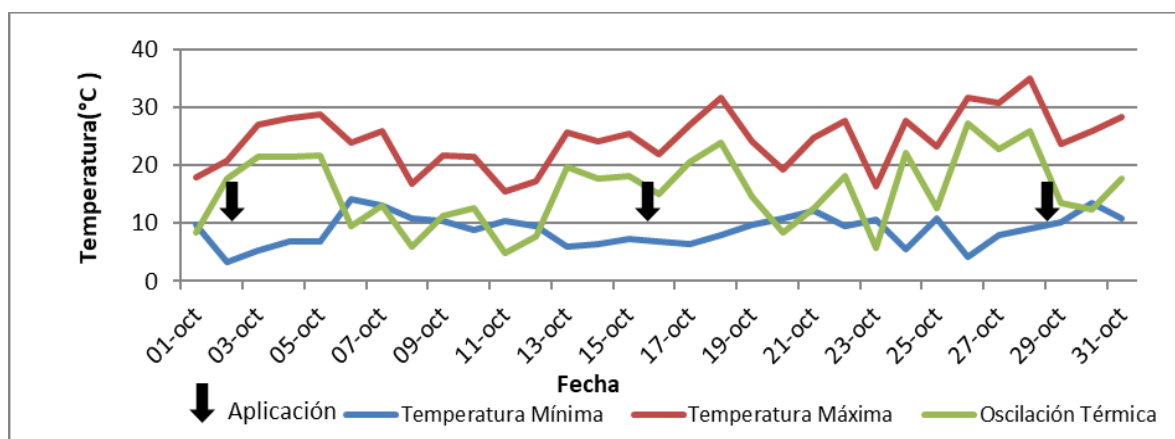


Figura 2. Gráfica de temperaturas máximas, mínimas y oscilación térmica registrada durante el período de ejecución del ensayo.

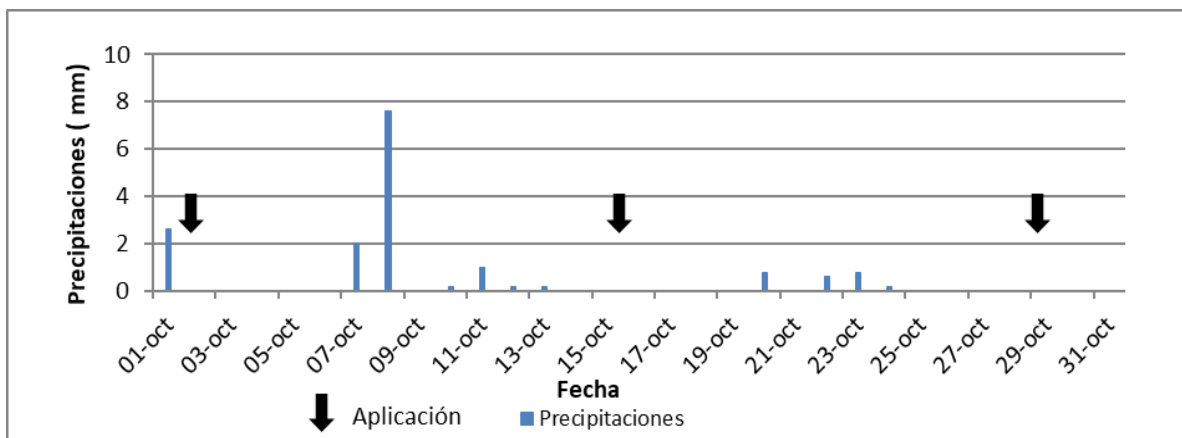


Figura 3. Gráfica de precipitaciones durante el período del ensayo.

Tratamientos

El detalle de los tratamientos aplicados es descrito en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Descripción de los tratamientos.

	Tratamiento	Concentración (ml/g*hl ⁻¹)	Dosis (L/kg*ha ⁻¹)	Mojamiento (L*ha ⁻¹)	Número de aplicaciones	Momento de aplicación
T0	Control	--	--	1500	3	ABC
T1	Bactofus +	166,6 +	2,5 +	1500	3	ABC
	pH4	33,3	0,5			
T2	S. de gentamicina +	60	0,9	1500	1	A
	C. de Oxitetraciclina					
T3	<i>Bacillus</i> spp. y <i>Brevibacillus</i> <i>brevis</i>	150	2,25	1500	3	ABC

Donde:

A: Plena Flor (50% de flores abiertas): 02-10-2024

B: 10 días después de A: 16-10-2024

C: Crecimiento de brotes (frutos de 10-15 mm): 29-10-2024

Las aplicaciones fueron efectuadas mediante el uso de una máquina de cuatro estanques conectada a un pitón. Las dosificaciones fueron realizadas extrapolando los litros aplicados por planta de acuerdo con el marco de plantación del huerto utilizando un mojamiento de 1500L*ha⁻¹.

La Figura 4 muestra un registro fotográfico durante la ejecución del ensayo.

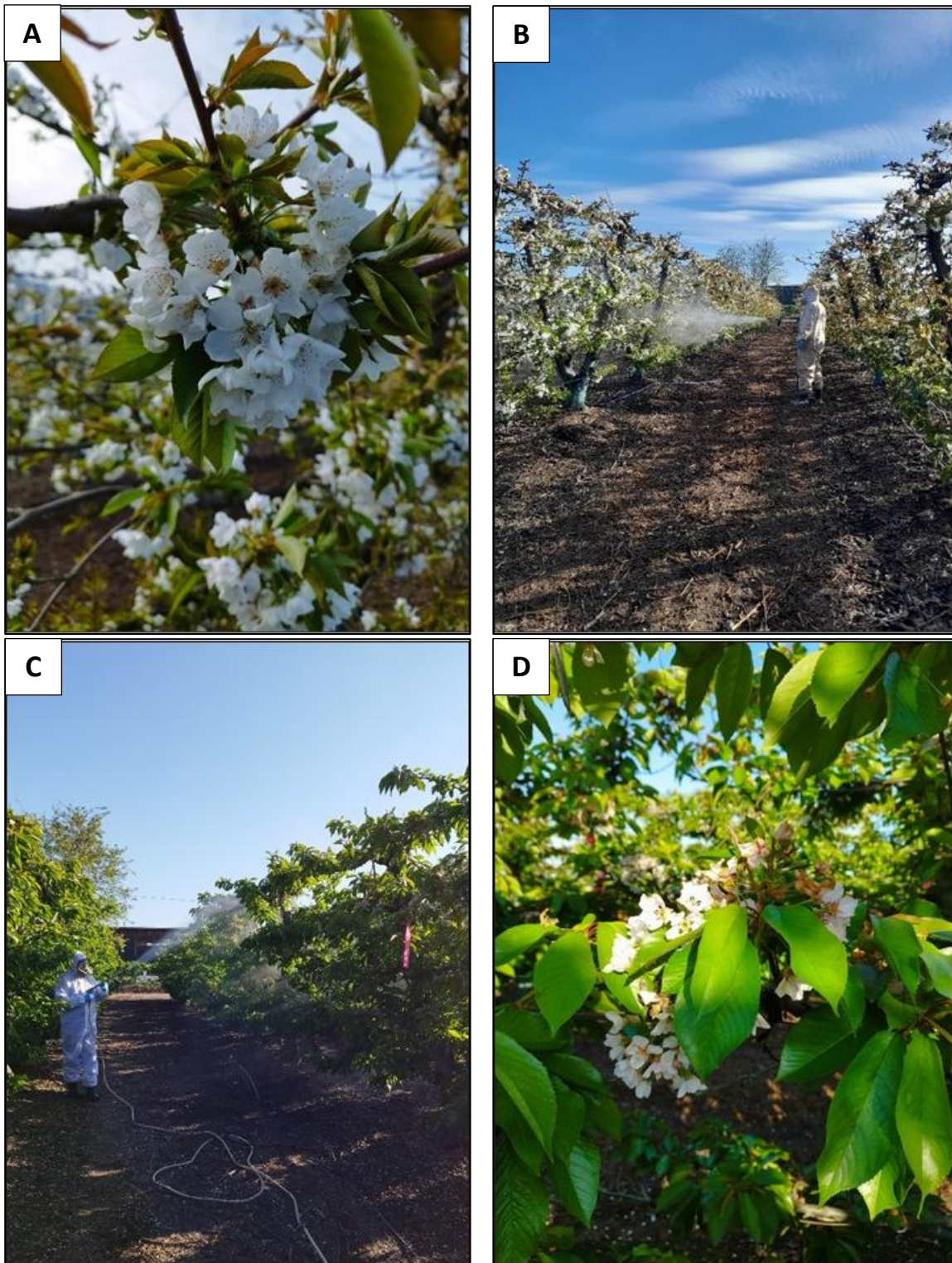




Figura 4. Estado de las plantas en el momento de plena flor (A, B); estado de las plantas al momento de la aplicación de 10 días después de plena flor (C, D); estado de las plantas en el momento de la última aplicación de crecimiento de brotes (E y F).

Evaluaciones

METODOLOGÍA

FLORACIÓN

Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC): Previo a la primera aplicación del ensayo, se colectó una muestra de 20 flores por tratamiento (muestra compuesta), las cuales fueron llevadas al laboratorio, donde fueron maceradas y diluidas en 9 ml de agua destilada estéril para generar una suspensión, de la cual se sembraron 100 uL en forma de barrido en placas con medio de cultivo King B. Estas placas fueron incubadas a 25°C por 48 horas y se realizó un recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de la bacteria, expresado por gramo de muestra. Este procedimiento fue repetido 24 horas posteriores a la aplicación de plena flor.

Tizón de la flor: Posterior a la aplicación de plena flor (24 horas posteriores), se marcaron e inocularon 10 dardos por unidad experimental, con una suspensión de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, a una concentración de 1×10^6 UFC \times ml $^{-1}$ mediante aspersion. Luego los dardos fueron cubiertos con una bolsa de polipropileno por 24 horas. Posterior a ello, se colectaron 5 dardos inoculados y fueron llevados al laboratorio, donde las flores provenientes de estos dardos fueron dispuestas en cámaras húmedas, las que consistieron en placas de Petri con medio de cultivo King B más fungicida, para evitar el desarrollo de hongos. Estas placas fueron incubadas a 25°C por 48 horas y se evaluó el crecimiento bacteriano, que corresponde al crecimiento de bacteria en el punto de contacto de la flor con el medio de cultivo, y la incidencia de tizón de la flor como el porcentaje de flores que presentaron necrosis (ya sea en los pétalos o en el cáliz) del total de flores evaluadas. En los 5 dardos restantes, se evaluó la incidencia de tizón de la flor en campo 4 días posteriores a la inoculación.

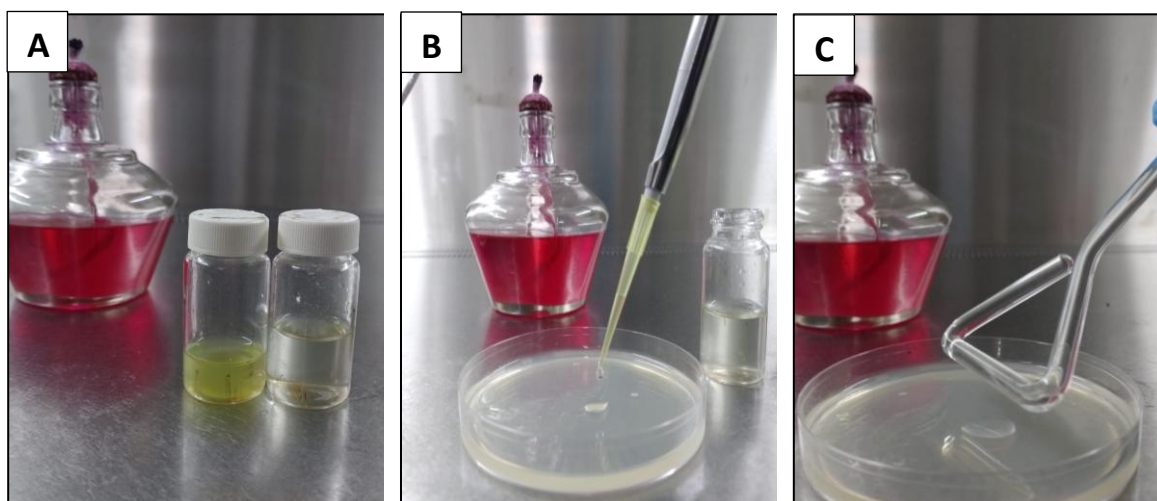




Figura 5. Procedimiento de laboratorio para la evaluación de recuento de UFC de la bacteria (A, B y C). Estado de los dardos en el momento de la inoculación con *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (D, E). Dardos inoculados y posteriormente cubiertos con una bolsa de polipropileno (F).

BROTACIÓN

PSS desarrollo vegetativo (discos de hoja)

Se colectó una muestra de 15 hojas por unidad experimental 14 días posteriores a la segunda aplicación del ensayo (B), de los tratamientos Testigo (T0), Bactofus (T1) y *Bacillus* spp. + *Brevibacillus brevis* (T3). Desde la lámina foliar se cortaron discos de hoja, los que fueron sumergidos en una suspensión con la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* a una concentración de 1×10^6 UFC/ml, para posteriormente ser dispuestos en placas de Petri con medio de cultivo agar agua (AA).

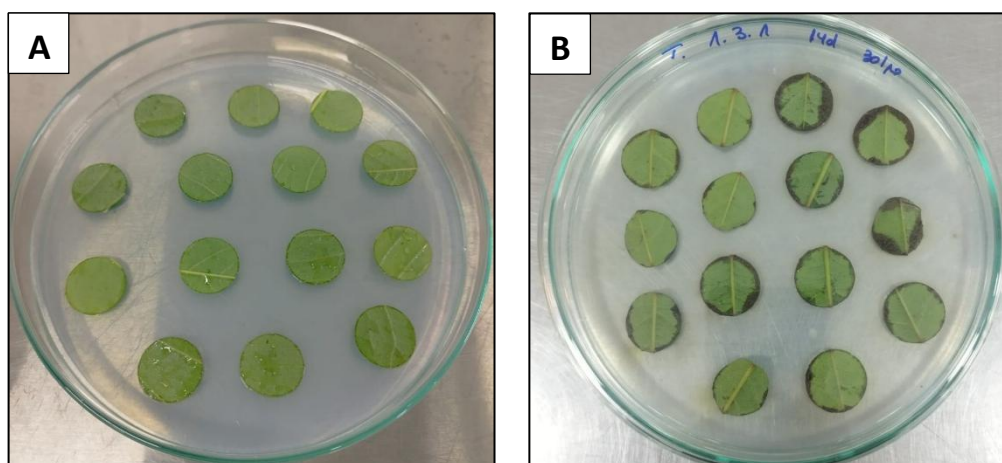


Figura 6. Discos de hoja, dispuestos en medio de cultivo AA, previa inoculación con PSS (A); discos de hojas inoculados con la bacteria (B).

La incidencia fue evaluada como el número de discos que presenten necrosis atribuible a la acción de la bacteria del total de discos dispuestos en placa. Para la severidad se evaluará el grado de daño de acuerdo con la siguiente tabla:

Cuadro 4. Descripción del grado de daño presente en los discos de hoja.

Grado de daño	Descripción
0	Sin daño
1	Disco de hoja 10% daño
2	Disco de hoja 25% daño
3	Disco de hoja 50% daño
4	Disco de hoja 75% daño
5	Disco de hoja 100% daño

Se calculará el índice de intensidad de daño mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Intensidad de daño: } (\sum (n*v) / V*N) *100$$

Donde:

n: Número de discos de hoja por grado

v: Grado de daño

N: N° total de discos de hoja observados

V: Rango máximo de la escala

Incidencia y severidad de daño producido por la bacteria en brotes

Posterior a la aplicación de brotes de 5-10 cm (48 horas posteriores), se marcaron 10 brotes por repetición, estos fueron inoculados con una suspensión de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, a una concentración de 1×10^6 UFCx ml^{-1} mediante aspersión. Luego se cubrieron con una bolsa de polipropileno por 24 horas.

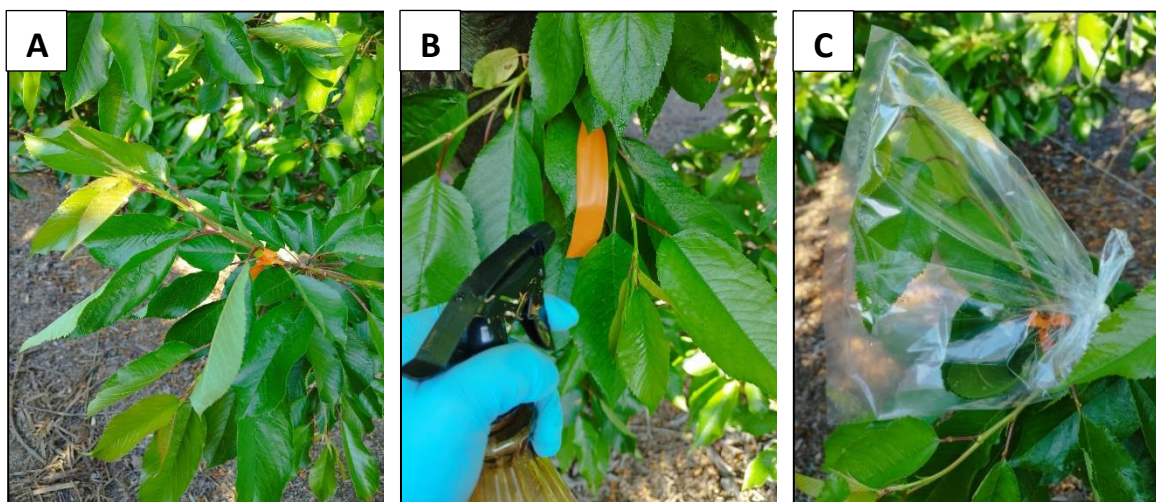


Figura 7. Estado de los brotes en el momento de la inoculación con *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* mediante un atomizador manual (A y B). Brotes inoculados y posteriormente cubiertos con una bolsa de polipropileno (C).

Transcurridos 15 días, se evaluó sobre los brotes inoculados la incidencia y la severidad del daño producido por la bacteria en los brotes inoculados.

La incidencia fue expresada como el número de hojas afectadas del número total evaluado, esta fue expresada como porcentaje, tal como se muestra a continuación:

$$\text{Incidencia: } (N^\circ \text{ hojas enfermas} / \text{Total de hojas evaluadas}) * 100$$

La severidad fue expresada como el índice de daño en las hojas, esto fue evaluado mediante una escala hedónica presente en el Cuadro 5.

$$\text{Índice de Intensidad de daño: } (\sum (n*v) / V*N) * 100$$

Donde:




n: Número de hojas por grado



v: Grado de daño

N: N° total de hojas observadas

V: Rango máximo de la escala

Cuadro 5. Escala de daño utilizada para la evaluación de severidad en hojas.

Grado de daño	Descripción		
0	Sin pústulas	Sana	
1	1 a 2 pústulas/hoja	Incipiente	
2	3 a 5 pústulas/hoja	Leve	

3	6 a 12 pústulas/hoja	Moderado	
4	> a 12 pústulas/hoja	Severo	

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizado (DBCA) con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones.

Para comparar los tratamientos, las medias de cada evaluación fueron sometidas a un análisis de modelos lineales generales y mixtos (MLMix). Cuando se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos (p -valor $< 0,05$), las medias fueron separadas mediante una prueba de comparación múltiple de LSD de Fisher con un intervalo de confianza del 95%.

RESULTADOS

Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC).

En el recuento de UFC realizado a las muestras de flores colectadas previo a la aplicación de los tratamientos, se observó un nivel de inóculo presente en las plantas seleccionadas para los distintos tratamientos entre $1,2 \times 10^2$ y $5,8 \times 10^3$. Estos resultados fueron usados en la evaluación posterior como covariable, la cual no fue significativa (p -valor: 0,6394).

En el recuentos de UFC realizado sobre las muestras colectadas posteriormente a la aplicación de plena flor (Recuento 2), fue posible observar una disminución en la población de bacterias en todos los tratamientos, sin embargo, fue posible detectar diferencias estadísticas entre estos, donde todos los tratamientos aplicados logran disminuir la población bacteriana respecto del tratamiento testigo (T0). Los resultados de esta evaluación se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Medias ajustadas según MLMix para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de muestra, previo y posterior a las aplicaciones de plena flor.

Tratamiento	Recuento 1	Recuento 2
	UFC/g	
T0 TESTIGO	5,8,E+03	4,3,E+02 A
T1 BACTOFUS+pH4	3,3,E+02	2,4,E+02 B
T2 S. DE GENTAMICINA + C. DE OXITETRACICLINA	1,0,E+03	1,5,E+02 B
T3 BACILLUS SPP. Y BREVIBACILLUS BREVIS	1,3,E+02	1,3,E+02 B
p-valor	--	0,0038
		0,6394

Tratamientos unidos por igual letra, no son significativamente diferentes. Según PCM LSD Fisher (p -valor > 0,05).

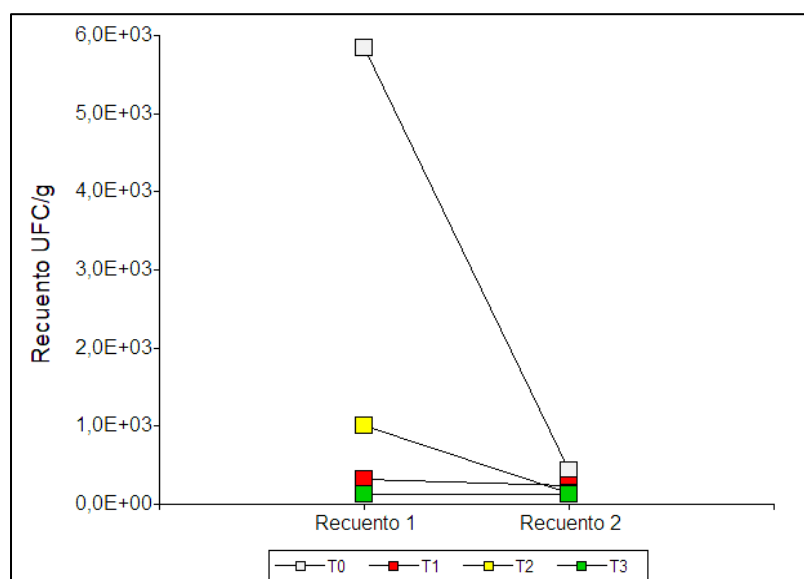


Figura 8. Gráfico de recuento de unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de muestra, en flores colectadas previo al inicio del ensayo (Recuento 1) y posterior a la aplicación de plena flor (Recuento 2).

Incidencia de crecimiento bacteriano y atizonamiento sobre flores de cerezo cv. Bing, en cámaras húmedas.

En la evaluación de crecimiento de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* sobre el medio de cultivo en las zonas donde las flores estuvieron en contacto con este medio, se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, donde todos los tratamientos aplicados presentaron crecimiento bacteriano inferior al testigo, sin embargo, estos presentaron porcentajes de incidencia por sobre un 65,6%.

En la evaluación de incidencia de atizonamiento asociado a la acción de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* en flores inoculadas con el patógeno en campo y posteriormente dispuestas en cámaras húmedas, se observó una baja incidencia de síntomas atribuibles al patógeno. Los tratamientos presentaron medias entre 5,4% y 8,9%, al día 3 de montado el ensayo, sin presentar diferencias estadísticas entre ellos. El detalle de esta evaluación es presentado en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Medias ajustadas según MLMix para crecimiento bacteriano en el medio de cultivo en cámara húmeda (%) y tizón de la flor (%), al día 3 de mantenidas las flores en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Incidencia (%)	
	Crecimiento bacteriano	Tizón
T0 TESTIGO	86,5 A	7,8
T1 BACTOFUS+pH4	75,0 B	4,2
T2 S. DE GENTAMICINA + C. DE OXITETRACICLINA	65,6 B	8,9
T3 BACILLUS SPP. Y BREVIBACILLUS BREVIS	71,9 B	5,4
p-valor	0,0021	0,7564

Tratamientos unidos por igual letra, no son significativamente diferentes. Según PCM LSD Fisher (p-valor>0,05).

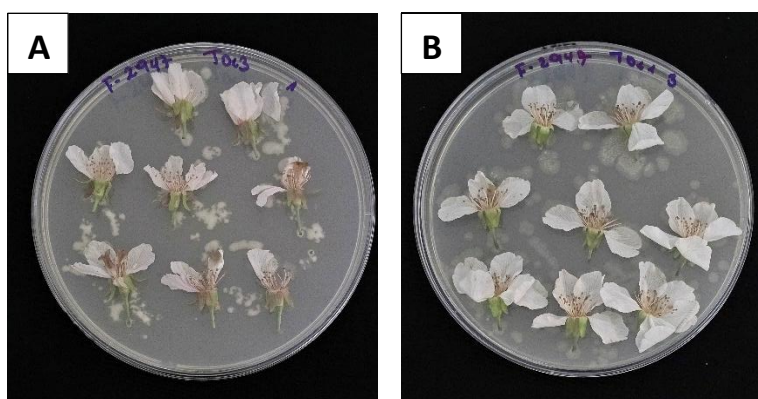


Figura 9. Flores dispuestas en cámara húmeda con crecimiento bacteriano sobre el medio de cultivo.

Incidencia de tizón en flores de cerezo cv. Bing, en condiciones de campo

Al evaluar la incidencia de flores atizonadas por la bacteria en condiciones de campo, fue posible observar diferencias estadísticas entre los tratamientos, donde los aplicados con Bactofus (T1), y S. de gentamicina + C. de oxitetraciclina (T2), presentaron porcentajes de incidencia estadísticamente inferiores al tratamiento Testigo (T0), con medias de 30,5% y 33,7% respectivamente, en comparación con el testigo (T0) que presentó un 51,7%. Los resultados de esta evaluación son presentados en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Medias ajustadas según MLMix para la evaluación de incidencia de tizón de la flor causado por el patógeno *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (PSS) en flores inoculadas en campo.

Tratamiento	Incidencia de atizonamiento floral (%)	
	Día 4	
T0 TESTIGO	51,7 A	
T1 BACTOFUS+pH4	30,5 C	
T2 S. DE GENTAMICINA + C. DE OXITETRACICLINA	33,7 BC	
T3 BACILLUS SPP. Y BREVIBACILLUS BREVIS	43,3 AB	
p-valor		0,0029

Tratamientos unidos por igual letra, no son significativamente diferentes. Según PCM LSD Fisher (p -valor > 0,05).

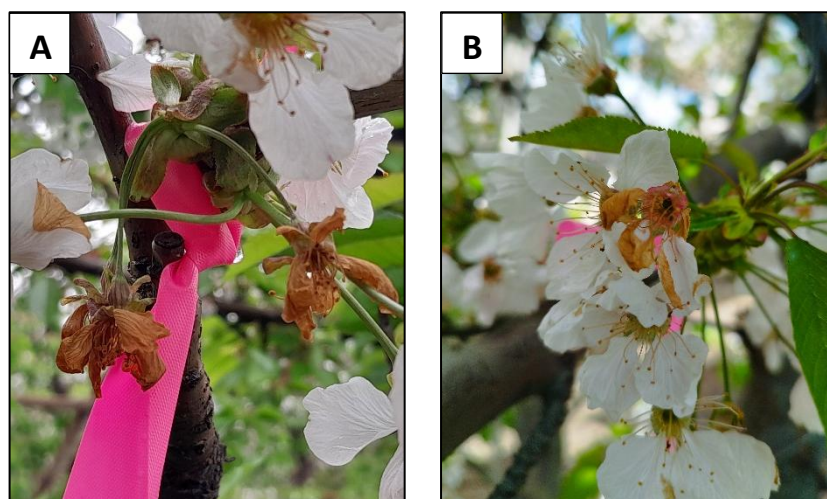


Figura 10. Flores atizonadas por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, inoculadas con el patógeno en campo (A Y B).

Incidencia de daño generado por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* en discos de hoja.

En la evaluación de incidencia de daño producido por la bacteria en discos de hoja colectados 14 días después la segunda aplicación del ensayo, fue posible observar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, sin embargo, los tratamientos inoculados con la bacteria (T0+, T1 y T3) presentaron porcentajes altos de incidencia en los dos momentos evaluados, en el primero (6-11-2024) por sobre un 85,7%, y en el segundo (8-11-2024), un 100% de incidencia.

Respecto a la evaluación de severidad de daño generado por la bacteria, fue posible observar diferencias estadísticas entre los tratamientos, donde los tratamientos T1 y T3 logran disminuir estadísticamente la severidad respecto del tratamiento testigo (T0+) en ambas evaluaciones realizadas.

Cuadro 9. Medias ajustadas según MLMix para la incidencia (%) y severidad (%) del daño generado por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, en discos de hojas inoculados con la bacteria en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	14 DDA			
	Incidencia (%)		Severidad (%)	
	06-11-2024	08-11-2024	06-11-2024	08-11-2024
T0 TESTIGO (-)	9,5 C	71,4 B	6,8 C	29,9 C
T0 TESTIGO (+)	98,8 A	100,0 A	43,0 A	83,9 A
T1 BACTOFUS+pH4	88,7 B	100,0 A	27,6 B	66,2 B
T3 BACILLUS SPP. Y BREVIBACILLUS BREVIS	85,7 B	100,0 A	25,4 B	61,5 B
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Tratamientos unidos por igual letra, no son significativamente diferentes. Según PCM LSD Fisher (p-valor>0,05).

Incidencia y severidad de daño producido por la bacteria en brotes, en condiciones de campo.

En la evaluación de incidencia de daño producido por la bacteria en las hojas de los brotes inoculados en campo, fue posible observar diferencias estadísticas entre los tratamientos, donde el aplicado con *Bacillus* spp. y *Brevibacillus brevis* (T3) fue el que presentó un porcentaje de incidencia estadísticamente inferior al resto de los tratamientos.

Respecto a la evaluación de severidad de daño generado por la bacteria, se observó algo similar a la evaluación anterior, donde nuevamente el tratamiento aplicado con *Bacillus* spp. y *Brevibacillus brevis* (T3) fue el que presentó una media estadísticamente inferior en comparación con los demás tratamientos. Los resultados de estas evaluaciones se presentan en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Medias ajustadas según MLMix para la incidencia (%) y severidad (%) del daño generado por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, en brotes inoculados con la bacteria en condiciones de campo.

Tratamiento	15-11-2024	
	Incidencia (%)	Severidad (%)
T0 TESTIGO	47,6 A	12,1 A
T1 BACTOFUS+PH4	43,6 A	12,1 A
T3 BACILLUS SPP. Y BREVIBACILLUS BREVIS	32,1 B	7,7 B
p-valor	0,0214	0,0196

Tratamientos unidos por igual letra, no son significativamente diferentes. Según PCM LSD Fisher (p-valor>0,05).

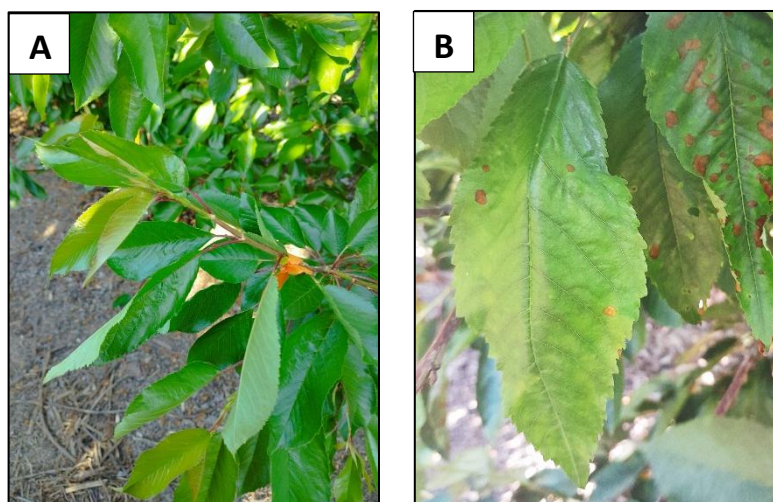


Figura 11. Brotes inoculados con el patógeno en campo (A). Pústulas características de daño generado por PSS en hojas (B).

CONCLUSIONES

Considerando las condiciones de este ensayo, se puede concluir que:

- La aplicación de Bactofus (T1) realizada en el momento de plena flor, logra disminuir la población de bacterias del género *Pseudomonas* en comparación con el tratamiento testigo (T0) en muestras de flores de cerezo cv. Bing.
- Fue posible observar un efecto de la aplicación de los tratamientos en la evaluación de crecimiento bacteriano en el medio de cultivo, sin embargo, estos presentaron medias por sobre un 65,6%. No se observó un efecto de los tratamientos en la evaluación de atizonamiento de flores dispuestas en cámara húmeda previamente inoculadas con el patógeno en campo.
- La aplicación de Bactofus (T1) en el momento de plena flor, logra disminuir el atizonamiento en flores inoculadas con el patógeno en condiciones de campo.
- Las aplicaciones de Bactofus (T1) en el momento de plena flor y 10 días después de plena flor, logran disminuir la severidad del daño ocasionado por la bacteria en discos de hoja colectados 14 días después de la segunda aplicación del ensayo.
- No fue posible observar un efecto de las aplicaciones de Bactofus (T1) en las evaluaciones de incidencia y severidad del daño producido por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* en las hojas de los brotes inoculados con el patógeno en condiciones de campo.