

Prueba de eficacia in vitro de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* sometida a diferentes tratamientos.

---

Ing. Agr. Daniela Trujillo

23 abril 2020

[www.lagric.com](http://www.lagric.com)



## Objetivo

Determinar la **efectividad *In vitro*** de distintos productos comerciales en el control de las bacterias *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*.



## Materiales y métodos

	Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis (gr ó ml*100L <sup>-1</sup> )	Patógeno
0	TESTIGO	Testigo	-	<i>Pss y Xaj</i>
1	AGRYGENT PLUS	Gentamicina	80	<i>Pss y Xaj</i>
2	AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu	Gentamicina + Quitosano	80 + 200	<i>Pss y Xaj</i>
3	KASUMIN	Kasugamicina	250	<i>Pss</i>
			350	<i>Xaj</i>
4	TESTIGO COMERCIAL	Estreptomina + Oxitetraciclina	60	<i>Pss y Xaj</i>
5	TESTIGO COMERCIAL	<i>Bacillus spp. + Brevibacillus brevis</i>	150	<i>Pss y Xaj</i>
6	BIOREND Cu	Quitosano	200	<i>Pss y Xaj</i>
7	CUEVA	Octanoato de Cobre	200	<i>Pss y Xaj</i>
8	TESTIGO COMERCIAL	Sulfato de cobre pentahidratado	80	<i>Pss</i>
			120	<i>Xaj</i>

**Cuadro 1.** Descripción de los tratamientos evaluados.

*Pss: Pseudomonas syringae pv. syringae Xaj: Xanthomonas arboricola pv. juglandis*

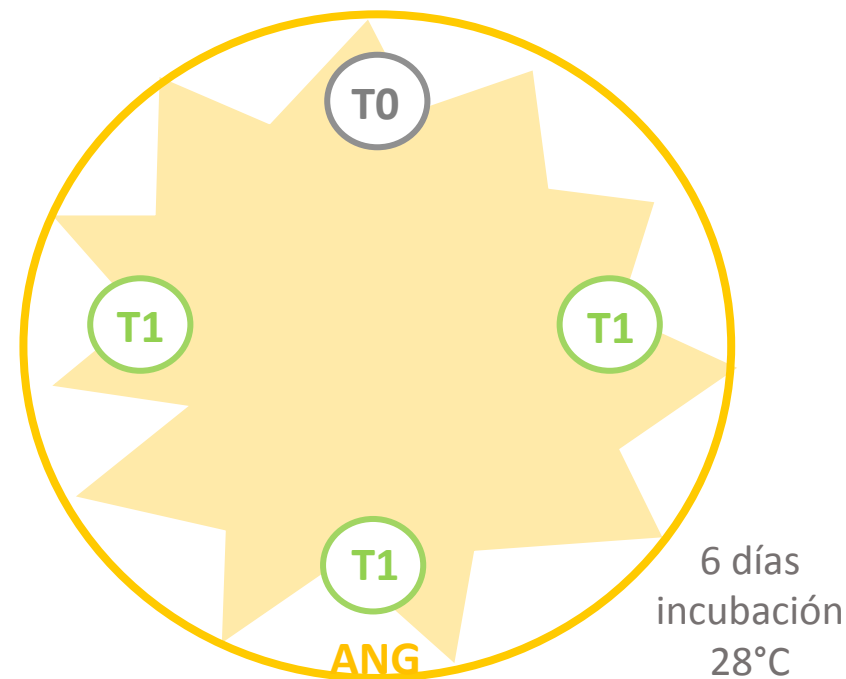
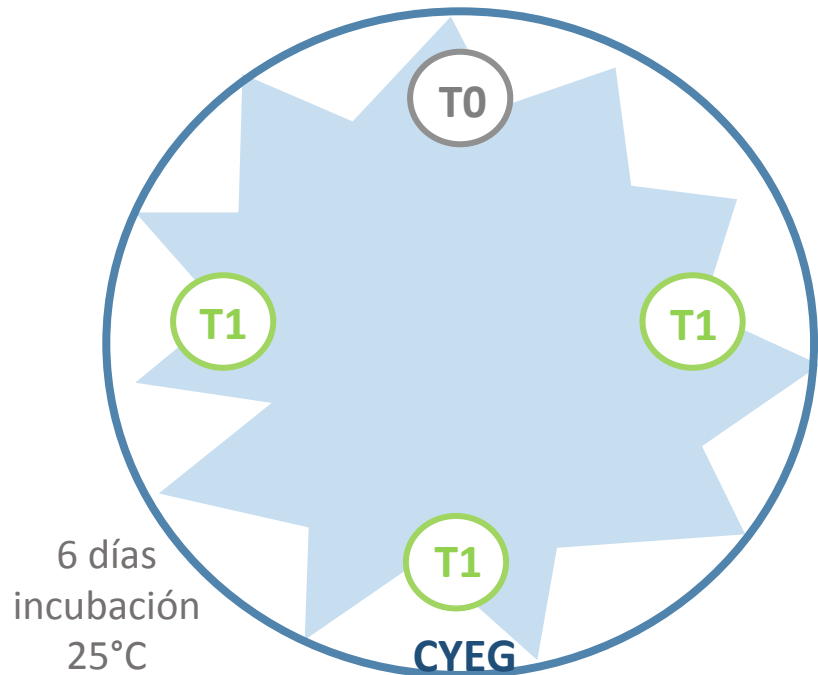


## Materiales y métodos

### Metodología Kirby - Bauer

Volumen de 100 ul de suspensión  
*Pss*  $1 \cdot 10^6$  UFC

Volumen de 100 ul de suspensión  
*Xaj*  $1 \cdot 10^6$  UFC

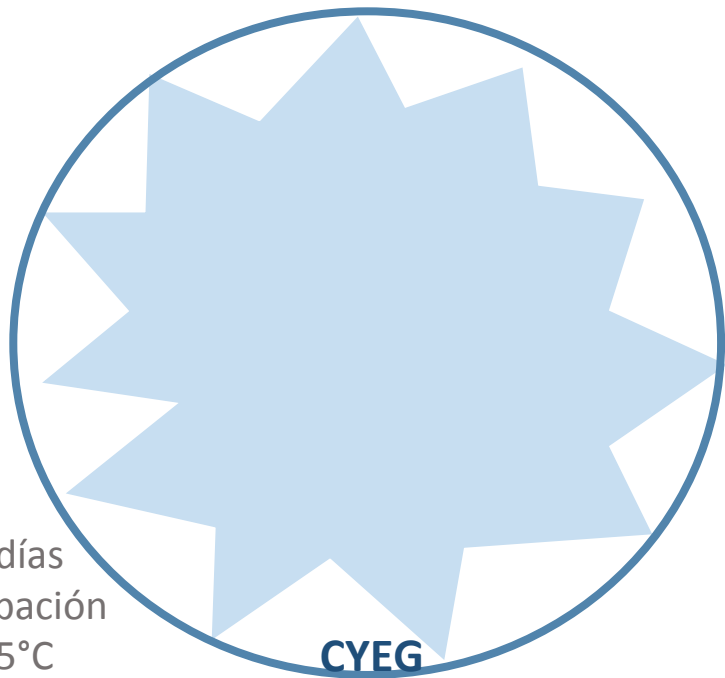


Tratamientos; evaluación de pH ajustado a 6,5 para solubilidad  
Medición los halos de inhibición del desarrollo

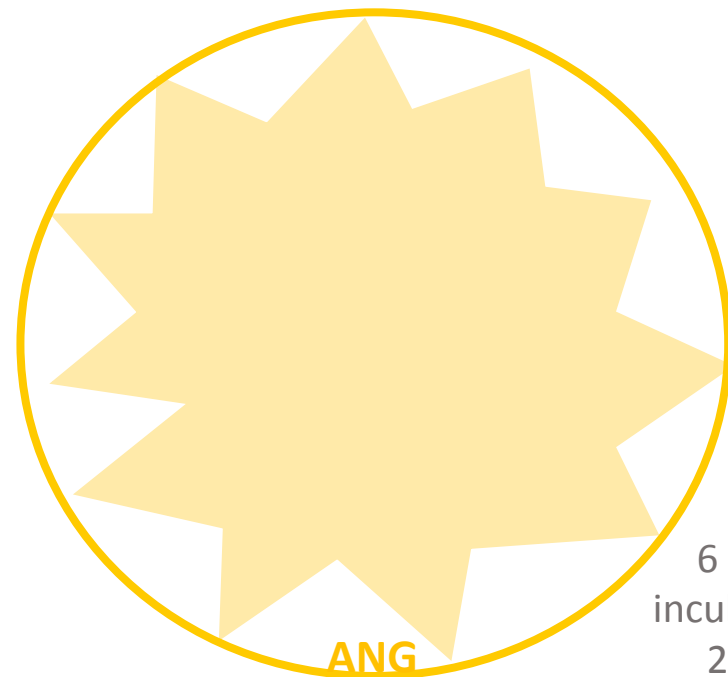
## Materiales y métodos

### Metodología suspensión en medio de cultivo

Volumen de 100 ul de suspensión  
*Pss*  $7,1 \cdot 10^7$  UFC



Volumen de 100 ul de suspensión  
*Xaj*  $8,3 \cdot 10^8$  UFC.



Medio de cultivo disuelto con los diferentes ingredientes activos de cada tratamiento a evaluar recuento de unidades formadoras de colonias (UFC)

## Materiales y métodos

### Análisis estadístico

Programa Infostat

Análisis de la varianza

Diferencias estadísticas comparaciones múltiples de Fisher.



## Resultados

Metodología Kirby - Bauer  
*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

tratamientos  
**Agrygent Plus (T1)**  
**Agrygent Plus + Biorend Cu (T2)**  
**Estreptomicina + Oxitetraciclina (T4)**

Mayor diámetro del halo inhibitorio,  
efectivos en el control de la bacteria.



## Resultados

### Metodología Kirby - Bauer *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

TRATAMIENTO	Halo de Inhibición (mm) <i>Pss</i>											
	24 hrs		48 hrs		72 hrs		144 hrs					
	mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E				
0 Testigo	0,0	a	0,56	0,0	a	0,89	0,0	a	1,06	0,0	a	1,21
1 AGRYGENT PLUS	19,7	c	0,56	16,6	c	0,89	15,3	bc	1,06	14,0	b	1,21
2 AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu	21,7	d	0,56	18,1	c	0,89	15,6	c	1,06	15,5	b	1,21
3 Kasugamicina	0,0	a	0,56	0,0	a	0,89	0,0	a	1,06	0,0	a	1,21
4 Estreptomina + Oxitetraciclina	12,7	b	0,56	12,5	b	0,89	12,6	b	1,06	12,3	b	1,21
5 <i>Bacillus</i> spp. + <i>Brevibacillus brevis</i>	0,0	a	0,56	0,0	a	0,89	0,0	a	1,06	0,0	a	1,21
6 BIOREND Cu	0,0	a	0,56	0,0	a	0,89	0,0	a	1,06	0,0	a	1,21
7 Octanoato de Cobre	0,0	a	0,56	0,0	a	0,89	0,0	a	1,06	0,0	a	1,21
8 Sulfato de cobre pentahidratado	0,0	a	0,56	0,0	a	0,89	0,0	a	1,06	0,0	a	1,21
<b>p-valor*</b>	<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>					

\* Medias con una letra común no son significativamente diferentes según test LSD-Fisher ( $p > 0,05$ ).



**T1**

AGRYGENT PLUS

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T2**

AGRYGENT PLUS +  
BIOREND Cu

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T3**

KASUGAMICINA

R1



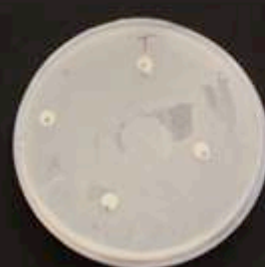
R2



R3



R4



R5



R6



**T4**

Estreptomicina  
+ Oxitetraciclina

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T5**

*Bacillus* spp. +  
*Brevibacillus*  
*brevis*

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T6**

*BIOREND* Cu

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T7**

*Octanoato de*  
*Cobre*

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T8**

*Sulfato de cobre*  
*pentahidratado*

R1



R2



R3



R4



R5



R6



## Resultados

Metodología Kirby - Bauer  
*Xanthomonas arboricola pv. juglandis*

tratamientos

**Agrygent Plus (T1)**

**Agrygent Plus + Biorend Cu (T2)**

Mayor diámetro del halo inhibitorio,  
efectivos en el control de esta bacteria

Tratamiento

**Estreptomicona + Oxitetraciclina (T4)**

diámetro del halo inhibitorio, diferencia estadística con T1 y T2,  
efectivo en el control de esta bacteria



## Resultados

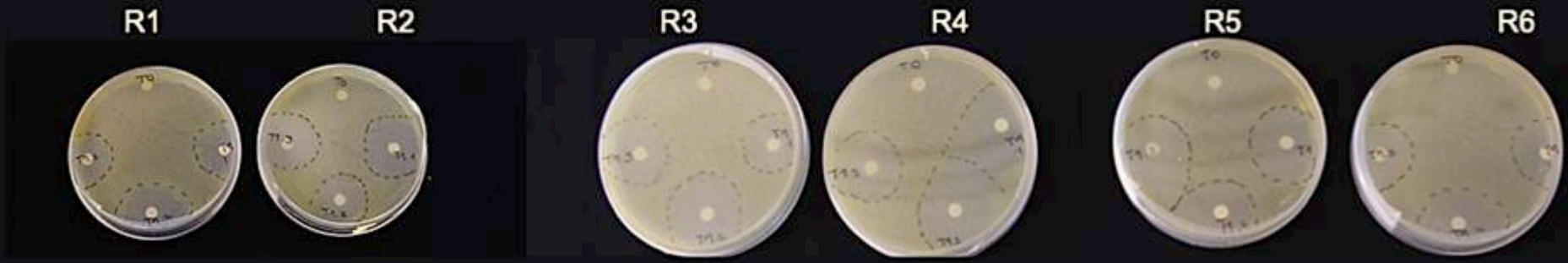
### Metodología Kirby - Bauer *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*

	TRATAMIENTO	HALO INHIBICIÓN (mm)													
		24 hrs		48 hrs		72 hrs		144 hrs		192 hrs		312 hrs			
		mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E		
0	Testigo	0,0	0,0	0,0	a 0,5	0,0	a 0,47	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5
1	AGRYGENT PLUS	0,0	0,0	27,2	c 0,5	27,2	c 0,47	27,2	c 0,5	24,6	c 0,5	24,6	c 0,5	24,6	c 0,5
2	AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu	0,0	0,0	26,7	c 0,5	26,9	c 0,47	25,0	c 0,5	24,2	c 0,5	23,0	c 0,5	23,0	c 0,5
3	Kasugamicina	0,0	0,0	0,0	a 0,5	0,0	a 0,47	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5
4	Estreptomicina + Oxitetraciclina	0,0	0,0	14,6	b 0,5	14,8	b 0,47	14,8	b 0,5	13,7	b 0,5	13,2	b 0,5	13,2	b 0,5
5	Bacillus spp. + Brevibacillus brevis	0,0	0,0	0,0	a 0,5	0,0	a 0,47	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5
6	BIOREND Cu	0,0	0,0	0,0	a 0,5	0,0	a 0,47	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5
7	Octanoato de Cobre	0,0	0,0	0,0	a 0,5	0,0	a 0,47	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5
8	Sulfato de cobre pentahidratado	0,0	0,0	0,0	a 0,5	0,0	a 0,47	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5	0,0	a 0,5
	<b>p-valor</b>	-		<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>	

\* Medias con una letra común no son significativamente diferentes según test LSD-Fisher ( $p > 0,05$ ).

**T1**

AGRYGENT PLUS



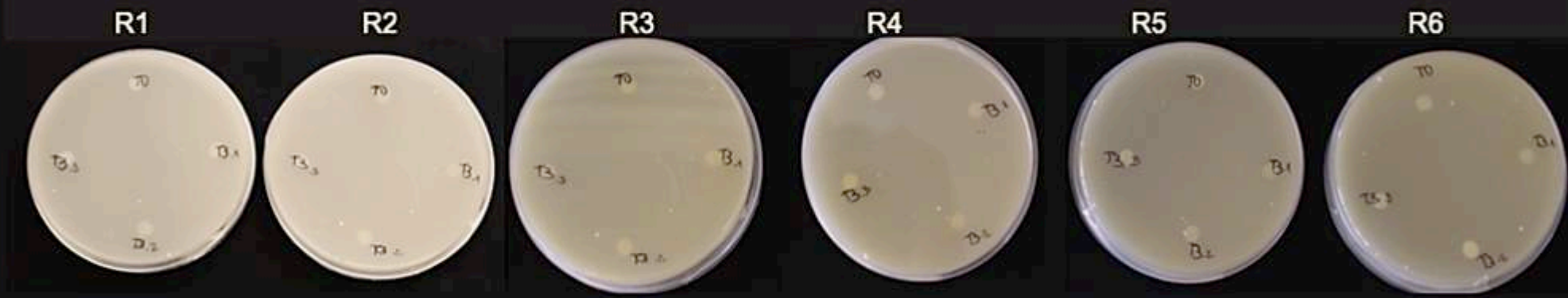
**T2**

AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu



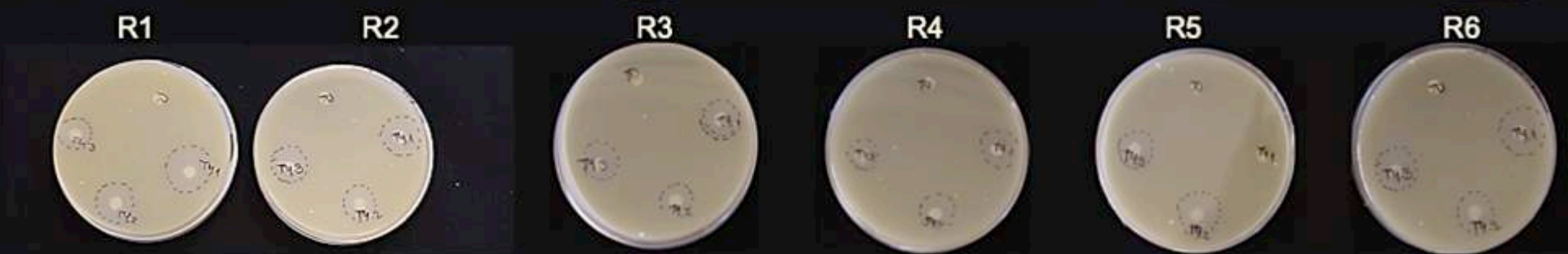
**T3**

KASUGAMICIN A



**T4**

Estreptomicina + Oxitetraciclina





**T5**

*Bacillus* spp. +  
*Brevibacillus*  
*brevis*

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T6**

BIOREND Cu

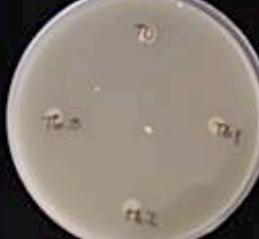
R1



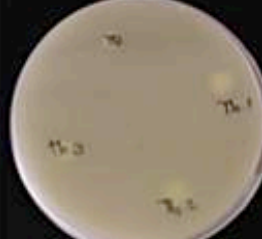
R2



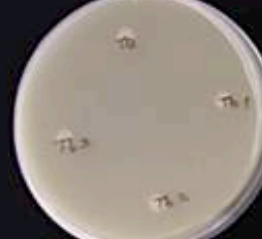
R3



R4



R5



R6



**T7**

Octanoato de  
Cobre

R1



R2



R3



R4



R5



R6



**T8**

Sulfato de cobre  
pentahidratado

R1



R2



R3



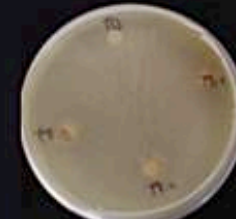
R4



R5



R6



## Resultados

### Metodología Suspensión en medio de cultivo

#### *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

Evaluación 24 y 48 h todos los tratamientos controlaron efectivamente el desarrollo de *Pss* (diferencia estadística T0  $6,3 \cdot 10^4$  UFC).

Evaluación 72 h, T3 Kasugamicina formación de  $2,3 \cdot 10^4$  UFC, los demás tratamientos controlaron efectivamente el desarrollo de *Pss*.

T5 *Bacillus* spp. + *Brevibacillus brevis* ingredientes activos y capacidad de formación de colonias, no permitió cuantificar ni identificar *Pss*.



## Resultados

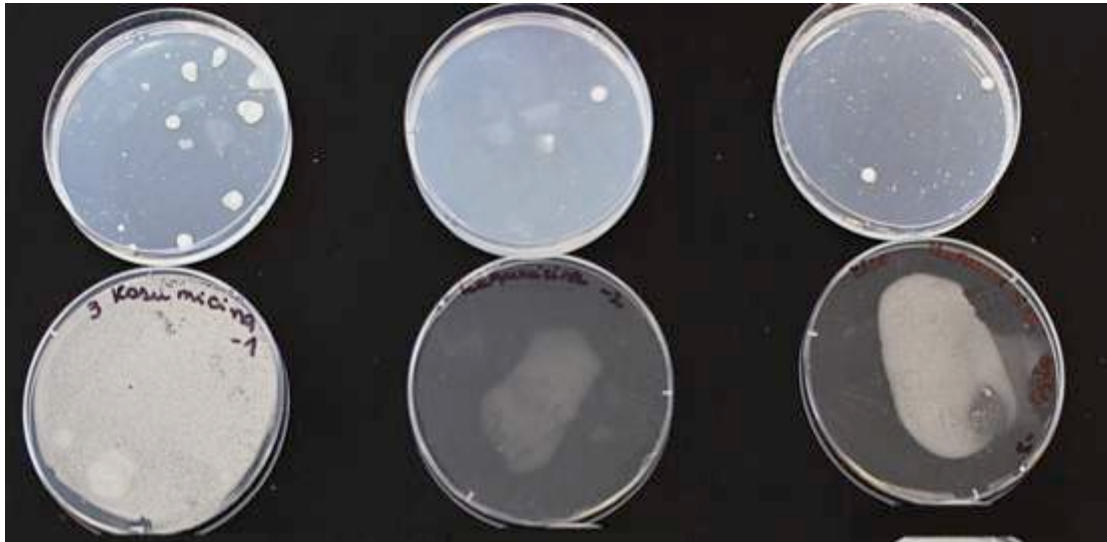
### Metodología Suspensión en medio de cultivo *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

TRATAMIENTO	RECUENTO DE UNIDAD FORMADORA DE COLONIAS <i>Pss</i>										
	24 hrs			48 hrs			72 hrs				
	UFC	E.E		UFC	E.E		UFC	E.E			
0 Testigo	6,3*10 <sup>4</sup>	b	6,7	6,26*10 <sup>4</sup>	b	7,1	6,26*10 <sup>4</sup>	c	7,2		
1 AGRYGENT PLUS	0	a	6,7	0	a	7,1	0	a	7,2		
2 AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu	0	a	6,7	0	a	7,1	0	a	7,2		
3 Kasugamicina	0	a	6,7	0	a	7,1	2,3*10 <sup>4</sup>	b	7,2		
4 Estreptomicina + Oxitetraciclina	0	a	6,7	0	a	7,1	0	a	7,2		
5 Bacillus spp. + Brevibacillus brevis	N.C*	-	-	N.C*	-	-	N.C*	-	-		
6 BIOREND Cu	0	a	6,7	0	a	7,1	0	a	7,2		
7 Octanoato de Cobre	0	a	6,7	0	a	7,1	0	a	7,2		
8 Sulfato de cobre pentahidratado	0	a	6,7	0	a	7,1	0	a	7,2		
	<b>p-valor**</b>	<b>&lt;0,0001</b>			<b>&lt;0,0001</b>			<b>&lt;0,0001</b>			

\*N.C: No cuantificable ni identificable.

\*\* Medias con una letra común no son significativamente diferentes según test LSD-Fisher (p>0,05).





## Resultados

### Metodología Suspensión en medio de cultivo *Xanthomonas arborícola pv. juglandis*

Evaluación de 24 h todos los tratamientos controlaron efectivamente el desarrollo de *Xaj* (diferencia estadística T0  $5,8 \cdot 10^2$  UFC ).

Evaluación 48 h T0, no cuantificables.

T5 *Bacillus* spp. + *Brevibacillus brevis* ingredientes activos y capacidad de formación de colonias, no permitió cuantificar ni identificar *Xaj*.



**Metodología Suspensión en medio de cultivo**  
***Xanthomonas arborícola pv. juglandis***

	TRATAMIENTO	RECUENTO DE UNIDAD FORMADORA DE COLONIAS <i>Xaj</i>		
		24 hrs		
		UFC		E.E
0	Testigo	6,E+02	b	0,7
1	AGRYGENT PLUS	0,E+00	a	0,7
2	AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu	0,E+00	a	0,7
3	Kasugamicina	0,E+00	a	0,7
4	Estreptomicina + Oxitetraciclina	0,E+00	a	0,7
5	<i>Bacillus spp. + Brevibacillus brevis</i>	N.C*	-	-
6	BIOREND Cu	0,E+00	a	0,7
7	Octanoato de Cobre	0,E+00	a	0,7
8	Sulfato de cobre pentahidratado	0,E+00	a	0,7
		<b>p-valor**</b>	<b>&lt;0,0001</b>	

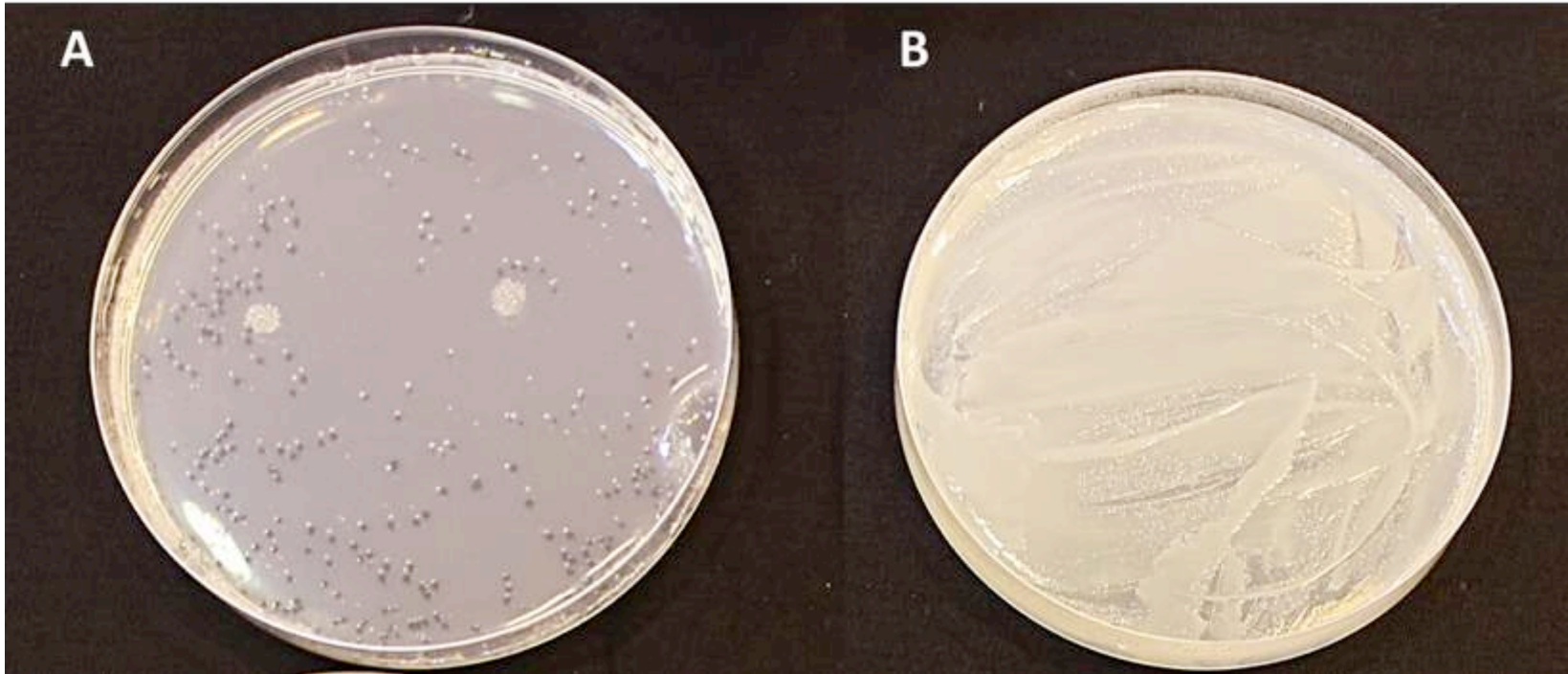
\*N.C: No cuantificable ni identificable.

\*\* Medias con una letra común no son significativamente diferentes según test LSD-Fisher ( $p>0,05$ ).



## Resultados

### Metodología Suspensión en medio de cultivo *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*



## Conclusiones

### **Concentraciones elevadas de bacterias (metodología de Kirby – Bauer)**

Agrygent Plus (T1), Agrygent Plus + Biorend Cu (T2) y Estreptomycin + Oxitetraciclina (T4) fueron los tratamientos más efectivos en el control de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

Agrygent Plus (T1) y Agrygent Plus + Biorend Cu (T2) fueron los más efectivos en el control de *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*.

### **Concentraciones medias a bajas de bacterias (metodología de recuento de UFC en dilución)**

Todos los tratamientos controlaron efectivamente el desarrollo de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*.





[www.lagric.com](http://www.lagric.com)

¡Muchas gracias!