

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



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 ⁻¹)	Patógeno
0	TESTIGO	Testigo	-	<i>Pss</i> y <i>Xaj</i>
1	AGRYGENT PLUS	Gentamicina	80	<i>Pss</i> y <i>Xaj</i>
2	AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu	Gentamicina + Quitosano	80 + 200	<i>Pss</i> y <i>Xaj</i>
3	KASUMIN	Kasugamicina	250	<i>Pss</i>
			350	<i>Xaj</i>
4	TESTIGO COMERCIAL	Estreptomicina + Oxitetraciclina	60	<i>Pss</i> y <i>Xaj</i>
5	TESTIGO COMERCIAL	<i>Bacillus spp. + Brevibacillus brevis</i>	150	<i>Pss</i> y <i>Xaj</i>
6	BIOREND Cu	Quitosano	200	<i>Pss</i> y <i>Xaj</i>
7	CUEVA	Octanoato de Cobre	200	<i>Pss</i> y <i>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*

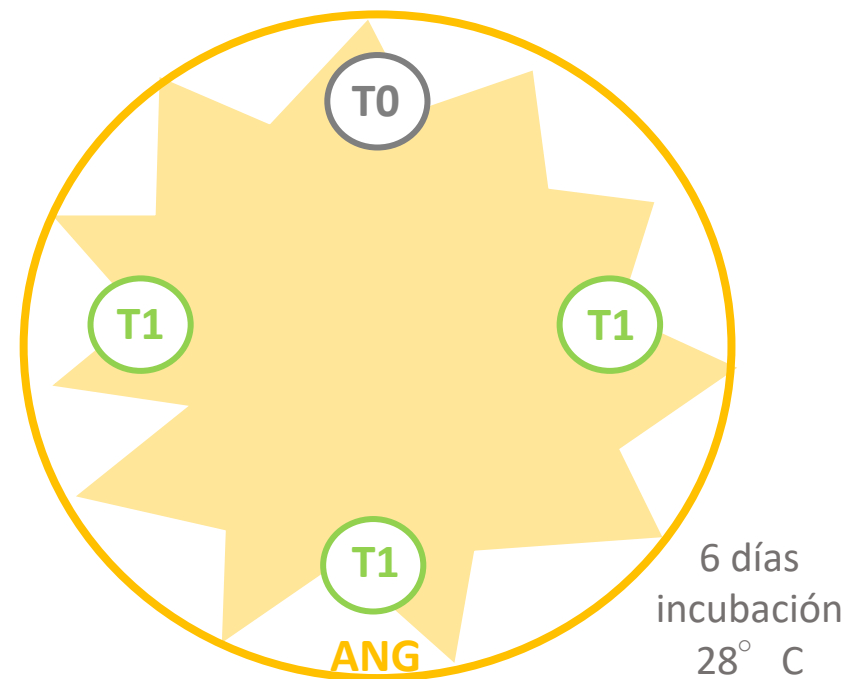
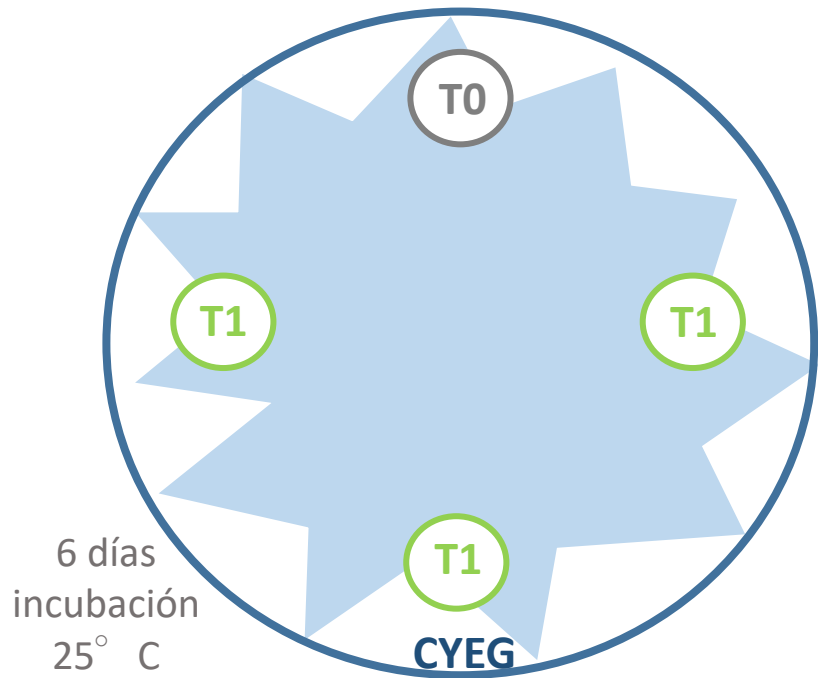


Materiales y métodos

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

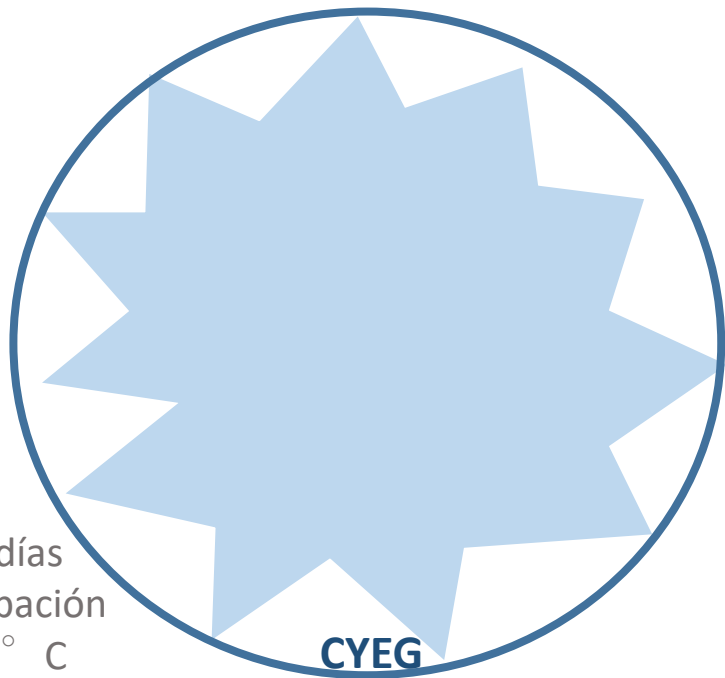


Tratamientos; evaluación de pH ajustado a 6,5 para solubilidad
Medición los halos de inhibición del desarrollo

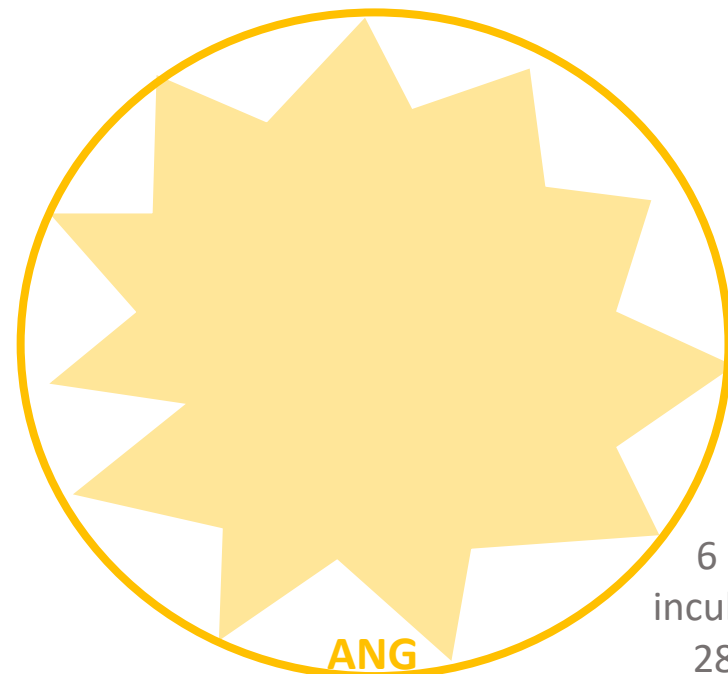
Materiales y métodos

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*

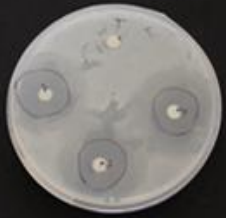
TRATAMIENTO	Halo de Inhibición (mm) <i>Pss</i>											
	24 hrs		48 hrs		72 hrs		144 hrs					
	mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E	mm	E.E				
0 Testigo	0,0	a	0,56	0,0	a	0,89	0,0	a	1,06	0,0	a	1,21
1 AGRYGENT PLUS	19,7	c	0,56	16,6	c	0,89	15,3	bc	1,06	14,0	b	1,21
2 AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu	21,7	d	0,56	18,1	c	0,89	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 Estreptomicina + 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
p-valor*	<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001					

* 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



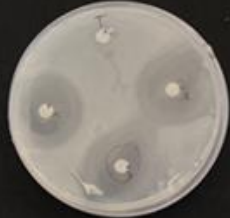
T2

AGRYGENT PLUS +
BIOREND Cu

R1



R2



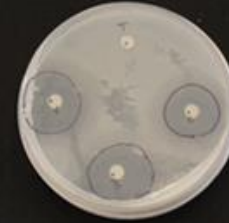
R3



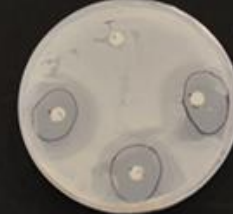
R4



R5



R6



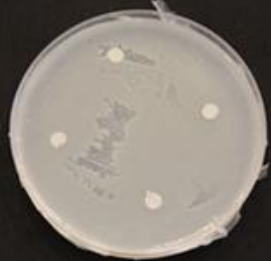
T3

KASUGAMICINA

R1



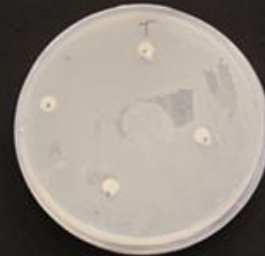
R2



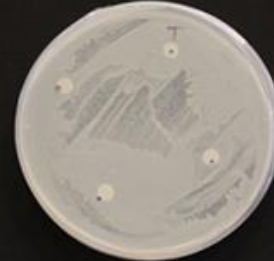
R3



R4



R5



R6



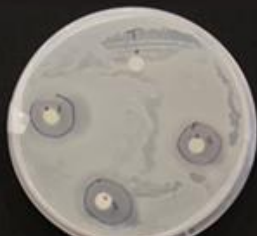
T4

Estreptomicina
+ Oxitetraciclina

R1



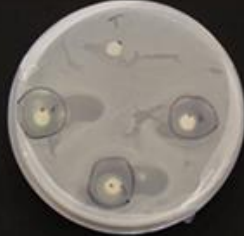
R2



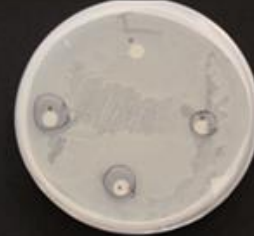
R3



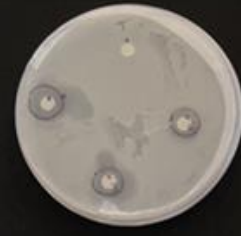
R4



R5



R6



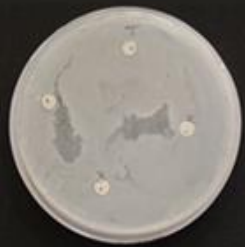
T5

Bacillus spp. +
Brevibacillus
brevis

R1



R2



R3



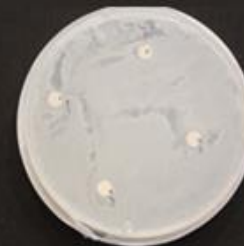
R4



R5



R6



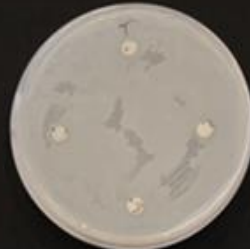
T6

BIOREND Cu

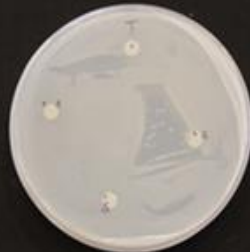
R1



R2



R3



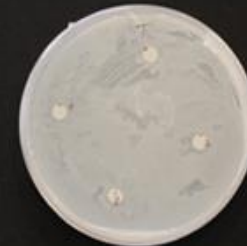
R4



R5



R6



T7

Octanoato de
Cobre

R1



R2



R3



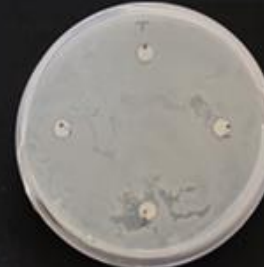
R4



R5



R6



T8

Sulfato de cobre
pentahidratado

R1



R2



R3



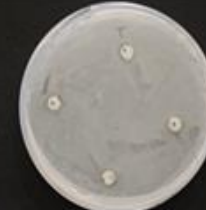
R4



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

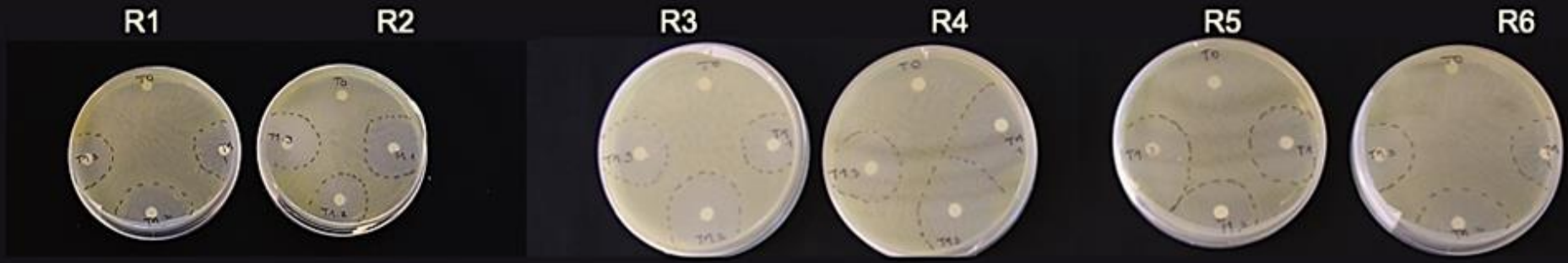
Metodología Kirby - Bauer *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*

	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
	p-valor	-		<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001	

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

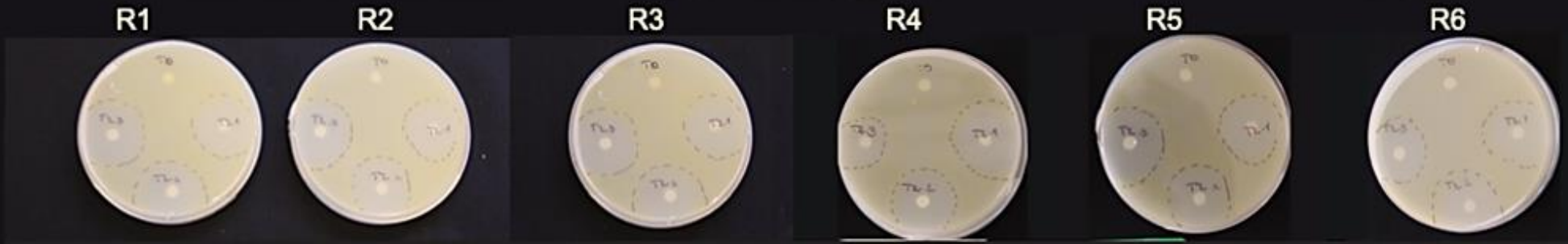
T1

AGRYGENT PLUS



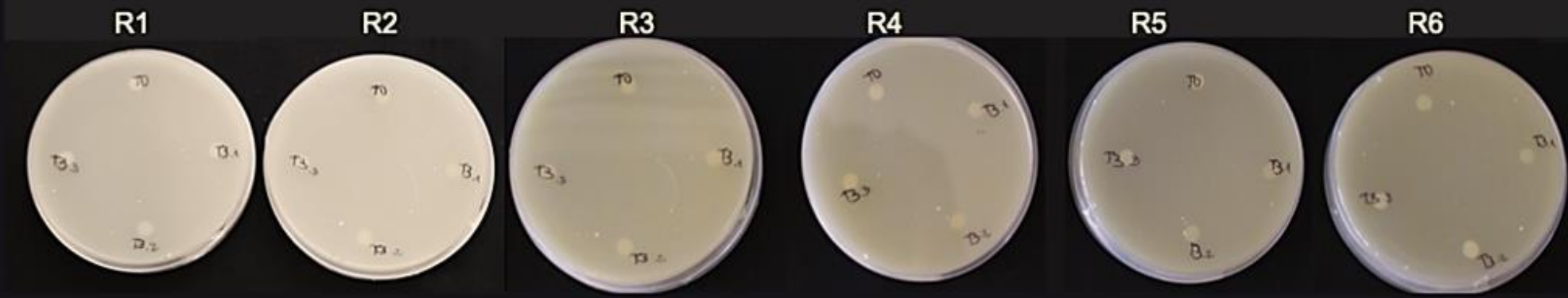
T2

AGRYGENT PLUS + BIOREND Cu



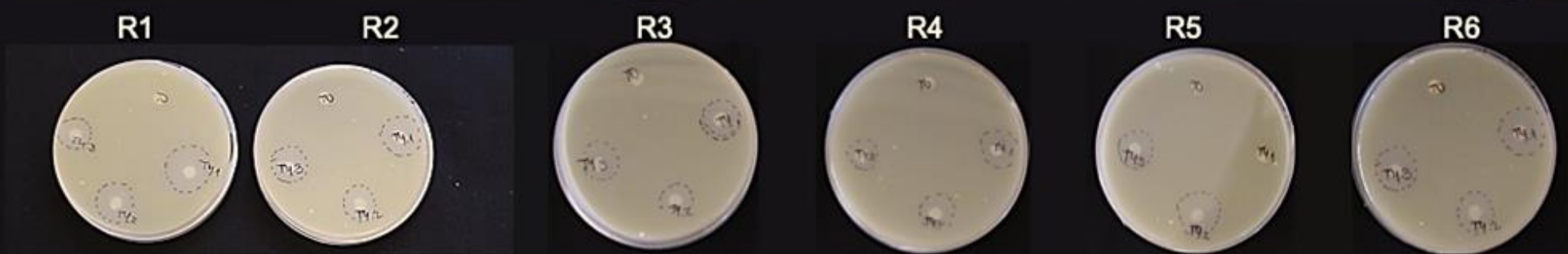
T3

KASUGAMICIN A



T4

Estreptomicina + Oxitetraciclina





T5

Bacillus spp. +
Brevibacillus
brevis

R1

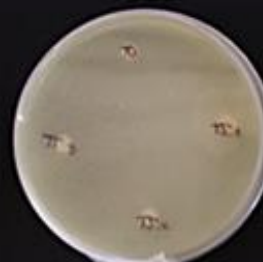
R2

R3

R4

R5

R6



T6

BIOREND Cu

R1

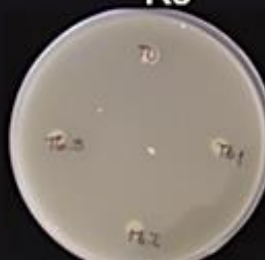
R2

R3

R4

R5

R6



T7

Octanoato de
Cobre

R1

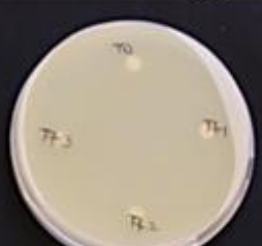
R2

R3

R4

R5

R6



T8

Sulfato de cobre
pentahidratado

R1

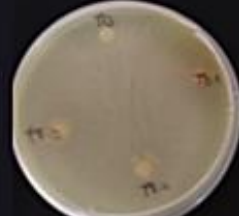
R2

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

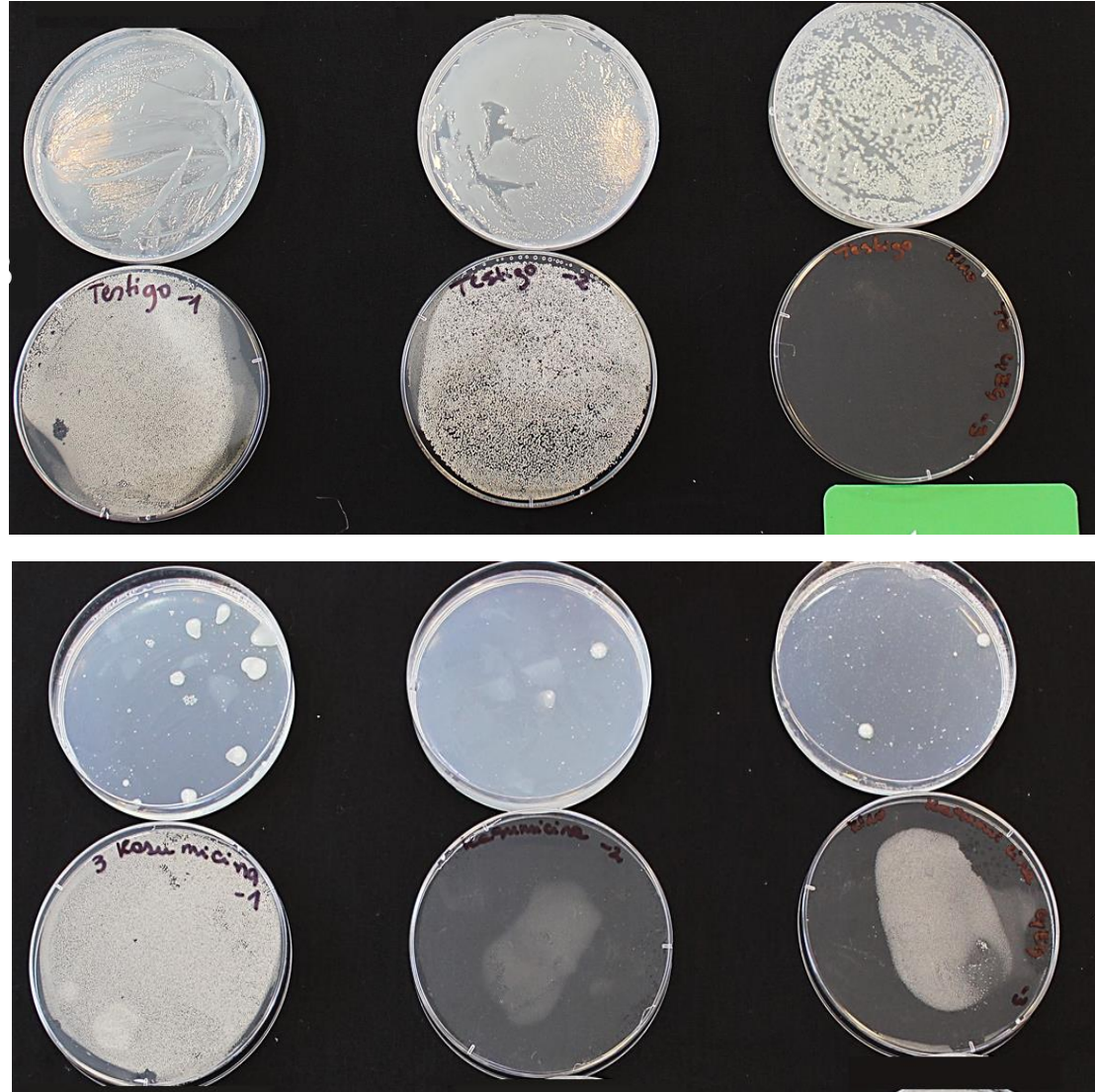
Metodología Suspensión en medio de cultivo

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	UFC	E.E		
0 Testigo	6,3*10 ⁴	b	6,7	6,26*10 ⁴	b	7,1		6,26*10 ⁴	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 ⁴	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	
	p-valor**			<0,0001			<0,0001			<0,0001	

*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
		p-valor**	<0,0001	

*N.C: No cuantificable ni identificable.

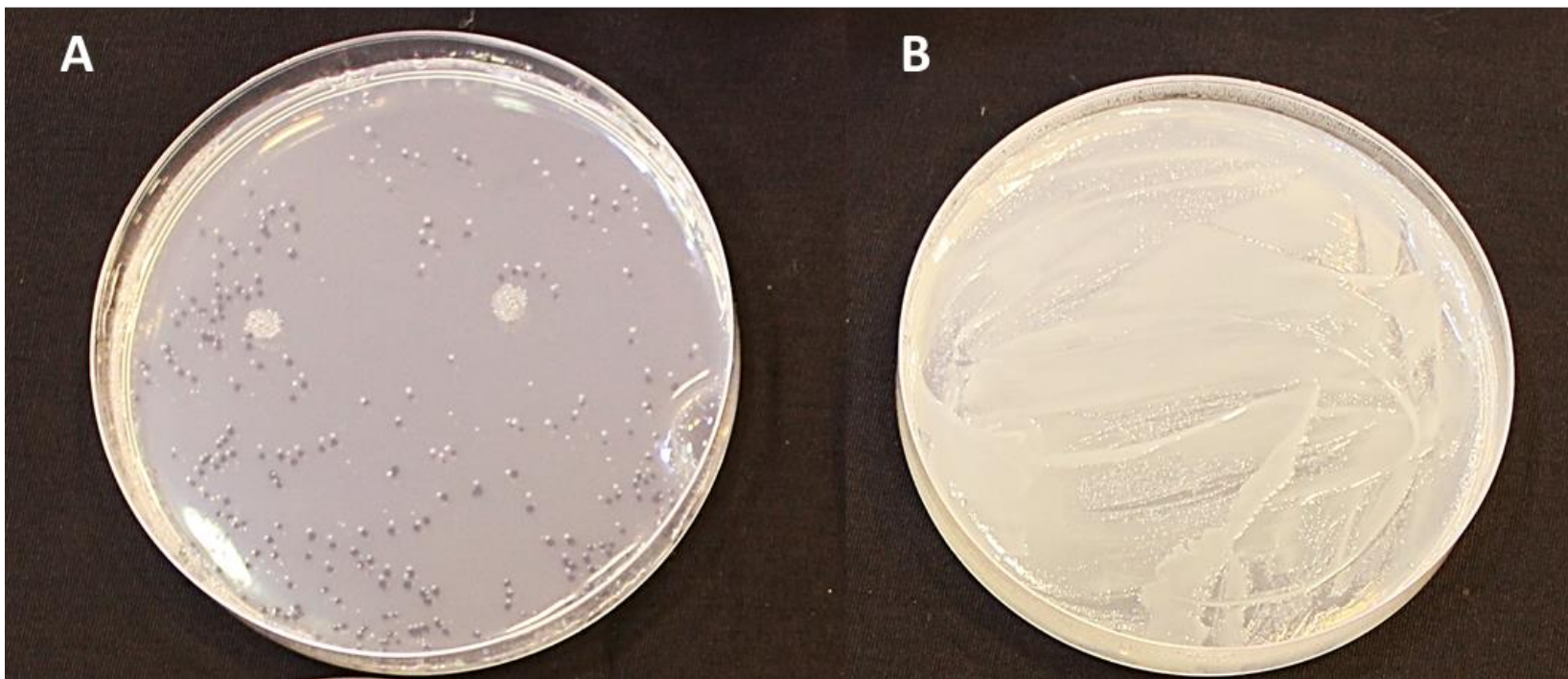
** Medias con una letra común no son significativamente diferentes según test LSD-Fisher (p>0,05).



Resultados

Metodología Suspensión en medio de cultivo

Xanthomonas arborícola pv. *juglandis*



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

¡Muchas gracias!