

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS EN CULTIVOS DE
PAPAYA (*Carica papaya*) EN LAS FINCAS EL PANTANAL Y EL SUBÍN, UBICADAS
EN EL DEPARTAMENTO DE EL PETÉN, GUATEMALA**

Informe de Tesis

Presentado por

María Gabriela Ventura Prera

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, Mayo del 2007

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS EN CULTIVOS DE
PAPAYA (*Carica papaya*) EN LAS FINCAS EL PANTANAL Y EL SUBÍN, UBICADAS
EN EL DEPARTAMENTO DE EL PETÉN, GUATEMALA**

María Gabriela Ventura Prera

Química Bióloga

Guatemala, Mayo del 2007

Junta Directiva

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D.

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto

Secretario

Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.

Vocal I

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal II

Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez

Vocal III

Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela

Vocal IV

Br. Ángel Jacobo Conde Pereira

Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Por acompañarme y guiarme por el camino de mi vida.

A MIS PADRES

Carolina Prera Guinther, por brindarme la fortaleza de un padre y el amor de una madre, gracias por ser ambos. Jorge Alejandro Ventura, por brindarme el honor de ser tu hija y llevarte en mi corazón.

A MI HERMANO

Jorge gracias por enseñarme a ser siempre mejor y a no darme por vencida, gracias también por la hermosa familia que me ha brindado: René Alejandro, Valeria y Daniela.

A EDITH

Gracias por ser mi amiga y mi hermana.

A MI ABUELITA Y A ELFA ROLDÁN

Gracias por brindarme su amor y sabiduría (cada una a su manera)

A MIS TIOS

Byron, Maquito y especialmente a Carmina por creer en mi.

A TODOS MIS AMIGOS

Pamela, Erwin, Ana Gracia, María José, Cecy, Eva, Dunia, Alvaro, Gaby Raxcaco, Sophi, Vanessa, Gaby Oliva, Rina, Mitzi, Rodrigo, Ana y José por todas las aventuras compartidas, ustedes son mi segunda familia. Gaby Raxcacó gracias por ser mi apoyo sin ti no fuera posible este acto.

AGRADECIMIENTOS

A LA GLORIOSA TRICENTENARIA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

A FOMIN OIRSA

A MIS ASESORES: INGENIERO MANUEL CANO Y LICENCIADO MARTIN GIL

A MIS REVISORES: LIC. OSBERTH MORALES Y LICDA. MARGARITA PAZ

AL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Por abrirme las puertas como profesional y un especial agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron en mi formación humana y profesional.

I. Resumen

Las enfermedades de las plantas son uno de los principales problemas que tiene que afrontar la agricultura ya que reducen las cosechas, disminuyen la calidad del producto y limitan al mismo tiempo la disponibilidad de alimentos para el consumo animal y humano. Las pérdidas en los cultivos pueden ser severas tanto en zonas tropicales como subtropicales. Las bacterias fitopatógenas son microorganismos que causan enfermedades en plantas. Los cinco géneros más importantes como agentes causales de infecciones bacterianas en cultivares son: *Corynebacterium* sp., *Erwinia* sp., *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp. y *Xanthomonas* sp.

La principal razón de la presente investigación realizada en cultivares de papaya ubicados en el departamento de El Petén, Guatemala, fue identificar dichas bacterias a través de la marcha bacteriológica establecida por la FAO para comprobar su presencia en los cultivares y establecer su causalidad. La metodología propuesta incluyó las siguientes etapas: reconocimiento del área geográfica, observación de síntomas, características del cultivar, observación del flujo bacteriano, suspensión de bacterias, siembra de bacterias, selección de colonias y tinción de bacterias para llegar a la identificación de las mismas a través de una marcha bacteriológica. Los resultados confirmaron la presencia de *Erwinia* sp. en el fruto de papaya proveniente únicamente de las muestras de la Finca El Pantanal. El 76.25% de los síntomas encontrados: manchas con exudación y sin exudación y pudrición del fruto son causados por *Erwinia* sp. Se recomienda el seguimiento del estudio para la identificación de la especie de *Erwinia* sp. encontrada en los frutos de papaya (*Carica papaya*) provenientes de la Finca El Pantanal. En la Finca El Subín no se encontró bacterias fitopatógenas.

II. Introducción

Las enfermedades de las plantas son uno de los principales problemas que tiene que afrontar la agricultura ya que reducen las cosechas, disminuyen la calidad del producto y limitan al mismo tiempo la disponibilidad de alimentos para el consumo animal y humano. Actualmente en Guatemala se utiliza la sintomatología de la planta para diagnosticar que un cultivo se encuentra afectado por bacterias fitopatógenas. Es importante reconocer que esta forma de diagnóstico no es del todo correcta; ya que muchos de los síntomas observados en las plantas pueden deberse a deficiencias de nutrientes, infecciones por hongos o virus y no necesariamente a una infección por bacterias fitopatógenas. El principal objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia o ausencia de bacterias fitopatógenas en dos plantaciones de Papaya en el departamento de Petén, Guatemala. Los principales géneros de bacterias fitopatógenas que pudieran afectar el fruto, raíz y tallo de la papaya son *Erwinia*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* y *Xanthomonas*. La identificación de estos géneros se realizó a través de una marcha bacteriológica establecida por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) (1).

III. Antecedentes

A. Generalidades

En 1994, con la creación de la oficina del viceministro de Agricultura en Peten, se inician las gestiones para el reconocimiento de dicho departamento como área libre de la mosca del mediterráneo y la evaluación del cultivo de papaya. En 1997 Guatemala inicia gestiones para exportar papaya hawaiana hacia los Estados Unidos. En 1999 se realiza un estudio preliminar sobre “Evaluación del riesgo fitosanitario para exportación de papaya (*Carica papaya*) a los Estados Unidos, procedente de Petén Guatemala”. En la actualidad existen varias plantaciones comerciales que superan las 45 hectáreas con papaya Maradol, Tainung y Sunrise, cuya producción se está comercializando en el mercado nacional, centroamericano y con un potencial para competir en el mercado internacional (2-3).

El Proyecto Regional de Manejo Integrado de Plagas CATIE, identificó problemas fitosanitarios en cultivares de papaya en el año 1985, tales como antracnosis y virus del mosaico y sin embargo no se reportan estudios de identificación de bacterias fitopatógenas que afecten dichos cultivares (4).

El compendio “Crop Protection” afirma la existencia de enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas en cultivos de papaya como *Erwinia carotovora* causante de la podredumbre blanda de la raíz. Sin embargo, en los informes presentados en este compendio no se hace mención de enfermedades causadas por dichas bacterias en cultivares de papaya en la República de Guatemala (5).

El Ministerio de Agricultura de El Salvador, Nicaragua y México no reportan estudios de investigación acerca de bacterias fitopatógenas que afecten los cultivos de papaya en estos países (6-8).

En 1999, Corado realizó un estudio en el que inoculó el tejido enfermo del fruto en Agar Papa Dextrosa y Agar Nutritivo, sin encontrar evidencia de bacterias fitopatógenas en los cultivos de papaya analizados (9).

B. Taxonomía de la Papaya

Familia: *Caricaceae*

Género: *Carica*

Especie: *Carica papaya*

Nombres Comunes: Papaya (español); Papaw, papaya (Inglés); Mamao (Brasil); Papaya Calentana, Fruta Bomba (Colombia); Lechosa (Venezuela) (10).

C. Agroecosistema

Es una planta arborescente de crecimiento rápido, con una vida relativamente corta de dos años (aunque puede vivir hasta 20 años), el tallo es sencillo o algunas veces ramificado, de 2 – 10 metros de altura, tallo recto, cilíndrico, suave (esponjoso – fibroso), jugoso, de color gris o café grisáceo y endurecido por la presencia de cicatrices grandes y prominentes. El tallo posee entre 10 – 30 centímetros de diámetro.

La planta de papaya comienza a producir frutos entre los 9-10 meses de edad, continuando hasta los tres años; luego de este período se reduce la cantidad y calidad del fruto. Es aconsejable cosechar el fruto de papaya antes de su completa maduración en forma directa del árbol debido al rápido deterioro del mismo (11).

La papaya es cultivable desde una altitud de 0 hasta 600 msnm, con una precipitación de 1500 – 2000 mm de lluvia, humedad relativa de 60 – 85% y clima cálido. La planta requiere de agua durante todo el año para asegurar una cosecha

constante y para que los frutos alcancen un contenido de azúcares óptimos, buen sabor y color.

La papaya es una de las frutas tropicales más conocidas y consumidas a nivel mundial desarrollándose en los países tropicales y sub-tropicales; se aprovecha la fruta fresca y sus derivados debido a los altos niveles nutricionales que posee y a sus propiedades medicinales.

De acuerdo a los niveles nutricionales, el fruto de la papaya contiene principalmente agua y carbohidratos como sacarosa, glucosa y fructosa; también posee vitaminas (vitamina A, complejo B y C); en menor proporción contiene potasio, calcio y hierro.

En términos medicinales, el fruto verde, produce una savia lechosa que al secar proporciona un polvo con propiedades digestivas debido a una enzima llamada papaína, la cual es utilizada como sustituto de la peptina en medicina digestiva (12).

D. Características Farmacobotánicas

1. Sistema radicular

Muy superficial, lo que condiciona el laboreo del terreno. Es de forma engrosada y de color blancuzco en su interior. En suelos profundos y sueltos crece hacia abajo casi verticalmente hasta 60 cm. Produce unas 25 raíces secundarias de 2.5 – 5 cm de grueso. Las raíces secundarias permanecen cerca del tronco en un 80 %, formando un círculo de unos 45 cm de diámetro alrededor del tronco y un 90 % de ellas se desarrollan en un diámetro de 60 cm alrededor del tronco. Muy pocas raíces se extienden hasta 160 cm del tronco. Las terciarias tienen poca duración y se extienden hasta 100 cm del tronco (10).

2. Hojas

Son alternas, aglomeradas en la parte distal del tallo, pecíolo largo, conspicuas de 25 a 75 centímetros de diámetro, lisas, más o menos profundamente palmeadas con venas medianamente robustas; la base es profundamente cordada con lóbulos sobre puestos; hay de 7 a 11 lóbulos grandes, cada uno con la base ancha o un tanto constreñido y acuminado, ápice agudo, pinatinervado e irregularmente pinatilobado (figura No 1). El haz es de color verde oscuro o verde amarillo, brillante, las venas reticuladas; en el envés son de color verde amarillento pálido y opaco con nervaduras y venas prominentes, el peciolo es redondeado de color verde amarillento, hueco, teñido con morado claro o violeta, frágil de 25 – 100 cm de largo y de 0.5 – 1.5 cm de diámetro.

Figura No 1: Planta femenina mostrando hojas y pequeños frutos



Fuente: <http://www.texasriviera.com/greenthumbs/caricapapaya.html>

3. Flores

Pueden encontrarse plantas con flores femeninas, con flores hermafroditas y con flores masculinas.

Las flores femeninas (figura No 2) tienen un cáliz formado por una corona o estrella de 5 puntos muy pronunciada y fácil de distinguir. Encima de este se encuentra el ovario, cubierto por los sépalos; éstos son cinco, de color blanco amarillento y, cuando muy tiernos son ligeramente de color violeta en la punta; no están soldados. Los estigmas son cinco, de color amarillo y, tienen forma de abanico. Los frutos son globosos y grandes. No producen polen, por lo que para la fecundación dependen del polen producido por flores masculinas o hermafroditas de otro árbol. Los frutos de estas flores son globosos y lobulados. Otro tipo de flor es la llamada hermafrodita elongata, posee 10 estambres colocados en dos grupos; la flor es alargada y de forma cilíndrica, al igual que el ovario, produce frutos alargados. El último tipo de flor es la intermedia o irregular, no es una flor bien constituida, produce frutos deformes.

Figura No 2: Flores femeninas



<http://www.texasriviera.com/greenthumbs/caricapapaya.html>

Las flores masculinas crecen en largos pedúnculos de más de 50 centímetros de largo y en cuyos extremos se encuentran racimos constituidos por 15 – 20 flores (figura No 3). Las flores están formadas por un largo tubo, con los pétalos soldados, en cuyo interior se encuentran 10 estambres, colocados en dos grupos de cinco cada

uno. La flor posee un pequeño pistilo rudimentario y carece de estigmas. Estas flores no dan frutos, pero si lo hacen son frutos pequeños y de mala calidad. Este es el caso más frecuente en papaya criolla, que incluyen individuos con los tres sexos.

Figura No3: Flores masculinas



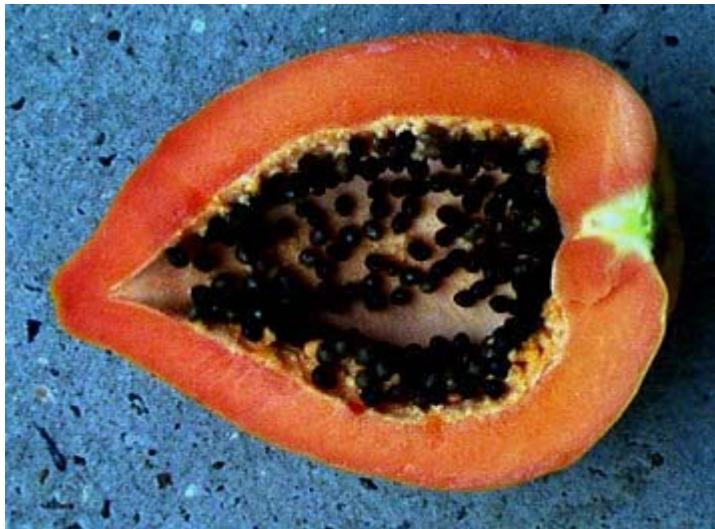
<http://www.texasriviera.com/greenthumbs/caricapapaya.html>

4. Fruto

El fruto es una baya de tamaño, peso y forma diferente, dependiendo del cultivar o selección, mide de 10 – 60 centímetros de largo y llega a pesar hasta varios kilos (figura No 4). El color de la pulpa también depende de la selección, normalmente es amarillo rojo – anaranjada, de textura suave y de un espesor de 3 – 5 centímetros. La piel del fruto es suave y contiene un líquido lechoso y blanco (látex) que se solidifica rápidamente al inicio de la maduración del fruto, el látex va desapareciendo gradualmente. El patrón de maduración del fruto depende mucho del cultivar y de las condiciones ambientales, pero en general madura desde adentro hacia afuera. La cáscara se torna verde oscuro a verde claro y se torna verde dorado. Las semillas están en la cavidad interna del fruto. La planta puede producir unos 100 frutos por año; los frutos provenientes de las plantas femeninas son lisos y redondeados, grandes con muchas semillas y con una cicatriz pentagonal en la base del fruto. Los frutos producidos por plantas hermafroditas son elipsoides o alargados, con surcos en la superficie y con una cicatriz redondeada en la base. Son más

pequeños con más pulpa, menos semilla y a veces menos sabor que aquéllos provenientes de flores femeninas. Las plantas masculinas ocasionalmente producen frutos, pero éstos casi nunca son comerciales.

Figura No 4: Fruto de Papaya



<http://www.texasriviera.com/greenthumbs/caricapapaya.html>

E. Producción de Papaya en Guatemala y Comercialización

En Guatemala se han identificado algunas zonas productoras adecuadas para el cultivo de papaya, tales como la Costa del Pacífico, Retalhuleu, Suchitepéquez, Escuintla, Santa Rosa, Quetzaltenango y San Marcos; en la región oriental los departamentos de Jutiapa, Zacapa, Chiquimula, El Progreso e Izabal y en la región norte, el departamento del Petén (13).

Actualmente han evaluado en el país variedades criollas mejoradas e introducidas, así como híbridos, los cuales se describen a continuación:

1. Variedad Maradol:

Es el cultivar más precoz, ya que su floración inicia aproximadamente a los 3 meses de trasplante y su cosecha alrededor de 7 meses después del trasplante y puede mantenerse hasta los 20 meses o más. La fructificación inicia al menos 50 centímetros sobre el nivel del suelo.

Son plantas de porte bajo de 1.20 – 1.70 metros de altura del nivel del suelo a la yema apical (cogollo), al momento de iniciar la cosecha y puede llegar hasta 2.30 metros en plena producción. Tiene un alto potencial de producción, ya que se ha logrado producir arriba de 200 toneladas por hectárea, en condiciones óptimas se obtienen alrededor de 120 toneladas por hectárea. El peso promedio de los frutos es de 1.5 – 2.6 kilogramos, prevalecen los frutos alargados (hermafroditas), siendo el tamaño y forma muy adecuados para su comercialización.

El exterior de las frutas es amarillo – anaranjado brillante, su interior es de color rojo salmón intenso, característica muy apreciada por el consumidor. Posee un adecuado contenido de azúcares (aproximadamente 12° Brix), su sabor es exquisito, la pulpa tiene una excelente consistencia, siendo ésta una característica distintiva.

2. Variedad Sunrise:

Posee frutos pequeños de aproximadamente 15 – 20 centímetros con un peso entre 425 – 625 gramos y un contenido de azúcares de 13 – 14° Brix. Este es el fruto preferido por los mercados internacionales de todo el mundo.

3. Híbrido Tainung No. 2:

Produce frutos alargados de 1.1 kilogramos, la pulpa es de color rojo – anaranjado, con excelente sabor y buena vida de anaquel. Su contenido de azúcares es de aproximadamente 11 – 12° Brix, su textura es suave y consistente, su cosecha

se inicia a los 8 meses después del trasplante; produce alrededor de 130 – 160 frutos en dos años.

4. Híbrido Tainung No. 5:

La longitud de los frutos oscila entre 0.30 -0.40 metros, con un peso promedio de 1.5 kg y 10 °Brix. El inicio de la cosecha ocurre a los 7 meses después del trasplante, produce entre 130 -165 frutos en dos años.

5. Variedad Red Lady:

El fruto mide aproximadamente 0.25 – 0.30 metros, el peso promedio es de 1.5 -2.0 kg, la pulpa es rojiza y posee entre 13 – 14° Brix. La cosecha se inicia a los 7 meses después del trasplante y produce entre 130 -160 frutos en dos años.

6. Variedad Sunset:

El color de la pulpa es rojizo – rosado, dulce, con 13° Brix en promedio. El tamaño de la fruta es de 400 – 500 gramos. Fruta en forma de pera, con un pequeño cuello en la base de la fruta.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación –FAO-, para 1998 la producción mundial de papaya se estimó en 5.1 millones de toneladas métricas. Brasil es el principal productor y comercializador de la papaya. México es el productor más grande de la región de Norte América, siendo el principal exportador para Estados Unidos y Canadá. En la Tabla 1 se observan los principales países que producen papaya a nivel mundial.

Tabla 1: Principales países productores de papaya a nivel mundial (1,998)

País	Superficie (ha)	Producción (toneladas métricas)	Rendimiento (toneladas métricas)
Brasil	35,000	1,7000,000	48.6
China	4,360	149,163	34.2
Colombia	2,300	64,000	27.8
Ecuador	5,000	69,159	13.8
Filipinas	5,500	67,000	12.2
India	40,000	450,000	11.3
Indonesia	23,551	336,068	14.3
Malasia	5,100	51,000	10.0
México	17,500	498,000	28.5
Nigeria	90,000	751,000	8.3
Perú	13,797	164,813	11.9
Tailandia	9,700	118,000	12.2
Venezuela	5,377	88,486	16.5
Yemén	3,762	62,517	16.6
Mundial	298,818	5,082,396	17.00

Fuente: Faostat database FAO, 1990 – 1998

Los principales mercados de consumo, por lo general están dominados por un solo proveedor, en este caso se encuentran los Estados Unidos, que recibe la mayor parte de sus importaciones de México (70 %); para Europa (España, Holanda, Francia), el principal proveedor es Brasil y para Japón es Estados Unidos por medio de su producción en Hawaii (14-15).

De la Unión Europea, Holanda es el principal importador con aproximadamente 40 % del consumo. Brasil es el principal abastecedor (41 %), Costa Rica (27 %), Bélgica (22 %) y Malasia (6 %) (15).

F. Deficiencias de nutrientes

El nitrógeno, el fósforo y el potasio (tabla 2) influyen sobre el diámetro del tallo. Dentro de ciertos límites, a mayor cantidad disponible de estos elementos mayor será el diámetro del tallo. De igual modo el rendimiento parece estar directamente relacionado con el diámetro del tallo (12-16).

Usualmente una deficiencia de nitrógeno se presenta más rápidamente y en forma más drástica que la de cualquier otro nutrimento. Las plantas lucen pálidas y pequeñas. Los síntomas se manifiestan primero en las hojas más viejas, que cambian de color verde oscuro al verde amarillento, notándose un crecimiento general lento, hojas más pequeñas e incluso deformes (12).

Las hojas tienen pecíolos más cortos y menos lóbulos que las plantas que no tienen deficiencia de nitrógeno. La deficiencia de este elemento favorece el aborto floral y la formación de frutos escasos y pequeños.

Por otro lado, el exceso de nitrógeno está asociado a la producción excesiva de brotes laterales (chupones) vigorosos, pero improductivos, además las plantas tienden a retrasar su floración y a producir frutos a mayor altura en el tallo.

La papaya generalmente responde a la fertilización fosforada muy bien. Se ha demostrado que al aumentar la disponibilidad de fósforo también aumenta el número de frutos producidos por planta, el diámetro del tallo y la altura de la planta pueden ser mayores, pero no hay efectos significativos en el tiempo o altura a la que la planta florece.

Los síntomas de deficiencia de fósforo se notan primero en las hojas más viejas. Se inicia con la aparición de líneas rojizas paralelas a las nervaduras y en los pecíolos. Luego aparece un moteado amarillo a lo largo de los márgenes de las

hojas. Si la deficiencia es severa, el moteado se transforma en necrosis (muerte de tejidos) las puntas y los márgenes de los lóbulos se enrollan hacia arriba.

El potasio juega un papel clave en el crecimiento del fruto y en la acumulación de azúcares, por lo que su disponibilidad en niveles adecuados después de la floración es muy importante. El diámetro del tallo aumenta al elevarse la dosis de potasio, pero el suministro de este nutrimento tiene poco efecto en la floración de la papaya. La deficiencia de potasio provoca que las raíces crezcan pobremente. La deficiencia aparece rápidamente en el follaje. El ángulo del pecíolo de la hoja con el tallo es más abierto, de modo que los pecíolos están casi paralelos al suelo o incluso orientados hacia el suelo, en lugar de estar orientados hacia arriba como es normal.

Tabla 2: Síntomas de deficiencia de nutrimentos en papaya en plantación de 8 meses de edad

Nutrimento	Síntomas de deficiencia	[] crítica (%)	[] adecuada (%)
N (nitrógeno)	Hojas verde amarillento, lóbulos menos pronunciados de lo normal, entrenudos cortos.	1.28	
P (fósforo)	Manchas amarillas y negras en los bordes de las hojas; bordes hacia arriba. Las hojas nuevas son verde oscuro.	0.185	
K (potasio)	Hojas inclinadas, se secan de los bordes hacia el centro. Reducción de la cantidad de hojas y frutas.	2.78	
Ca (calcio)	Hojas de color verde olivo con manchas amarillas.	0.22	
Mg (magnesio)	Manchas café oscuro en los bordes de las hojas. Los espacios entre nervaduras permanecen verdes.	0.82	
S (azufre)	Hojas ligeramente amarillas. Reduce el crecimiento de las plantas.		
Fe (hierro)	Hojas pálido amarillentas. La parte superior (porción apical) se oscurece y se quiebra.		20-28 ppm
Mn (manganeso)	Hojas con puntas pálido amarillentas. Coloración que se extiende hacia la base.	4.3 ppm	25-150 ppm
B (boro)	Hojas deformes y amarillentas. La parte superior presenta aspecto de racimo. Frutos con abultamientos.	11 ppm	20-50 ppm
Cu (cobre)	Reducción del crecimiento de las hojas; las jóvenes son pálido con manchas color café en las puntas y entre las nervaduras.	4.7 ppm	5-10 ppm
Zn (zinc)	Reducción del crecimiento de las hojas que presentan clorosis en las nervaduras; plantas achaparradas con poca floración.		40-60 ppm
Mo (molibdeno)	Reducción del crecimiento, clorosis en las puntas de las hojas, que adquieren apariencia de papel.	0.66 ppm	

Fuente: Faostat database FAO, 1990 – 1998

[] = concentración; [] crítica: no hay presencia de síntomas, pero el rendimiento disminuye significativamente; [] adecuada: es la necesaria para obtener el rendimiento óptimo

G. Bacterias Fitopatógenas

Las bacterias fitopatógenas son microorganismos unicelulares sin núcleo definido que causan enfermedades en plantas. Las pérdidas en los cultivos pueden ser severas en zonas tropicales como subtropicales. Actualmente existen cerca de 60 especies reconocidas que incluyen alrededor de 300 subespecies o patovares. La estructura celular de las bacterias fitopatógenas carecen de compartimentos intracelulares en forma de orgánulos. La célula se compone de pared celular y una membrana que engloba el citoplasma que contiene un cromosoma único constituido por ADN de doble hebra y posee ribosomas de tipo 70 S (17).

Existen dos tipos de bacterias que producen enfermedades en las plantas: Las bacterias verdaderas (eubacterias) y los fitoplasmas y espiroplasmas (mollicutes). Las eubacterias poseen una pared celular rígida que rodea la membrana celular, es responsable de la forma de la bacteria y les confiere resistencia al cambio de la concentración de su medio. Los mollicutes no presentan dicha pared, varían de forma desde estructuras esféricas (de 0.3 a 0.8 μm de diámetro) hasta filamentos helicoidales y ramificados.

Las bacterias que inducen patologías vegetales se diseminan con las semillas y materiales de propagación. Un material contaminado o infestado por fitobacterias puede ser un medio para su diseminación tanto a nivel local como a grandes distancias. Es muy importante contar con técnicas muy sensibles para detectarlos cuando se trata de infección latente o asintomática.

Las bacterias fitopatógenas en el momento de contacto con la planta ponen en marcha un abanico de propiedades que contribuyen al éxito de la invasión final. Estos factores influyen en la virulencia (capacidad de incrementar la severidad de la enfermedad de la planta), que no se debe confundir con la patogenicidad (capacidad de producir la enfermedad). Así, los factores de virulencia son importantes para que las bacterias invadan y colonicen rápidamente el tejido, alcanzando unos altos niveles de población antes de que la respuesta de la planta limite el crecimiento

bacteriano. A continuación se describen los cinco géneros más importantes como agentes causales de infecciones bacterianas en cultivos:

1. *Agrobacterium* sp.

Es una bacteria aeróbica, Gram negativo. Las células normalmente presentan forma de bastón, son móviles (1 a 6 flagelos peritricos). Se encuentran asociadas con las raíces de las plantas y el suelo, alrededor de ellas. El género contiene especies saprófitas y también patogénicas que causan hiperplasia e hipertrofia del tejido vegetal, provocando síntomas conocidos como tumor o agalla, o la emisión de raíces en el tallo. Este género se encuentra en la familia *Rhizobiaceae*. La especie *A. tumefaciens* ocasiona tumores en algunos frutos como manzana, rosa, guisquil, lechuga, yuca, vid, frambuesa y cushin. *A. rhizogenes* provoca proliferación de raíces en el tallo de la planta infectada. No existen registros de problemas causados por este microorganismo en Guatemala (18).

2. *Corynebacterium* sp.

Es una bacteria en forma de bacilos Gram negativo irregulares (pleomórficos), no esporogénicos, pueden ser móviles o inmóviles. Causa el cáncer bacteriano del tomate, chile pimiento y pudrición en anillo de la papa. En la actualidad se ha informado su presencia en 47 países incluyendo Guatemala.

3. *Erwinia* sp.

Es una bacteria Gram negativo en forma de bastón y con flagelos peritricos. El género contiene algunas especies saprófitas y varias fitopatógenas. Es la única fitobacteria facultativa, lo que significa que se pueden multiplicar tanto en la presencia como en ausencia de oxígeno. Es oxidasa negativa, catalasa positiva y fermentadora. La coloración de la mayoría de las colonias es crema y algunas especies producen colonias amarillas.

El género *Erwinia* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y causa las enfermedades denominadas pudrición blanda, canela negra, tallo hueco de papa, tallo hueco del tomate, tizón de fuego de la pera y de la manzana. *E. carotovora* subsp. *atroseptica* ocasiona la pudrición blanda, necrosis vascular y marchitez en la papa.

4. *Pseudomonas* sp. (Anteriormente *Ralstonia*)

Bacteria Gram negativo en forma de bastón y colonias generalmente blancas o beige. La especie *P. solanacearum* ocasiona grandes pérdidas en varios cultivos como solanaceas (tomate, chile pimiento, berenjena y papa) y banano. El síntoma típico es la marchitez seguida de la muerte. Esto significa que, si la infección ocurre en la fase inicial del ciclo del cultivo y las condiciones son favorables, puede ocurrir pérdida total del cultivo. Durante la noche o en las horas más frías del día los folíolos pueden recuperar su turbidez. Es una enfermedad de difícil control. Las plantas con marchitez presentan una progresiva decoloración vascular, más intensa en la base de la planta, que puede ser fácilmente visualizada.

5. *Xanthomonas* sp.

Bacterias en forma de bastón, Gram negativo, móviles por un único flagelo polar, estrictamente aeróbicas y no son capaces de utilizar asparagina como fuente de carbono y nitrógeno. Las colonias son normalmente amarillas debido a la producción de un pigmento llamado xantomonadina. La especie típica es *X. campestris*. La mayoría de especies del género son fitopatógenas, pero un pequeño número de saprófitas y epífitas puede ser encontrado. El género pertenece a la familia *Pseudomonadaceae* y de este género únicamente seis especies son reconocidas internacionalmente.

Dependiendo de la interacción hospedero-especie-patógeno, las especies pueden ocasionar diferentes tipos de síntomas, como lesiones foliares en el filopiano, marchitez, chancro, muerte en puntas de ramas y estrías cloróticas en hojas, entre otros.

Toxinas y enzimas producidas por el patógeno deben estar implicados en el tipo de síntoma exhibido en el hospedero. Algunas especies importantes para este género son: *X. fragaria* que ataca la fresa, *X. albilineans* afecta la caña de azúcar provocando la enfermedad conocida como escaldadura foliar.

X. campestris y sus diversos patovares, dentro de las más importantes *X. campestris* pv. *citri* es originaria de Asia y fue introducida en varios países de América, es una de las más importantes y ocasiona el cáncer de los cítricos. *X. campestris* pv. *manihotis* ocasiona marchites y muerte de plantas de yuca. *X. campestris* pv. *campestris* ocasiona la pudrición negra o nevadura negra de las crucíferas. *X. campestris* pv. *vesicatoria* ocasiona la mancha o pústula bacteriana del chile pimienta, también afecta el tomate y la berenjena (17).

H. Diagnóstico de Bacterias Fitopatógenas

Las infecciones bacterianas pueden producir diferentes síntomas, tales como: clorosis, enanismo, marchitamiento o flaccidez, necrosis (local como en el caso de las manchas foliares o generalizada en el caso de los tizones), pudrición, chancros, sarnas, agallas o tumores y fasciación. A veces sólo ocurre un tipo de síntoma como las manchas foliares pero al aumentar la severidad de la infección es posible que deriven otros síntomas. Las manchas foliares pueden confluir y como consecuencia se puede producir una defoliación y si ésta persiste, es posible que se produzca un enanismo generalizado de la planta. Algunos patógenos causan una amplia variedad de síntomas, por ejemplo, *X. campestris* pv. *manihotis* inicialmente produce manchas foliares en la yuca y, posteriormente, marchitez, muerte progresiva, exudaciones en los brotes y coloramiento del tejido vascular (1).

El tipo y la severidad de la infección, a menudo, son el resultado de diversos factores entre los que se incluyen las condiciones climáticas, resistencia del hospedero, lugar y forma de infección y, posiblemente la concentración del inóculo.

Para realizar un diagnóstico de laboratorio primero se prepara una suspensión bacteriana a partir del material enfermo y una alícuota de este material se reparte sobre agar Nutritivo y Nutritivo Sucrosado. Este procedimiento tiene como propósito obtener colonias aisladas, fácilmente transferibles y que permitan obtener un cultivo puro. La muestra debe ser trabajada asépticamente para evitar la contaminación de la suspensión y de esta manera obtener un cultivo puro. Al observarse el crecimiento bacteriano en los cultivos puede encontrarse con más de un tipo de bacterias, es importante reconocer a través de la morfología colonial al presunto patógeno y transferirlo a una nueva caja de agar Nutritivo o Nutritivo Sucrosado para obtener un cultivo puro.

La mejor muestra es la que proviene del material vegetal recién colectado, fresco y verde. Es importante buscar las lesiones iniciales en la planta y no tomar en cuenta aquellas lesiones antiguas, muertas o en descomposición ya que a menudo presentan una población baja del patógeno que originó la infección.

Las hojas y los tallos limpios pueden ser utilizados directamente para la suspensión bacteriana; las raíces y las partes de la planta contaminadas con el suelo deben ser lavadas con agua limpia inmediatamente después de su recolección. La limpieza del material vegetal es importante para asegurar la presencia única del agente patógeno.

Para realizar el diagnóstico de bacterias fitopatógenas es necesario utilizar al inicio de la marcha bacteriológica agares que no sean selectivos o diferenciales para lograr el crecimiento de toda bacteria presente en el tejido. Las bacterias fitopatógenas crecen a temperatura ambiente y se observa un crecimiento después

de 36 a 72 horas de incubación; al observar el crecimiento bacteriano debe tomarse en cuenta aquellas bacterias de crecimiento rápido (generalmente a las 24 horas) ya que pueden tratarse de bacterias saprófitas.

I. Tratamiento de Bacterias Fitopatógenas

Los compuestos químicos utilizados para controlar enfermedades de las plantas se pueden clasificar en tres grupos generales, de acuerdo con su actividad:

- A. Esterilizantes y Fumigantes: Generalmente poseen un amplio rango de actividad, pero frecuentemente no se utilizan sobre las plantas en crecimiento. A menudo, se emplean como erradicantes de plagas y patógenos presentes en productos agrícolas cosechados (1).
- B. Protectores (pre infección): Generalmente se aplican a la semilla o a cultivos, a modo de crear una barrera protectora para prevenir infecciones primarias. No deben ser fitotóxicos.
- C. Curativos (post infección): Se aplican sobre las semillas o cultivos, a menudo son absorbidos y traslocados sistemicamente en la planta. Estas sustancias destruyen los patógenos presentes en el hospedero y, por lo tanto, tienen actividad específica para cierto grupo de bacterias.

J. Áreas de Estudio

Las fincas El Subín (Latitud 16.537280, Longitud 90.184450) y El Pantanal (Latitud 16.847700, Longitud 90.188900) se encuentran situadas en el municipio de La Libertad en el Departamento del Petén, ubicado a 35 Km. de la cabecera departamental, Flores, y aproximadamente 535 Km. al norte de la capital nacional vía las rutas asfaltadas CA-9 y CA-13 (19).

Los suelos del Municipio, según el mapa de suelos de Simóns, Tárano y Pinto, con características de profundos, bien drenados y de textura arcillosa, con estructura

granular y moderado contenido de materia orgánica. En general son suelos con altas facilidades de mecanización agrícola por su profundidad y topografía aunque es sabio que los suelos de Petén son en su mayoría de aptitud forestal, lo cual es evidente por el sistema radicular de los árboles.

- Aspectos Físicos y Naturales

Temperatura: La temperatura media es de 25.4°C con una máxima de 31.5°C durante la época seca de marzo a mayo y la mínima de 19.7°C durante los meses de diciembre y enero.

Precipitación Pluvial: El municipio se considera lluvioso con un promedio anual de precipitación de 1.738mm, distribuidos en los meses de junio a diciembre.

Humedad Relativa: Por ubicación geográfica y la vegetación existente, la humedad relativa media que se registra es de 81.5% con el valor máximo de 89% durante el mes de diciembre y mínimo de 38% en el mes de mayo.

Evaporación: La evaporación media anual es 104.55mm alcanzando la máxima evaporación de 153.5mm en el mes de mayo y una mínima de 58.8mm en el mes de diciembre.

IV. Justificación

El estudio de bacterias fitopatógenas en cultivos de papaya es de gran importancia debido a que en el comercio internacional y en cumplimiento de las directrices internacionales debe existir la certeza en el diagnóstico del agente causante de la enfermedad para poder competir en el mercado internacional. Un material contaminado o infectado por bacterias fitopatógenas puede ser un medio para su diseminación tanto a nivel local como a grandes distancias, por lo que es muy importante contar con técnicas muy sensibles para detectarlos.

En Guatemala se utiliza el criterio clínico para diagnosticar bacterias fitopatógenas. Es importante reconocer que esta forma de diagnóstico no es correcta, por esta razón es primordial reconocer las infecciones producidas por bacterias fitopatógenas a través de evidencia microbiológica. Por lo tanto, en el país debe iniciarse el diagnóstico de enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas a través del laboratorio, previo al mejoramiento de algunas prácticas de manejo del cultivo, incluyendo el control de plagas y enfermedades para evitar los efectos negativos de movilizar con ellos patógenos y sustancias tóxicas que puedan significar una amenaza para los cultivos, los recursos naturales y sobre todo la salud de los consumidores (16).

La principal razón para realizar la presente investigación, en la cual se determina la presencia de bacterias fitopatógenas que puedan afectar la papaya, es identificar dichas bacterias a través de una marcha bacteriológica (establecida por la FAO) que compruebe su presencia en los cultivares y establecer que son los agentes causales de la infección. Al mismo tiempo es necesario diagnosticar de manera correcta las enfermedades en las plantaciones de papaya para evitar que se administren tratamientos innecesarios o incorrectos y, de igual forma evitar que grandes plantaciones de este fruto se pierdan a causa de una infección bacteriana.

V. Objetivos

A. Objetivo General

Identificar bacterias fitopatógenas en dos plantaciones de Papaya (*Carica papaya*) en el departamento de Petén, Guatemala.

B. Objetivos Específicos

1. Identificar la presencia de los géneros *Erwinia*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* y *Xanthomonas* que afecten el fruto, raíz y tallo de papaya (*Carica papaya*) en los cultivos situados en las fincas El Pantanal y El Subín, Petén, Guatemala.
2. Caracterizar las enfermedades producidas por bacterias fitopatógenas en plantaciones de Papaya (*Carica papaya*) en el departamento de Petén, Guatemala.

VI. Hipótesis

Las bacterias fitopatógenas, *Erwinia* sp., *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp. y *Xanthomonas* sp., son los principales agentes causales de las enfermedades que afectan el cultivo de papaya (*Carica papaya*) en las fincas El Subín y El Pantanal, La Libertad, Peten.

VII. Materiales y Métodos

A. Universo

Los cultivos ubicados en las fincas El Pantanal y El Subìn en donde se llevó a cabo la presente investigación se encuentran localizados en el Municipio La Libertad, Petén, Guatemala.

B. Muestra

El número mínimo de muestreo para cada parte del árbol de papaya (Raíz, Parte Vegetativa y Fruto) es 96 para obtener un 95% de Intervalo de Confianza.

C. Recursos

1. Humanos

- María Gabriela Ventura Prera estudiante de Química Biológica.
- Lic. Martín Gil: Asesor
- Ing. Manuel Cano: Asesor

2. Institucionales

- Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y farmacia, Departamento de Microbiología.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación – MAGA- Petén.

3. Diseño Experimental

El objetivo del estudio fue determinar la presencia o ausencia de bacterias fitopatógenas en las muestras (raíz, tallo y fruto) analizados; por lo tanto se buscó una respuesta binomial.

$$p + q = 1.00$$

$$p = q = 0.5$$

$$\text{Varianza} = \pi^2 = pq = 0.25$$

$$n = \frac{NC^2 \pi^2}{\Delta^2}$$

$$\text{Nivel de confianza} = 95\% = 1.96$$

$$\Delta = \text{Límite de error en la estimación} = 10\%$$

$$n = 96 \text{ unidades muestrales por finca}$$

Diseño del Muestreo: Por transectos, para cada finca se “trazaron” diez transectos y en cada uno se muestreo al azar 10 unidades de tallo, raíz y fruto.

Análisis Descriptivo: Presencia o ausencia de bacterias fitopatógenas en las unidades muestrales. Estimación con un Intervalo de confianza del 95% de la proporción de positividad. Para comprobar las condiciones del muestreo en función de la presencia o ausencia de bacterias fitopatógenas debe realizarse una prueba de Z de proporciones:

$$H_0 = P_{\text{El Subín}} = P_{\text{El Pantanal}}$$

D. Materiales y Equipo

1. Equipo

- Autoclave
- Microscopio de campo oscuro
- Mechero Bunsen
- Estereoscopio
- Incubadora
- Refrigeradora
- Cámara de flujo laminar
- Estufa
- Varios (agua, luz, gas e instalaciones de laboratorio)

El equipo fue proporcionado por la Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Departamento de Microbiología.

2. Materiales

- Bisturí
- Agua desmineralizada
- Probetas
- Colorantes para tinción de Gram
 - Cristal violeta
 - Cristal violeta (certificado)
 - Alcohol etílico al 95%
 - Oxalato de amonio
 - Lugol de Gram
 - Cristal de yodo
 - Yoduro de potasio
 - Alcohol Acetona
 - Acetona pura

- Alcohol etílico 95%

Safranina

- Safranina-0 (certificada)
- Alcohol etílico al 95%
- Lápiz de cera
- Porta objetos
- Agujas de disección
- Pinzas
- Aceite de inmersión
- Cajas de Petri descartables
- Bolsas Ziplock grandes
- Bolsas grandes para desechos
- Tubos de ensayo con tapa de rosca
- Asas en argolla
- Asas en punta
- Pipetas de 1ml, 5ml y 10ml
- Pipetas Pasteur
- Pipeteador
- Varillas de vidrio
- Gradillas
- Alcohol al 70%
- Algodón
- Guantes de látex
- Hielera
- Hielo
- Papel pH

3. Medios de Cultivo

- Agar Nutritivo
- Agar Nutritivo Sucrosado

- Agar para *Corynebacterium*
- Agar YDC
- Agar B de King
- Medio Oxidación/Fermentación

E. Metodología

1. Reconocimiento del área Geográfica

Para el reconocimiento del área implicó la realización de un trazado para dividir las fincas en 10 transectos y seleccionar 10 árboles de papaya al azar en cada uno de los transectos. Al momento de haber seleccionado cada árbol deben ser inspeccionados en busca de cualquier sintomatología que presenten y tomar las muestras para su análisis.

2. Observación de Síntomas

Los síntomas buscados en los árboles de papaya fueron los siguientes:

- Manchas
- Necrosis Terminal
- Decoloración Vascular
- Pudrición
- Crecimiento Anormal

3. Características del Cultivar

Determinar las circunstancias particulares del caso: condiciones climáticas; relieve del terreno; distribución de la enfermedad en el campo; historial de cultivos previos; aplicación de fertilizantes, insecticidas, fungicidas, nematocidas y herbicidas.

4. Observación del Flujo Bacteriano

Las muestras tomadas fueron transportadas al laboratorio para su análisis, el primer paso fue realizar el Flujo Bacteriano que consiste en lo siguiente:

- Cortar un pedazo de muestra (raíz, tallo y fruto) de 1-2 cm de largo de una planta con marchitez no muy avanzada (de lo contrario puede haber presencia de bacterias secundarias a una causa no bacteriana).
- Suspender la muestra y sumergir en la parte superior de una columna de agua estéril quieta en una probeta.
- Esperar durante 5 – 10 minutos para que empiece a fluir un hilo de bacterias de uno o más vasos conductores del sistema vascular, que descienden dentro del agua y se disipa en una nube lechosa

5. Suspensión de Bacterias

El segundo paso del análisis fue realizar una suspensión de bacterias que servirá para inocular los medios de cultivo. A continuación se describe el procedimiento:

- Preparar un tubo de ensayo con 5 cc de agua estéril.
- Agregar tejido afectado y dejar unos 10 minutos para que las bacterias se difundan en el agua. No se desinfecta el tejido antes de incorporarlo, porque aún trazas del desinfectante pueden matar a las bacterias. Un buen lavado con agua corriente es suficiente, ya que si se introducen bacterias contaminantes en la superficie, no se notará entre los millones de bacterias que se encuentran en el tejido vegetal.
- Si el agua se vuelve lechosa, diluir aproximadamente 1 cc a otro tubo de agua estéril y utilizar ambas suspensiones para intentar el aislamiento.

6. Siembra de Bacterias

La suspensión de bacterias fue utilizada para inocular las placas de agar nutritivo y nutritivo sucrosado (anexo 1).

- Utilizar placas de Agar Nutritivo y Agar Nutritivo Sucrosado.
- Colocar una gota de la suspensión asépticamente, con un asa en forma de aro, a un extremo de la placa y distribuir la gota sobre la placa realizando un rayado típico.
- Las placas se incuban en posición invertida.
- Cuando no se cuenta con un diagnóstico se aconseja utilizar dos temperaturas de incubación, las cuales deben ser de 18-20° C y 28 – 30° C.

7. Selección de Colonias

En las placas de Agar Nutritivo y Agar Nutritivo Sucrosado se observó el crecimiento bacteriano, es importante la selección de aquellas colonias que sean características de bacterias fitopatógenas.

- Se observaron las placas diariamente. Lo más probable es que de un día a otro se vean algunas bacterias de crecimiento rápido, que pueden tratarse como contaminantes secundarios.
- Las colonias de los géneros patógenos son de color de colonia blancuzca, crema o amarillo.
- Observar las placas invertidas en un microscopio estereoscópico; es probable que se observen los inicios de colonias de crecimiento lento. Se demuestran características de relieve y distintos grados de sunuosidad marginal que no es posible ver de otra manera, las que sirven para distinguir colonias bacterianas diferentes.
- Se realizaron cultivos puros de las posibles colonias bacterianas patógenas. El reislamiento se realizó en Agar Nutritivo, debe tomarse en cuenta que todas

las colonias que crezcan deben ser similares entre sí, de lo contrario se recomienda continuar con el proceso de purificación.

8. Tinción de Bacterias

Para realizar una tinción fue necesario tener una concentración grande pero no excesiva de bacterias. La tinción recomendada para iniciar la diferenciación de bacterias fitopatógenas es la Tinción de Gram; la cual, como en cualquier práctica bacteriológica, clasifica las bacterias en Gram positivo o Gram negativo.

9. Colonias Gram negativo

Las colonias Gram negativo se inocularon en el medio YDC y posteriormente se clasificaron según el color de la colonia. Las colonias color amarillo fueron sometidas a la prueba de oxidación/fermentación; un resultado de oxidación indica que se trata del género *Xanthomonas* sp. y un resultado de fermentación indica la presencia del género *Erwinia* sp. Las colonias color crema se inocularon en el medio B de King. Las colonias en el medio B de King pueden ser fluorescentes o no fluorescentes; aquellas colonias que manifiestan pigmentos fluorescentes pertenecen al género de *Pseudomonas* fluorescentes y aquellas colonias que no poseen estos pigmentos se inoculan en el medio Oxidación/Fermentación. Una reacción de Oxidación indica la presencia de los géneros *Agrobacterium* sp. y/o *Pseudomonas* sp.; por el contrario una reacción de Fermentación indica la presencia de *Erwinia* sp.. Las pruebas de identificación que revelan la especie bacteriana no se llevan a cabo en este estudio debido a que el propósito es identificar el género de aquellas bacterias fitopatógenas presentes en los cultivares de papaya (ver marcha bacteriológica).

10. Colonias Gram Positivo

Las colonias Gram positivo que poseen una forma en V, L y son arreglos similares a una empalizada se siembran en agar selectivo para *Corynebacterium* sp.

VIII. Resultados

Los resultados obtenidos en la Finca El Pantanal demostraron que 45% de los frutos analizados presentaron síntomas de pudrición, 69.6% de los aislamientos iniciales presentaron colonias sospechosas de bacterias fitopatógenas y en todos ellos fue identificada *Erwinia* sp. Todas las muestras de tallo analizadas fueron libres de sintomatología evidente y de bacterias patógenas; 90% de las muestras de raíz no presentaron sintomatología alguna y fueron negativas para aislamientos bacterianos (Tabla 1).

Tabla 1. Sintomatología observada en fruto, tallo y raíz y microorganismos identificados en la Finca El Pantanal (N = 360)

	Fruto (n=120)	Tallo (n=120)	Raíz (n=120)
Sintomatología			
Manchas marrón			
Con exudación	14 (11.6%)	0 (0%)	0 (0%)
Sin exudación	12 (10%)	0 (0%)	0 (0%)
Necrosis Terminal	0 (0%)	0 (0%)	12 (10%)
Decoloración Vascular	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Pudrición	54 (45%)	0 (0%)	18 (15%)
Crecimiento anormal	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Sin sintomatología evidente	40 (33.3%)	120 (100%)	90 (75%)
Muestras con Aislamiento Inicial	75 (62.5%)	0 (0%)	10 (8.3%)
Microorganismo Aislado			
Bacilos Gram negativo	61 (69.6%)	0 (0%)	0 (0%)
Cocos Gram positivo	14 (30.4%)	0 (0%)	8 (80 %)
Bacilos Gram positivo	0 (0%)	0 (0%)	2 (20%)
Identificación Bacteriana			
<i>Corynebacterium</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Erwinia</i> sp.	61 (100%) ¹	0 (0%)	0 (0%)
<i>Pseudomonas</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Agrobacterium</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Xanthomonas</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Fuente: Datos Experimentales; ¹ Frecuencia o proporción (61 de 120)= 50.83% (IC95%=41.47 - 60.20%)

En la Finca El Subín se obtuvo que 12% de los frutos analizados presentaban síntomas de pudrición, el total de los aislamientos iniciales presentaban colonias sospechosas de bacterias fitopatógenas y no se aisló ninguna bacteria fitopatógena. Las muestras de tallo y 86.6% de las muestras de raíz no mostraron sintomatología evidente. No se obtuvo aislamiento de bacterias fitopatógenas en fruto, tallo y raíz.

Tabla 2. Sintomatología observada en el fruto, tallo y raíz, microorganismo aislado e identificación bacteriana. Finca El Subín (N = 360)

	Fruto (n=120)	Tallo (n=120)	Raíz (n=120)
Sintomatología			
Manchas marrón			
Con exudación	6 (5%)	0 (0%)	0 (0%)
Sin exudación	12 (10%)	0 (0%)	0 (0%)
Necrosis Terminal	0 (0%)	0 (0%)	10 (8.3 %)
Decoloración Vascular	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Pudrición	12 (10%)	0 (0%)	6 (5%)
Crecimiento anormal	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Sin sintomatología evidente	90 (75%)	120 (100%)	104 (86.6%)
Muestras con Aislamiento Inicial	12 (10%)	0 (0%)	24 (20%)
Microorganismo Aislado			
Bacilos Gram negativo	0 (0%)	0 (0%)	5 (4.2%)
Cocos Gram positivo	12 (100%)	0 (0%)	19 (79.2%)
Bacilos Gram positivo	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Identificación Bacteriana			
<i>Corynebacterium</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Erwinia</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Pseudomonas</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Agrobacterium</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Xanthomonas</i> sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Fuente: Datos Experimentales

La Tabla 3 muestra la relación entre la sintomatología presente y los géneros de bacterias fitopatógenas aisladas.

Tabla 3. Relación entre la sintomatología presente y las bacterias fitopatógenas

Sintomatología	No. Muestras	%	Microorganismo Aislado	No. Muestras
Finca El Pantanal				
Fruto				
Manchas marrón con exudación	14	11.6%	<i>Erwinia</i> sp.	5
Manchas marrón sin exudación	12	10%	<i>Erwinia</i> sp.	4
Pudrición	54	45%	<i>Erwinia</i> sp.	52
Tallo				
Sin sintomatología	120	100%	-----	----
Raíz				
Necrosis Terminal	12	10%	-----	----
Pudrición	18	15%	-----	----
Finca El Subín				
Fruto				
Manchas marrón con exudación	6	5%	-----	----
Manchas marrón sin exudación	12	10%	-----	----
Pudrición	12	10%	-----	----
Tallo				
Sin sintomatología	120	100%	-----	----
Raíz				
Necrosis Terminal	10	8.3 %	-----	----
Pudrición	6	5%	-----	----

Fuente: Datos Experimentales

Al comparar las dos fincas se tiene que en las proporciones o frecuencias de infección entre ambas fincas, existe diferencia significativa ($p < 0.00001$).

IX. Discusión de Resultados

Los síntomas observados en las muestras de fruto de la Finca El Pantanal fueron: manchas marrón con y sin exudación, pudrición y necrosis terminal, todos asociados con la presencia de bacterias fitopatógenas.

Las muestras de tallo no mostraron sintomatología evidente y no se aisló ninguna bacteria fitopatógena.

Las muestras de raíz mostraron síntomas de necrosis terminal y los aislamientos iniciales demostraron la presencia de bacilos y cocos Gram positivo. Los cocos Gram positivo fueron descartados debido a que no son consideradas bacterias fitopatógenas. Los bacilos Gram positivo se inocularon en agar *Corynebacterium*, sin que fuera posible aislar *Corynebacterium* sp. descartándose la presencia del mismo en las muestras de raíz.

Las muestras de fruto mostraron síntomas como manchas marrón con exudación (11.6%), manchas marrón sin exudación (10%) y pudrición (45%). Los aislamientos iniciales demostraron la presencia de *Erwinia* sp., género que fue aislado en 61 muestras con sintomatología evidente. Este género se caracteriza por causar las enfermedades denominadas pudrición blanda, canela negra, tallo hueco de papa, tallo hueco del tomate, tizón de fuego de la pera y de la manzana (17).

La importancia de identificar a *Erwinia* sp. como el agente causal de la infección presente en la Finca El Pantanal radica en los daños que la misma pueda causar al cultivar, ya que puede ocasionar una pérdida del 80% del total de la siembra y de no ser así obtener un producto sin la calidad adecuada (17).

No se cuenta con información acerca de enfermedades ocasionadas por bacterias fitopatógenas en cultivares de papaya en Guatemala, así que la contribución de esta investigación fue el detectar la presencia de *Erwinia* sp. en los

frutos de papaya provenientes de la Finca El Pantanal, El Petén. Al mismo tiempo se podrán mejorar las técnicas de prevención en cuanto a la diseminación de bacterias fitopatógenas.

Dado el intervalo de confianza en los análisis efectuados en el fruto, se infiere que en el área estudiada de la Finca El Pantanal puede haber presencia de bacterias fitopatógenas, por lo que la hipótesis planteada es aceptada.

Los síntomas observados en las muestras de tallo, raíz y fruto de la Finca El Subín fueron: manchas marrón con y sin exudación, pudrición y necrosis terminal; todos estos síntomas se encuentran asociados con la presencia de bacterias fitopatógenas.

En el fruto se identificaron cocos Gram positivo que se descartaron por no ser características de bacterias fitopatógenas. En las muestras provenientes del tallo no se aisló ningún microorganismo. De las muestras provenientes de raíz se aisló cocos Gram positivo, muestras que fueron descartadas, y bacilos Gram negativo los cuales no se identificaron con los géneros buscados en esta investigación.

La presencia de los síntomas en la finca El Subín pueden atribuirse a deficiencia de nutrientes o al manejo agrícola de la finca, factores que deberán ser estudiados para determinar la causa de esta sintomatología. Al mismo tiempo debe determinarse si el tratamiento a los cultivos y las condiciones climáticas de la finca El Subín son factores que afectaron directamente en los aislamientos negativos de bacterias fitopatógenas.

X. Conclusiones

1. En la finca El Pantanal se identificó a *Erwinia* sp. como agente causal de la sintomatología del fruto de papaya (*Carica papaya*).
2. La respuesta negativa a la marcha bacteriológica en la finca El Subin, puede deberse a el tratamiento de los cultivares y aspectos climáticos.
3. *Erwinia* sp. produce los siguientes síntomas en el fruto de papaya: manchas con exudación y sin exudación y pudrición.

XI. Recomendaciones

1. Dar seguimiento al estudio para la identificación de la especie de *Erwinia* sp. encontrada en los frutos de papaya (*Carica papaya*) provenientes de la Finca El Pantanal.
2. Dar seguimiento a la marcha bacteriológica presentada en este estudio para la identificación de las distintas especies de los géneros de bacterias fitopatógenas que afectan los cultivares de papaya (*Carica papaya*).
3. Determinar la presencia de bacterias fitopatógenas en otras áreas de producción de papaya (*Carica papaya*) y en otros cultivares de interés comercial.
4. Realizar estudios epidemiológicos en los cultivares de papaya (*Carica papaya*) y otros cultivos de interés para conocer el comportamiento y modo de transmisión de las bacterias fitopatógenas.

XII. Referencias

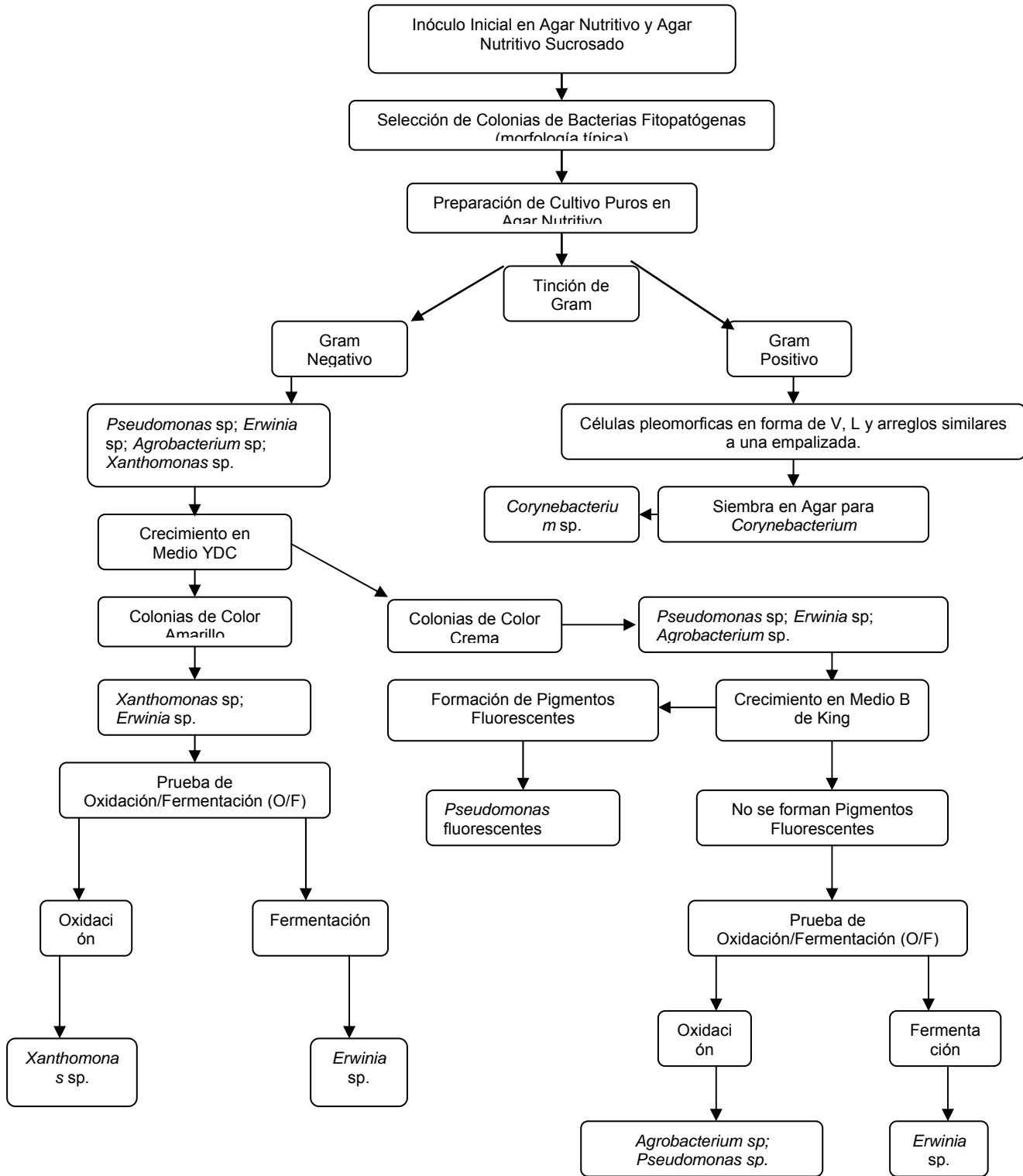
1. Commonwealth Agricultural Bureaux. Manual para Patólogos Vegetales. América Latina y El Caribe: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Doc. Tec., 1985.
2. OIRSA. Proyecto Regional de Fortalecimiento de la Vigilancia Fitosanitaria de Cultivos de Exportación no Tradicionales. El Salvador: Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, Doc. Tec., 2003.
3. INFOMAGA. *Oficina de Comercialización Social, Mayo 2004 Guatemala*. Consulta: Febrero, 2004. Disponible en: <http://www.maga.com.gt>
4. Monterroso D, Pareja M. Inventario de los Problemas Fitosanitarios de los Principales Cultivos de la República de Guatemala. Guatemala: Proyecto Regional de Manejo Integrado de Plagas, 1985.
5. CCP. Compendium Crop Protection. United States: Global Module, Doc. Tec., 1998.
6. Ministerio de Agricultura y Ganadería. *El Salvador Centro América*. Consulta: Febrero, 2004. Disponible en: <http://www.mag.gov.sv>
7. Ministerio Agropecuario y Forestal. *República de Nicaragua*. Consulta: Febrero, 2004. Disponible en: <http://www.magfor.gob.ni>
8. AGRICULTURA. *Agricultura y Cultivares*. Consulta: Febrero, 2004. Disponible en: <http://www.agriscape.com/gobierno>

9. Corado SA. Diagnóstico de Enfermedades Fungosas y Bacterianas en el Cultivo de Papaya Hawaiana (*Carica papaya* L.) en la Aldea Mojarritas, Monjas, Jalapa. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1999.
10. Tung C., García MA., Flores EO. Manual del Cultivo de la Papaya. Guatemala: Ministerio de Agricultura y Ganadería -MAGA-, 2003.
11. "Frutas tropicales Notas sobre productos básicos". *Los aspectos más destacados incluyen los datos de 2002 relativos a la producción de mango, piña y papaya, además de una revisión de los datos preliminares del comercio en el año 2002.* Consulta: Febrero, 2004. Disponible en:
<http://ns1.oirsa.org.sv/Publicaciones/VIFINEX/Manuales-2003/Manual-03/Practicas-Fitosanitarias-Papaya-El-Salvador.htm>
12. Barahona M., Sancho E. Fruticultura Especial: Piña y Papaya. Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia, 1991.
13. García G. Aspectos Técnicos que Garantizan el Establecimiento de Plantaciones de Papaya. Revista Agricultura 2000;2: 21-29.
14. FAO commodities & trade division. *Tropical fruits*. Consulta: Febrero, 2004. Disponible en: <http://www.FAO.com>
15. CANIZ TERREAUX L.A. Importation of papaya fruit *Carica papaya* from Guatemala into the continental United States. Estados Unidos: USDA-APHIS, Doc. Tec., 1999.

16. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias: Lineamientos para Siembra de Encuesta y Monitoreo. Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Doc. Tec., 1999.
17. Orozco EF. Recopilación Bacterias Fitopatógenas. México: Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2000.
18. Instituto Nacional de Bosques –INAB-. Mapa de Ecosistemas Vegetales de Guatemala. Guatemala: Departamento de Sistemas de Información, Doc. Tec., 2001.
19. Unidad Técnica Municipal, La Libertad, Petén. Diagnóstico Municipal 2001. Guatemala. Guatemala: Municipalidad La Libertad, Doc. Tec., 2001.

XIII. ANEXOS

Anexo 1: MARCHA BACTERIOLÓGICA



Anexo 2: Fotografías

1. Plantaciones de papaya en la Libertad Petén



Finca El Pantanal



Finca El Subin

2. Materiales y Medios de cultivo proporcionados por FOMIN/OIRSA



Materia prima para la preparación de medios de cultivo y Tinción de Gram



Tubos de ensayo, gradillas, pipetas y cajas de petri

3. Recurso humano responsable del trabajo de campo y Laboratorio

Técnicos del Programa Fitozoosanitario, MAGA-Peten, responsables del trabajo de campo



Lic. Anacleto Constanca, Ing. Agr. Gerardo Espinoza, P. Agr. Cristian Castellanos

Analistas de Laboratorio de la Escuela de Químicos Biólogos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala



Helen Sophia Cano Alfaro y María Gabriela Ventura Prera, Tesistas de la carrera de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

4. Trabajo de campo



Muestras de Raíz



Muestras de tallo



Muestras del fruto

5. Procesamiento de muestras en el laboratorio



Muestras representativas de raíz



Muestras representativas de parte vegetativa (tallos)

6. Análisis del crecimiento de bacterias



Área de trabajo del laboratorio de microbiología, Facultad de Farmacia, USAC

7. Plantas con síntomas característicos de bacterias fitopatógenas



8. Supervisión de campo



Visita de supervisión a una de las plantaciones de papaya, entrevistando al administrador de la finca.