

AVANCES EN LA ETIOLOGÍA Y MANEJO DE LA PUDRICIÓN BLANDA DE TALLOS DE PITAHAYA, *HYLOCEREUS UNDATUS* H. (CACTACEAE)

Alberto J. Valencia Botín,¹ Pablo Cruz Hernández² y Adolfo Rodríguez Canto³

¹ Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Programa en Producción de Semillas. Carretera México-Texcoco, Km 35.5. CP. 56230. Montecillo, México, c.e.: valencia@colpos.mx.

² Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco, Km 38.5. CP 56230.

³ Centro Regional Universitario Península de Yucatán, Universidad Autónoma Chapingo. Ex-hacienda Temozón Norte, Yucatán, México.

RESUMEN

La pudrición blanda de los tallos de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) es una enfermedad presente en los municipios de Halachó, Santo Domingo Maxcanú, Sinanché, Kinchil, Dzidzantún en el estado de Yucatán, zonas productoras de este frutal. En las anteriores localidades se realizaron recorridos y se colectaron muestras para determinar la identidad del agente causal, evaluar la respuesta de las especies *Hylocereus* spp., *H. xundatus* e *H. purpusii*, y el efecto de las deficiencias de N, P, K, Ca, B, Mn, Mg, Fe, Zn en el desarrollo de la enfermedad. La investigación se realizó en el Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. De los análisis realizados, se encontró que la pudrición blanda de la pitahaya en las zonas muestreadas al parecer se encuentran involucradas dos bacterias, y que a nivel invernadero, al ser inoculadas en plantas sanas, indujeron una pudrición blanda a los 15 días. Las especies de pitahaya *Hylocereus* spp., *H. undatus* e *H. purpusii* fueron susceptibles a las bacterias, resultando *H. undatus* la más susceptible con 29%, y aun cuando casi en todos los tratamientos con deficiencias se presentó la pudrición, los tallos con deficiencia de Ca y N desarrollaron la mayor severidad con 17.51 y 15.65% respectivamente.

Palabras clave: *Hylocereus undatus*, pudrición blanda, clones, nutrientes

ABSTRACT

The stem soft-rot disease of pitahaya (*Hylocereus undatus*), it is a common disease that has been observed at the Halacho, Santo Domingo Maxcanu, Sinanche, Kinchil, Dzidzantun localities in Yucatan Mexico state that are producing areas of this fruit. Twenty-six samples were collected to determine the causal agent, likewise, for evaluation the effect of disease development and its deficiencies of N, P, Ca, B, Mn, Fe, Zn. Also to evaluate the infection from three clones. Of the carried out analyses, it was found that the soft-rot of pitahaya in sampled areas at least two pathogenic bacterias. *Hylocereus* spp., *H. undatus* and *H. purpusii* went susceptible to pathogens, being more susceptible *H. undatus* with 29% of N, Ca, Mg, blank, Zn, Fe, P, K and Mn deficiency showed rot damages. The increasing damage was found to Ca and N deficiency with 17.51 and 15.65% respectively.

Key words: pitahaya, soft rot, nutrimental deficiencies

INTRODUCCIÓN

En México la pitahaya (*Hylocereus undatus* (Britt. & Rose) Haworth.) se cultiva en aproximadamente 1,137 ha, distribuidas en los estados de Campeche, Chiapas, Colima, Jalisco, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Tabasco, Tamaulipas y Yucatán [Rodríguez, 1999; Sagarpa, 2001]. La pitahaya tiene gran potencialidad e importancia como cultivo debido a su amplia variabilidad en cuanto a forma y tamaño del fruto, de los esquejes, colores de la cáscara, de la pulpa y a sus períodos de fructificación [Rodríguez, 1999]. La pitahaya además puede resistir fuertes sequías e incluso períodos de inundación, y puede desarrollarse en suelos someros [Castillo, 1996]. A pesar del incremento en la superficie cultivada de esta planta en varios lugares del

mundo, poco se conoce de las principales limitantes fitopatológicas [Valencia-Botín, 2002]. En México, los únicos estudios etiológicos han sido sobre la enfermedad ojo de pescado *Botryosphaeria dothidea* [Valencia-Botín, 2002]. Dada la importancia de conocer más sobre la identidad, incidencia y desarrollo de las enfermedades presentes en nuestras parcelas comerciales, se plantearon los objetivos de identificar y caracterizar el agente causal de la pudrición blanda de los tallos de pitahaya, determinar la susceptibilidad o resistencia de tres clones de pitahaya y determinar el efecto de la deficiencia nutricional de la pitahaya con respecto a la severidad de la pudrición blanda.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron colectas de tallos de pitahaya con síntomas de pudrición blanda en los municipios de Halachó, Santo Domingo Maxcanú, Sinanché, Kinchil, Dzidzantún, en el estado de Yucatán. Los muestreos se efectuaron en julio de 1998 y abril y julio de 1999.

Aislamiento y purificación del agente causal

De los tallos con síntomas de pudrición blanda se realizaron preparaciones temporales del tejido afectado, y se observaron al microscopio compuesto con el objetivo de detectar la presencia de células bacterianas. Posteriormente se procedió al aislamiento en forma directa a partir de la zona de avance de la enfermedad. Las siembras se realizaron en medios de cultivo CPG, CVP [Rodríguez, 1994] y MB-25 [Manovsky, 1985]. Todas las siembras se realizaron por el método de estría cruzada; las cajas sembradas se incubaron a 28 °C durante 48 horas. Las colonias obtenidas se purificaron en medio CPG y posteriormente se procedió a su preservación en agua estéril.

Inoculación en tallos de pitahaya y cladodios de nopal

Para probar la patogenicidad de los aislamientos obtenidos se emplearon por triplicado tallos de pitahaya y cladodios de nopal. Las cepas aisladas y purificadas fueron probadas mediante la inyección de una suspensión (10^8 UFC.mL) en tallos sanos de pitahaya; también se realizó la inoculación de la mezcla de los organismos, y se inocularon tallos de pitahaya y cladodios de nopal con la bacteria *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* (Ecc). Tres tallos de pitahaya y cladodios de nopal testigo fueron inoculados únicamente con agua estéril. Posteriormente los tallos de pitahaya se cubrieron con bolsas de polietileno durante siete días y se colocaron en un invernadero de vidrio. Los cladodios de nopal se colocaron en cámara húmeda durante 24 horas a temperatura de laboratorio.

Identificación y caracterización del agente causal

La identificación y caracterización de las bacterias se llevó a cabo basado en características fisiológicas, morfológicas y bioquímicas. Cada una de las pruebas se hicieron con dos repeticiones y con cultivos jóvenes de 24 horas. Se emplearon las pruebas de morfología colonial, celular y movilidad, determinación del Gram, oxidación y fermentación de la glucosa, producción de citocromo oxidasa, producción de catalasa, producción de Indol, sustancias reductoras a partir de sacarosa, licuefacción de gelatina, producción de H_2S , reducción de nitratos, producción de ureasa, producción de ácidos a partir de carbohidratos, reacción de rojo de metilo y reacción de Voges-Proskauer.

Determinación del efecto de las deficiencias nutrimentales de la pitahaya con respecto a la severidad de la pudrición blanda de la pitahaya

Para llevar a cabo la evaluación de las deficiencias nutrimentales de las especies de pitahaya *Hylocereus* spp., *H. undatus* e *H. purpusii* a la pudrición, se establecieron tallos en noviembre de 1998. Los materiales fueron inoculados con las cepas bacterianas que fueron patogénicas, y una cepa de *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* (Ecc) proporcionada por el Laboratorio de Fitobacteriología de la Universidad Autónoma Chapingo. Los tallos testigo fueron tratados solamente con agua estéril. Los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño experimental de parcelas divididas con cuatro repeticiones, siendo la parcela grande las tres especies de pitahaya, y la parcela chica los tratamientos que para este caso en particular fueron las cepas bacterianas: cepa 1, cepa 2, mezclas de cepas 1 y 2 y Ecc. Se realizaron dos evaluaciones en intervalo de 15 días cada una. Los datos obtenidos se analizaron por el sistema estadístico SAS [SAS Institute, 1998].

Se utilizaron materiales con las deficiencias nutrimentales de N, P, K, Ca, Mn, Mg, Zn, Fe y un testigo sin deficiencias, todos ellos provenientes de experimentos de inducción de deficiencias en pitahaya. El diseño experimental utilizado fue el de parcelas divididas con seis repeticiones, siendo la parcela grande las deficiencias, y la parcela chica las bacterias aisladas. Se realizaron dos evaluaciones en intervalo de 15 días cada una. Los datos obtenidos se analizaron por el sistema estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los recorridos realizados en julio de 1998 y abril de 1999 se colectaron 16 muestras con síntomas de pudrición, caracterizada por lesiones de color café claro, de 1,5 a 3 cm de ancho por 12 a 13 cm de largo y consistencia blanda. En algunas muestras las lesiones presentaban un halo amarillo (Fig. 1). Estos daños se pudieron observar en cualquier parte del tallo. Dichos síntomas coinciden hasta cierto punto con lo reportado por Góngora (1994), quien señala que la enfermedad se puede presentar como manchas blandas, y que generalmente se inician como puntos negros acuosos circundados por un halo amarillo, lo cual no se pudo observar en los recorridos efectuados. En cambio, en julio de 1999 los síntomas observados fueron similares a lo observado para los anteriores muestreos.

Aislamiento y purificación del agente causal

Al hacer las preparaciones en fresco de los tallos afectados y observarlos al microscopio, únicamente en los materiales colectados en julio de 1998 y abril de 1999 se detectaron células bacterianas inmóviles; en cambio en los 10 tallos, correspondientes al muestreo de julio de 1999 no se lograron detectar bacterias, pero sí un gran número de conidios. Probablemente esto se deba a que la pudrición blanda de los tallos de pitahaya se le ha encontrado con mayor incidencia en épocas de baja precipitación y temperaturas altas, y en asociación con la enfer-

medad ojo de pescado, de origen fungoso [Castillo, 1996; Cruz, 1996 y Valencia-Botín, 2002]. En las siembras realizadas en el medio CPG se logró aislar en forma constante dos tipos de colonias bacterianas, en cambio en el medio MB-25, donde las colonias de *Ecc* son de color rosado

[Manovsky, 1985], y en el medio CVP, las colonias pertenecientes a este género producen un hundimiento del medio en forma de disco [Kelman y Dickey, 1980], y en ninguno de ellos se aislaron bacterias con estas características.

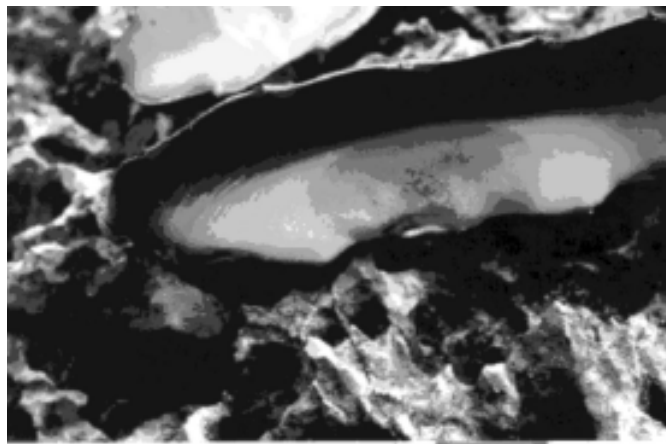


Figura 1. Síntomas de pudrición blanda de los tallos de pitahaya.

Pruebas de patogenicidad

En la inoculación de tallos y plantas de pitahaya, con las cepas 1, 2 y la mezcla de ellas, al tercer día se presentó un área clorótica que avanzó del centro del punto inoculado hacia los bordes del tallo, y posteriormente se desarrolló una pudrición de color café claro que fue avanzando hasta cubrir la totalidad del tallo. Cabe mencionar que con la cepa 1 los síntomas se observaron a los cinco días, y con la cepa 2 hasta los ocho, y la mezcla de ambas bacterias a los seis días después de la inoculación, con lo que se confirmó la patogenicidad de estos agentes. Asimismo en la inoculación de los cladodios de nopal a las 24 horas se presentó hundimiento del tejido inoculado, siendo más ligero en el tratamiento con la cepa 2, y al cabo de unos tres días se desarrolló una pudrición blanda de color café oscuro que despedía un olor desagradable, y entre los ocho a diez días los cladodios se pudrieron totalmente. Cuando se aplicaron ambas cepas se manifestó el hundimiento, pero este fue ligeramente menos severo; en cuanto a la pudrición, no se observaron diferencias. Estos síntomas no corresponden con lo reportado por Gijón (1996) para la pudrición, en nopal inducida por *Ecc*, pues señala que a las 24 horas se presenta una lesión de consistencia blanda, verde oscuro de aspecto húmedo; que a medida que pasa el tiempo se desarrolla una coloración café rojizo oscuro, y la zona de avance presenta un aspecto húmedo, pero no menciona el hundimiento del tejido como se observó en este caso. Por otro lado, en la prueba de pudrición del tubérculo de papa los resultados fueron negativos, ya que ninguna de las dos cepas pudrieron las rebanadas de papa, cuando Chí [1998]) reporta esta prueba como positiva para las bac-

terias que él aisló de pitahaya.

Identificación y caracterización del agente causal

La cepa 1 se caracterizó por tener un crecimiento rápido (24 horas) en el medio CPG, donde formó colonias de color blanco grisáceo, circulares, de borde liso, convexas y brillantes, constituida por bacterias bacilares, inmóviles, característica que no coincide para las erwinias del grupo carotovora [Cowan, 1975; Kelman, 1980 y Lelliot, 1974], por lo que al tener estos resultados se decidió sembrar en los medios SIM y agua peptonada al 1%, los cuales son recomendados para detectar movilidad y facilitar la síntesis de flagelos [Rodríguez, 1994]. Sin embargo, los resultados fueron negativos, lo cual hizo suponer que se podía tratar de un nuevo agente causal, ya que como se mencionó anteriormente, en las preparaciones en fresco del tejido enfermo de pitahaya como del nopal inoculado nunca se observaron bacterias móviles como cuando la infección es por *E. carotovora* pv. *carotovora* [Gijón, 1996], lo cual fue confirmado con la utilización de los medios CVP y MB-25 de las 26 muestras analizadas. Nunca se logró el aislamiento de colonias rosas como las que menciona Manovsky (1985), o bacterias que producen la degradación de pectatos en forma de disco en el medio CVP [Kelman, 1980], por lo que estos resultados no concuerdan con lo reportado por Góngora (1994) y Chí (1998), quienes han encontrado a *E. carotovora* pv. *carotovora* como causante de la pudrición de la pitahaya en Nicaragua y Yucatán, México. Bioquímicamente la cepa 1 se caracterizó por tener un metabolismo aeróbico y anaeróbico facultativo, dar positiva la reacción de rojo de metilo, Voges-Proskauer y reducción de nitratos, y

no producir indol, sacarosa, H_2S [Cowan, 1975], por lo que se ubicó como una enterobacteria no móvil.

La cepa 2 se caracterizó por tener un tiempo de generación ligeramente más largo que la cepa 1 (48-72 horas), y sus colonias fueron color blanco, circulares, borde liso,

convexas, brillantes y opacas, constituidas por bacterias gram positivas y esféricas. Bioquímicamente se caracterizó por ser bacterias con un metabolismo areóbico y anaeróbico facultativo, dar positiva la reacción de oxidasa, catalasa, rojo de metilo, Voges-Proskauer y reducción de nitratos. No presentó licuefacción de gelatina y no pro-

Tabla 1. Características bioquímicas de la cepa 1, aislada de la pudrición blanda de los tallos de pitahaya.

Prueba	Cepa 1	Enterobacteria*
Forma	Bacilos	Bacilos
Movilidad	–	–
Crecimiento aeróbico	+	+
Crecimiento anaeróbico	+	+
Oxidación y fermentación de la glucosa	+	+
Catalasa	+	+
Oxidasa	–	–
Reducción de NO_3	+	+
Producción de ureasa	–	–
Producción de ácido a partir de:		
Dulcitol	–	–
Lactosa	+	+
Maltosa	+	+
Trehalosa	+	+
Sacarosa	–	–
Reacción de rojo de metilo	+	D
Producción de indol	+	D
Producción de H_2S	–	D

* Características reportadas por S. T. Cowan (1975).

Tabla 2. Características bioquímicas de la cepa 2, aislada de la pudrición blanda de los tallos de pitahaya.

Prueba	Cepa 2
Forma	Cocos
Gram	+
Catalasa	+
Agrupación en cadenas	–
Movilidad	–
Voges-Proskauer	+
Oxidasa	–
Crecimiento anaeróbico	+
Crecimiento aeróbico	+
Reducción de nitratos	+
Rojo de metilo	+
Licuefacción de gelatina	–
Ureasa	–
Producción de H_2S	–

dujo H_2S [Cowan, 1975, Baird-Parker, 1975]. La ubicación taxonómica de estas bacterias aún se encuentra en proceso.

Determinación de la susceptibilidad o resistencia de tres especies de pitahaya a la pudrición blanda de los tallos de pitahaya

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza para el conjunto de datos correspondientes a la evaluación de las especies y las cepas inoculadas, las tres especies de pitahaya desarrollaron pudrición, resultando *H. undatus* la más susceptible con 29%. La que menos daño presentó fue *Hylocereus* spp. con 6%. En cuanto a las bacterias aisladas, la cepa 2 fue la que indujo mayor pudrición con 27% de severidad, y la menos virulenta fue la cepa *Ecc* con sólo 4% (Tabla 3).

Determinación del efecto de las deficiencias nutrimentales de la pitahaya con respecto a la severidad de la pudrición blanda de la pitahaya

En el caso de los datos del análisis de varianza, correspondientes a las deficiencias (Tabla 4), los resultados indican que la deficiencia de Ca fue la que más influyó en la severidad de la pudrición de los tallos con 14,49%; en cambio la carencia de B no indujo el desarrollo de pudrición. En cuanto al daño por bacterias, no se encontró diferencias entre la infección con la cepa 1 y cepa 2 y la mezcla de ambas, pero sí con *Ecc* con sólo 8,32%.

En la segunda evaluación el daño de pudrición en los tallos siguió desarrollándose con mayor severidad, resultando que la deficiencia de Ca y N favorecieron la invasión de los tejidos, ya que lograron pudriciones de hasta 17,51%, y la deficiencia de B continuó sin daño. De la misma manera la cepa 1 fue la que causó mayor severidad en 32,04%, y el menor porcentaje lo presentó la cepa de *Ecc* con 16% (Tabla 4). Estos resultados indican que las deficiencias nutrimentales influyen en la severidad causada por el efecto de las bacterias, como lo ha sucedido con otros patógenos, lo cual hace que un manejo eficiente y

Tabla 3. Comparación de medias de Tukey de los porcentajes de pudrición de las tres especies de pitahaya evaluadas y las tres cepas inoculadas en tallos de pitahaya, en Chapingo, México (1999).

Especie	Por ciento de infección	
	Primera evaluación	Segunda evaluación
<i>H. undatus</i>	26 a*	29 a*
<i>H. purpusii</i>	12 ab	17 ab
<i>Hylocereus</i> sp.	4 b	6 b
Cepa bacteriana		
2	23 a*	27 a*
1	18 a	21 a
1 y 2	14 a	15 a
<i>E. carotovora</i>	3b	4b

* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey con $\alpha = 0,05$).

Tabla 4. Comparación de medias de Tukey de los porcentajes de pudrición de las deficiencias y las cepas aisladas inoculadas en tallos de pitahaya, en Chapingo, México (1999).

Deficiencia	Por ciento de infección	
	Primera evaluación	Segunda evaluación
Calcio	14,49 a*	17,51 a*
Nitrógeno	13,29 ab	15,65 a
Magnesio	9,30 bc	14,75 a
Zinc	7,50 cd	9,79 b
Testigo	6,65 cd	8,75 bc
Potasio	5 cde	6 bcd
Hierro	4,50 cde	5 cd
Fósforo	3,15 de	3,38 de
Manganeso	3 de	3,12 de
Boro	0,0 e	0,0 e
Cepa bacteriana		
1	20,93 a*	32,04 a*
2	20,27 a	28,25 b
1 y 2	20,02 a	27,96 b
<i>E. carotovora</i> pv. <i>carotovora</i>	8,32 b	16 c

* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey con $\alpha = 0,05$).

oportuno de la fertilización brinde protección a la planta hacia las enfermedades causadas por bacterias [Canaday, 1992; Haygood, 1982 y Wright, 1995].

CONCLUSIONES

- En la pudrición blanda de la pitahaya en los municipios de Halachó, Santo Domingo Maxcanú, Sinanché, Kinchil, Dzidzantún, en el estado de Yucatán, están involucradas al menos dos bacterias que no corresponden al género *Erwinia*. Las tres especies de pitahaya *Hylocereus* spp., *H. undatus* e *H. purpusii* son susceptibles a las dos cepas inoculadas, resultando con más daño *H. undatus*. La deficiencia de Ca en los tallos de pitahaya fue la que presentó mayor severidad, y la que manifestó el menor daño fue la deficiencia de Mn. Diversas

pruebas para determinar la identidad de los agentes causales, su caracterización y la generación estrategias de manejo con clones tolerantes a la enfermedad, están en proceso.

REFERENCIAS

- Baird-Parker, A. C.: «Family I. Micrococcaceae», Pibram 1929, 385, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Buchanan R. E. y N. E. Gibbons. Waverly Press, Inc. Baltimore, Md., Estados Unidos, 1998.
- Canaday, C. H.; J. E. Wyatt: «Effects of Nitrogen Fertilization on Bacterial Rot in Two Broccoli Cultivar, One Resistant and One Susceptible to the Disease», *Plant Disease* 76:989-991, 1992.
- Castillo, M. R.: «Contribución al conocimiento de la pitahaya (*Hylocereus* spp)», Castillo M. R. y Cáliz de D. H. (compiladores): *Memorias del primer curso teórico-práctico sobre el cultivo de la pitahaya*, Universidad de Quintana Roo, Chetumal, Quintana Roo, México, 1996, pp. 51-55.

- Cowan, S. T.: «Family I. Enterobacteriaceae». Rhan 1937, 281, *Manual de bacterias de importancia médica*, Nom. Gen. Cons. Opin 15, Jud. Comm. 1958, 73. Waverly Press, Inc. Baltimore, Md., Estados Unidos, 1975.
- Cruz, C. M.: «Costo de establecimiento de plantaciones de pitahaya», M., R Castillo y D. H. de Cáliz (compiladores). *Memorias del primer curso teórico-práctico sobre el cultivo de la pitahaya*, Universidad de Quintana Roo, Chetumal, Quintana Roo, México, 1996, pp 17-31.
- Gijón, H. A. R.: «Etiología de la pudrición del nopal (*Opuntia* spp.) y su comportamiento con la cepa CAE-01». Tesis Profesional. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, México, 1996.
- Góngora, G. J.: «Manejo fitosanitario de la pitahaya. Enfermedades», *Memorias del Primer Encuentro Nacional del Cultivo de la Pitahaya*, 1994, pp. 99-104.
- Haygood, R. A; D. L. Strider; P. V. Nelson: «Influence of Nitrogen and Potassium on Growth and Bacterial Leaf Blight of Philodendron Selloum», *Plant Disease* 66:728-730, 1982.
- Kelman, A; R. S. Dickey: «Soft Rot "Carotovora Group"», *Laboratory Guide Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, Department of Plant Pathology, University of Georgia, 1980.
- Lelliot, R. A.: «Genus XII Erwinia», *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, eight edition, Estados Unidos, 1974.
- Manovsky, E. C. de: *Bacteriología general*, Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, México, 1985.
- Rodríguez, M. Ma. de L.: *Manual de identificación de bacterias fitopatógenas*, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México, 1994.
- Rodríguez, C. A.: «Producción y comercialización de pitahayas en México», Instituto Tecnológico Agropecuario no. 2, Conkal Yucatán, México, 1999.
- SAGARPA.: «Sistema de Información Agropecuaria (SIACON)», Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. México, 2001.
- Valencia-Botín, A. J.: «Etiología de la enfermedad ojo de pescado en pitahaya (*Hylocereus undatus* H.)». Tesis de Maestría en Ciencias, Programa en Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Montecillo México, 2002.
- Wright, P.: *Calcium Can Reduce Bacterial Soft-Rot in Potatoes*, The New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited, Nueva Zelanda, 1995.