

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación *in vitro* de Bactericidas e Inductores de Resistencia para el Control de la Pudrición Blanda en el Cultivo de Cebolla

Por:

ERICK DANIEL CASTILLO SANTIBAÑEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación *in vitro* de Bactericidas e Inductores de Resistencia para el Control de la Pudrición Blanda en el Cultivo de Cebolla

Por:

ERICK DANIEL CASTILLO SANTIBAÑEZ

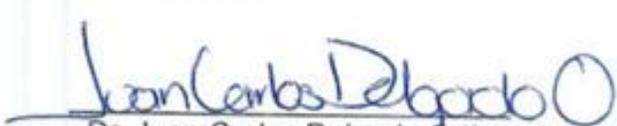
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Asesor Principal


Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz
Asesor Principal Externo


Dra. Mariana Beltrán Beache
Coasesor


Dr. Ernesto Cerna Chávez
Coasesor


Dr. Alberto Sandoval Rangel
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2025

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Atentamente:



Erick Daniel Castillo Santibañez

Tesista de Licenciatura/UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por haberme dado la vida, por guiarme siempre que lo necesitaba, por la orientación la cual me llevo a escoger caminos donde pude encontrar personas y amigos con quienes compartí momentos de vida de mucho valor.

A MI ALMA TERRA MATER

Por brindarme la oportunidad de ser parte de esta gran institución; además, de convertirse en mí segunda casa durante toda mi preparación académica.

COMITÉ DE TESIS

Al asesor Dr. Juan Carlos a quien conocí desde primer semestre y se convirtió en un gran amigo otorgándome su amistad incondicional.

Gracias por demostrarnos que siempre puede existir esa pequeña diferencia por la cual nacen nuevas ideas y propósitos.

AMIGOS

A ustedes amigos que formaron parte de mi vida durante más de 4 años, quienes hicieron sentirme en casa aun estando lejos de ella, gracias por hacerme encontrar en cada uno de ustedes un lugar cálido con el cual siempre pude contar:

Alejandra Zavala, Rubén Ortega, Jesús De La Rosa, Elihu Escobedo, Luis Zamudio, Anziel Aguilar, Alexandro Aguilar, Albino Cruz, Hendrihs Jaimes, Armando Victoria, así como a Paola Castillo, Gabriela Castillo, Juan Castillo, Porfirio Gavilán, Azucena Mata, Oralia Sánchez, Erika Castillo. Gracias por su grandiosa amistad y motivación para siempre dar lo mejor de mí en cada momento.

DEDICATORRIA

A MIS PADRES

LETICIA SANTIBAÑEZ BONILLA

J. REYES CASTILLO RIVERA

Es un logro de y para ustedes, su amor y apoyo incondicional fueron motores que me dieron impulso para siempre seguir adelante durante todo este tiempo, gracias por enseñarme que a pesar de haber complicaciones nunca hay que dejar de tener en mente los objetivos planeados.

A MIS HERMANOS

REYES

Por ser mi compañero de vida y una persona que siempre quiere lo mejor para mí, gracias por toda la motivación que me das día a día, sin ti no hubiera logrado llegar hasta este momento.

ITHALIBY

La mayor de todos, aunque hemos tenido tu ausencia en estos últimos años sé que me apoyas y quieres desde donde vives.

JADE

Gracias por llegar como un rayo de luz y motivación a nuestras vidas, eres una persona que tiene mucho valor para mí, mi amor por ti siempre será sincero e incondicional.

MATILDE CASTILLO +

Gracias por siempre dejar esa chispa de motivación y por siempre demostrar que podemos lograr todas nuestras metas.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORRIA	v
INDICE DE TABLAS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Producción mundial de cebolla	5
Importancia de la cebolla en México	6
Cultivo de cebolla	7
Origen	7
Morfología del cultivo de la cebolla	7
Raíz	8
Tallo	8
Hojas	8
Inflorescencia	8
Flores	8
Bulbo	9
Etapas del del cultivo de cebolla	9
Producción de plántula y trasplante	10
Densidad de plantación	10
Fertilización y riego	11
Formación de bulbo	12
Principales problemas fitosanitarios del cultivo de cebolla	12
Principales plagas del cultivo de la cebolla	12
Principales enfermedades de la cebolla	13
Tizón de la hoja por <i>Xanthomonas axonopodis</i>	13
Morfología	13
Sintomatología	14
Podrición blanda por <i>Pectobacterium carotovorum</i>	14
Taxonomía de (<i>Pectobacterium carotovorum</i>)	15

Morfología	15
Sintomatología	16
Epidemiología.....	17
Piel agria de la cebolla causada por <i>Burkholderia cepacia</i> y <i>B. cenocepacia</i>	17
Taxonomía de (<i>Burkholderia cepacia</i> y <i>B. cenocepacia</i>)	18
Morfología	18
Sintomatología	19
Epidemiología.....	20
Estrategias de Control.....	21
Control biológico.....	21
Control cultural	22
Control químico	23
METODOLOGÌA	25
Muestreo	25
Aislamiento y purificación	25
Identificación.....	26
Producción de inóculo	26
Evaluación <i>in vitro</i> de la efectividad biológica de bactericidas (técnica de microplaca) en el control de <i>P. carotovorum</i> y <i>B. cepacia</i>	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIÓN	37
BIBLIOGRAFIA	38

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción mundial de cebolla (Dapro, 2020)	5
Tabla 2. Producción nacional de cebolla (SIAP, 2023)	6
Tabla 3. Requerimientos nutricionales del cultivo de la cebolla (INIFAP, 2013).....	11
Tabla 4. Bactericidas implementados en el control de Pudriciones en cebolla	24
Tabla 5. Caracterizaciones morfológicas y bioquímicas de <i>P. carotovorum</i> y <i>B. cepacia</i>	28
Tabla 6. Inhibición <i>in vitro</i> de <i>P. carotovorum</i> por bactericidas	30
Tabla 7. Inhibición <i>in vitro</i> de <i>B. cepacia</i> por bactericidas.....	31
Tabla 8. Concentración letal media de los bactericidas evaluados en <i>Pectobacterium carotovorum</i> y <i>Burkholderia cepacia</i>	35

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología colonial de <i>Pectobacterium carotovorum</i>	15
Figura 2. Sintomatología de <i>Pectobacterium carotovorum</i>	16
Figura 3. Crecimiento de colonias de <i>Burkholderia cepacia</i>	19
Figura 4. Sintomatología de <i>Burkholderia cepacia</i>	20
Figura 5. Evaluación de bactericidas por medio de la técnica de microplaca.....	27

RESUMEN

La cebolla (*Allium cepa*) es un cultivo de gran importancia en México por su gran aportación económica; algunas de las principales enfermedades por las que se ve afectado este cultivo es la enfermedad llamada pudrición blanda y piel agria causadas por *Pectobacterium carotovorum* y *Burkholderia cepacia* ocasionando grandes pérdidas que pueden llegar a ser significativas al momento de la producción. Una alternativa para combatir esta enfermedad es el control químico una de las mejores opciones. Por lo cual, en este trabajo se evaluó la sensibilidad e inhibición *in vitro* de *Pectobacterium carotovorum* y *Burkholderia cepacia* con 12 diferentes ingredientes activos por la técnica de microplaca a concentraciones de 1500, 750, 375, 187.5, 93.75, 46.87, 23.43, 11.71, 5.8 ppm; obteniendo que los ingredientes activos kasugamicina, ácido salicílico, sulfato de cobre pentahidratado y sulfato de kanamicina presentaron una CL₅₀ que oscila de entre 3.477 – 983.045 ppm, presentando un control superior al 85% de inhibición de crecimiento bacteriano de *Pectobacterium carotovorum* y *Burkholderia cepacia*

Palabras clave: Cebolla, *Pectobacterium carotovorum*, *Burkholderia cepacia*, sulfato de cobre pentahidratado, antibióticos.

INTRODUCCIÓN

La cebolla es un cultivo ampliamente distribuido en todo el mundo y es la segunda hortaliza de mayor producción a nivel mundial. Esto se debe a la existencia de un amplio catálogo de variedades adaptables a diversos climas, como son cebollas blancas, amarillas y moradas. Siendo China e India los mayores productores a nivel mundial (Bermúdez, 2019).

En México, la cebolla se cultiva en 26 estados en el país, en 2023 se cosechó un millón 801 mil toneladas, con un incremento frente al año 2022 de 17.8 % y un aumento de 253 toneladas en comparación de la última década, siendo el estado de Chihuahua el de mayor producción (25.18%), seguido del estado de Guanajuato con aporte del (12.41%); mientras el estado de Zacatecas se posiciona en el tercer lugar con un aporte de (10.21%); los estado de Tamaulipas y Baja California se ubican en la cuarta y quinta posición con un (8.99%) y (7.71)% de la producción nacional (SIAP, 2023).

En México se han reportado que los problemas fitosanitarios que limitan el cultivo de cebolla son causados por distintos hongos y bacterias en los cuales encontramos: la pudrición de la semilla (*Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani*), damping-Off (*Fusarium* spp., *Phytium* spp. y *Rhizoctonia* spp.), podredumbre basal (*Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. verticilliodes*, *F. proliferatum*), raíz rosada (*Phoma terrestris*), pudrición blanda (*Sclerotinia sclerotium*), mildiú veloso (*Peronospora destructor*), mancha purpura (*Alternaria porri*), tizón de la hoja (*Stemphylium* spp.) y pudrición del tallo (*Stemphylium vesicarium*), moho negro (*Aspergillus niger*), podredumbre blanda (*Rhizopus microsporus* y *R. stolonifer*), tizón de la hoja (*Xanthomonas axonopodis*), pudrición blanda (*Pectobacterium carotovorum*) y piel agria (*Burkholderia cepacia*) (Schwartz & Mohan 2016).

Esta enfermedad es difícil de controlar una vez que se introduce en un campo, porque puede sobrevivir en suelo, residuos vegetales y hospedantes alternos (CESAVEM , 2022).

Se sabe que varias bacterias causan la pudrición blanda de las hojas de cebolla y afectan la parte interna de los bulbos tanto en el campo como en el almacenamiento. En estas se incluyen especies de los géneros *Pectobacterium*, *Dickeya*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Bacillus* y *Escherichia*; se ha encontrado que están asociadas con bulbos de cebolla podridos o como parte de la microflora endofítica residente de la cebolla asintomática, que pueden convertirse en patógenos oportunistas bajo ciertas condiciones ambientales o de almacenamiento, prácticas de cosecha, condiciones físicas o fisiológicas (Samson *et al.*, 2005).

La distribución de las cepas de *B. cepacia* y *B. cenocepacia* se encuentra presente en rizosferas de varios cultivos de importancia agrícola como lo son el maíz, el trigo y la cebolla, el suelo de bosques y el agua de los ríos también son parte de su hábitat natural. Múltiples especies del complejo *B. cepacia* colonizan la rizosfera de la cebolla y tienen el potencial de causar la enfermedad de la piel agria de la cebolla. Además, la rizosfera de la cebolla es un hábitat natural y ambiente adecuado donde *B. cenocepacia* puede desarrollarse simultáneamente con el cultivo (Ramette *et al.*, 2005).

JUSTIFICACIÓN

Siendo que en los últimos años la enfermedad de la pudrición del bulbo de la cebolla por *P. carotovorum* y *B. cepacia*, ha tomado mayor relevancia en el cultivo de la cebolla en la zona oriente productora del estado de Morelos. Por lo que evaluar la sensibilidad a inductores de resistencia y a antibióticos en el control de *P. carotovorum* y *B. cepacia* aisladas de muestras de la región se vuelve esencial para el manejo de la enfermedad.

OBJETIVOS GENERAL

Evaluar el efecto inhibitorio de antibióticos bajo condiciones *in vitro* para el control de los agentes causales de la pudrición blanda en cebolla.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento bacteriano de *Pectobacterium carotovorum* & *Burkholderia cepacia* tratados con TerraCu 5 %® (Oxitetraciclina) PROGRANIC Mega® (Extracto de gobernadora), Kasumin® (Kasugamicina), Actigar® (Acibenzolar S-metil), (ácido salicílico,), DELTA AZUL® (Sulfato de Cobre pentahidratado), VACCIPLANT® (Laminarina), Kaxtoli® (Sulfato de kanamicina), en condiciones *in vitro*.

Determinar la Concentración Efectiva media (CL₅₀) de los bactericidas TerraCu 5 %® (Oxitetraciclina) PROGRANIC Mega® (Extracto de gobernadora), Kasumin® (Kasugamicina), Actigar® (Acibenzolar S-metil), (ácido salicílico,), DELTA AZUL® (Sulfato de Cobre pentahidratado), VACCIPLANT® (Laminarina), Kaxtoli® (Sulfato de kanamicina) sobre *Pectobacterium carotovorum* & *Burkholderia cepacia* en condiciones *in vitro*.

HIPOTESIS

Se espera que al menos uno de los ingredientes activos muestre una eficiencia superior al 85 por ciento en la inhibición del crecimiento bacteriano de *Pectobacterium carotovorum* y *Burkholderia cepacia* en las evaluaciones con la técnica de la microplaca.

REVISIÓN DE LITERATURA

Producción mundial de cebolla

La cebolla es un cultivo ampliamente distribuido en todo el mundo y es la segunda hortaliza de mayor producción a nivel mundial. Esto se debe a la existencia de un amplio catálogo de variedades adaptables a diversos climas, como son cebollas blancas, amarillas y moradas. Siendo China e India los mayores productores a nivel mundial (Bermúdez, 2019).

A nivel mundial la producción de cebolla oscila en los 97 millones de toneladas; siendo los principales productores son China con un 33 % de la producción, India en segundo lugar con un 10 % y Estados Unidos en tercera posición con un 6 % (Tabla 1). La producción de América Latina representa el 9% del total mundial, y las cifras más destacadas corresponden a Argentina, Brasil, Colombia, Chile y México. Los principales países exportadores agrupan el 5% del volumen total del comercio, ellos son India, Países Bajos, China y Egipto (Reveles-Fernández *et al.*, 2016).

Tabla 1. Producción mundial de cebolla (Dapro, 2020)

País	Producción (Millones de Toneladas)
China	24,70
India	22,07
Estados Unidos	3,28
Egipto	2,96

Pakistán	2,12
Turquía	1,93
México	1,57
Mundial	97,00

Importancia de la cebolla en México

En México, la cebolla se cultiva en 26 estados en el país, en 2023 se cosechó un millón 801 mil toneladas, con un incremento frente al año 2022 de 17.8 % y un aumento de 253 toneladas en comparación de la última década, siendo el estado de Chihuahua el de mayor producción (25.18%), seguido del estado de Guanajuato con aporte del (12.41%); mientras el estado de Zacatecas se posiciona en el tercer lugar con un aporte de (10.21%); los estado de Tamaulipas y Baja California se ubican en la cuarta y quinta posición con un (8.99%) y (7.71)% de la producción nacional (Tabla 2) (SIAP, 2023).

Tabla 2. Producción nacional de cebolla (SIAP, 2023)

Estado	Producción (Ton)
Chihuahua	453,494
Guanajuato	223,637
Zacatecas	183,916
Tamaulipas	162,026
Baja California	138,976
Michoacán	126,616
Puebla	100,661
Morelos	80,244
Jalisco	64,618
San Luis Potosí	61,637

Cultivo de cebolla

Origen

La palabra "cebolla" es de origen latín y significa "perla grande", por su similitud con la de una perla no sólo por su estructura, sino también por su valor comercial. Actualmente se desconoce el origen de la cebolla en estado silvestre; sin embargo, se puede encontrar en distintas variedades de diferentes colores, sabores y formas (Castillo, 2022).

El distintivo sabor de la cebolla la ha posicionado en un ingrediente indispensable de la cocina mundial; se cultiva desde hace más de 4,000 años y en la actualidad se produce en 139 países, como ya se mencionó la India y China son los encargados de producir casi la mitad de la cebolla en el Mundo; México se ubica en la posición decimoséptima como productor mundial de este cultivo. (Osuna & Ramírez, 2013)

La cebolla es un cultivo de origen asiático, procedente exactamente de Irán y Pakistán. Es uno de los cultivos más antiguos, siendo cultivada por los sumerios en los años 6.000 a.C. Los egipcios la conocían desde los años 5.000 a.C; siendo que, en Egipto, se encontró un mural con figuras de cebollas, por lo tanto, se puede reconocer que las cebollas tomaban parte como una fuente importante de alimento para las personas habitantes del antiguo Egipto, con antigüedad de 3000 años a.C. (Hernández, 2014). Los romanos y griegos también consumían este bulbo, y fueron los romanos quienes se encargaron de propagar su consumo por todo Europa. Siendo este continente donde se introdujo para así llegar hasta América (Reveles-Hernández, 2014).

Morfología del cultivo de la cebolla

Son plantas anuales para la producción en bulbo y bianuales para la producción de semilla.

Raíz

La raíz verdadera de la cebolla es remplazada en una etapa temprana de desarrollo, esta es remplazada por raíces adventicias, siendo cortas y poco ramificado de color blanco, espesas y simples (Ramírez, 1996).

Tallo

El tallo se encuentra constituido por una masa caulinar aplastada llamada “disco” de entrenudos muy cortos, situado en la base del bulbo y que cuando ocurren diversas condiciones de medio físico y del ciclo de la planta, emite a través de su yema central, un escapo floral hueco de sección cilíndrica o tronco cónico, que atravesando el bulbo inicia la inflorescencia y que pueda alcanzar más de 1.0 m de altura (Venegas, 2013).

Hojas

Las hojas son tubulares, aguzadas en su parte superior y ensanchadas en su parte central. Cada una consta de dos partes; la hoja verdadera y vaina cilíndrica. Crecen de tal manera que cada hoja más joven pasa por la vaina de la hoja ya desarrollada. Así las vainas cilíndricas de la hoja se sitúan una dentro de otra y de tal manera se forma el falso tallo (Ramírez, 1996)

Inflorescencia

La inflorescencia desarrolla en el segundo periodo vegetativo, poseen entre 50 a 2000 flores y asemejan una umbela. Las flores se abren en forma irregular, durante un periodo que se prolonga entre dos y cuatro semanas por lo tanto una planta que produce varias inflorescencias puede ir abriendo sus flores durante un mes o más (Venegas 2013).

Flores

Las flores tienden a ser de color blanco, consta de una corola la cual está formada por; seis pétalos, un cáliz con seis sépalos, un androceo con seis estambres, ovario súpero y trilocular formado por dos óvulos en lóbulo. El área florar termina en una umbela simple la cual puede dar origen desde 50 a 2,000 flores (Castillo, 2022)

Bulbo

Es la parte comestible y donde se acumulan las sustancias nutritivas de reserva, se encuentra formado por numerosas capas gruesas y carnosas al interior, recubiertas de membranas secas, delgadas y transparentes, que son la base de las hojas (Panorama Agroalimentario, 2024)

Acorde a Integrated Taxonomic Information System (ITIS, 2010), la clasificación taxonómica de la cebolla es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Alliaceae

Género: *Allium*

Especie: *Allium cepa* L.

Etapas del del cultivo de cebolla

El cultivo de la cebolla es sensible al fotoperiodo, la formación y desarrollo del bulbo está seriamente influenciado al fotoperiodo ya sea corto el cual consta de 0 a 12 horas luz, intermedio 12 a 13 horas luz o largo que oscila más allá de 14 horas luz (Mata *et al.*, 2011).

Las variedades o híbridos de día corto tienden a establecerse en almacigo durante el periodo comprendido de septiembre y noviembre para posteriormente ser trasplantadas en el transcurso de los meses de diciembre a marzo, mientras que el

día intermedio deben sembrarse en el almacigo de diciembre a febrero para poder trasplantarse de marzo a mayo (Medina *et al.*, 2009).

Producción de plántula y trasplante

La producción de plántula en almácigo que es necesaria para una hectárea oscila entre un kilogramo de semilla para densidades de plantación de 222,000 plantas por hectárea, cuando se establece a doble hilera de plantas en surcos de 76 cm de ancho. La plántula esta lista para el trasplante de 70 a 90 días después de la siembra, cuando el bulbo tiene un diámetro entre 3 y 7mm y la altura de la planta es de 30 a 40 cm, se ha notado que cuando el tamaño del bulbo es mayor, la presencia de nuevas raíces es más rápido favoreciendo un mayor anclaje y mayor asimilación de nutrientes. Se ha demostrado que la homogeneidad en el tamaño de la plántula favorece la a una mejor obtención de bulbos al momento de la cosecha, por lo que se recomienda separar por tamaños la plántula al momento del trasplante (Reveles-Hernández, 2014).

Densidad de plantación

Es de suma importancia tomar en cuenta la densidad de plantación antes de establecer el cultivo ya que se ha demostrado que tienen influencia sobre el rendimiento y calidad de la cebolla, reportándose un incremento de la producción cuando se incrementa la densidad de plantación atribuible a la eficiencia en el uso de la luz interceptada por el cultivo, siendo más recomendadas las siguientes densidades de plantación que van desde 222,000 y 333,000 plantas por hectárea (Brewster, 2001).

En evaluaciones realizadas con elevadas densidades de plantación de hasta 526,300 plantas por hectárea, se ha demostrado que la reacción es inversa con la calidad del producto ya que reporta bulbos de menor tamaño a medida que se incrementa la densidad de plantas por hectárea (Stoffella,1996).

Fertilización y riego

El riego por goteo permite una aplicación homogénea del agua y mantiene un contenido de humedad menos variable que el riego por gravedad, además permite la aplicación de los fertilizantes y otros insumos a través del sistema de goteo, estas facilidades favorecen la obtención de mejores rendimientos y calidad del producto optimizando el uso del agua e insumos aplicados al cultivo (Lipinzki, 1997, Mata *et al.*, 2011).

Para abastecer de una nutrición equilibrada se necesitan hacer muestreos de suelo con el fin de saber el contenido de nutrientes, y de igual manera en el agua de riego previo al establecimiento del cultivo; así como determinaciones en la planta durante el ciclo de cultivo, lo cual se basa en los respectivos análisis previo al establecimiento del cultivo y el análisis foliar de extracto celular del peciolo y los análisis bromatológicos correspondientes (Navarro, 2012).

El nitrógeno está considerado como el más importante de los nutrientes en el cultivo de la cebolla, dado a su gran influencia en el crecimiento de la planta y en el rendimiento de esta, mientras que el potasio está considerado como elemento esencial respecto a la fotosíntesis del cultivo de cebolla (Dilruba *et al.*, 2006).

Tabla 3. Requerimientos nutricionales del cultivo de la cebolla (INIFAP, 2013)

Etapa	DDT	Unidades			Prod. comerciales		(Kg·ha-1)
		N	P	K	Multi-K	Fosfonitrato	Ac. Fosfórico
Siembra (2 hojas)	21	50	34	99	225	171	40
Desarrollo de hojas	47	90	46	114	260	298	55
Formación de bulbo	52	40	80	69	157	126	27
Total	120	180	34	282	642	592	122

El nitrógeno (N) es esencial para la planta, ya que está presente en cada una de sus células, se necesita en elevadas cantidades para crecer, es vital para la síntesis

de la clorofila y siendo parte de la molécula clorofila está presente en el proceso de fotosíntesis; es componente de las vitaminas, en las síntesis de energía y el incremento de proteínas en la planta. Con dosis controladas de fósforo (P) y potasio (K) mejoran la capacidad de la planta para asimilar dosis altas de N, lo que le facilitara acumular más proteínas y mejorar la calidad del producto (Núñez, 2017).

El fosforo (P) es de los elementos más importantes ya que no puede ser sustituido por otro nutriente, es necesario para la planta para completar exitosamente su ciclo de producción. Este induce la rápida formación de raíces, mejora la calidad de los frutos, hortalizas, granos. Aunque el fósforo es más demandado en las etapas iniciales de desarrollo de los cultivos y debido a su poca movilidad en el suelo, se recomienda hacer aplicaciones a fondo de una gran parte de este nutriente y luego complementar su fertilización a lo largo del ciclo (Ordóñez, 2014).

Formación de bulbo

La formación de bulbo comienza cuando cesa la aparición de nuevas hojas y empieza a llevarse a cabo la acumulación de reservas en el bulbo, el mismo que comienza a engrosar los catáfilos. La cual la podemos dividir en dos tipos: la maduración inicial; las hojas empiezan a doblarse y el cultivo en general comienza a tornarse de un color amarillento debido a su etapa de madurez y la maduración completa la cual es notable cuando los bulbos están carentes totalmente de sus hojas y es ahí cuando es necesaria su cosecha (Castillo,2022).

Principales problemas fitosanitarios del cultivo de cebolla

Principales plagas del cultivo de la cebolla

Las principales plagas de la cebolla son las siguientes: mosca de la cebolla (*Delia antiqua*), trips (*Thrips tabaci*, *Frankiniella occidentalis*), minador de la hoja (*Phytomyza gymnostoma*), gusano trozador de la cebolla (*Agrotis ipsilon*), ácaros del bulbo (*Rhizoglyphus echinopus*), pulgón del chalote (*Myzus ascalonicus*) (Schwartz & Mohan 2016).

Principales enfermedades de la cebolla

En el caso de enfermedades, podemos encontrar afectaciones por hongos como: la pudrición de la semilla (*Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani*), damping-Off (*Fusarium* spp, *Phytium* spp, *Rhizoctonia* spp.), podredumbre basal (*Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*), raíz rosada (*Phoma terrestris*), pudrición blanda (*Sclerotinia sclerotium*), podredumbre blanca (*Sclerotium cepivorum*, *S. rolfsii*), enfermedades por *Botrytis* (*B. allii*, *B. cinérea*, *B. porri*, *B. squamosa*), mildiú vellosa (*Peronospora destructor*), mancha purpura (*Alternaria porri*), tizón de la hoja (*Stemphylium* spp.) y pudrición del tallo (*Stemphylium vesicarium*), moho negro (*Aspergillus niger*), podredumbre blanda (*Rhizopus microsporus* y *R. stolonifer*) (Schwartz & Mohan 2016).

Tizón de la hoja por *Xanthomonas axonopodis*

El tizón foliar por *Xanthomonas* spp. también conocido como tizón bacteriano de la cebolla se describió por primera vez en Hawái. Se ha extendido rápidamente en regiones de Asia, el Caribe Oriental, la Isla de la Reunión (Francia), Sudáfrica, América del Sur y los Estados Unidos. Dicha enfermedad causa afectaciones en el área foliar, lo cual es causante de un retraso sobre el crecimiento y una afectación sobre el tamaño del bulbo. Las pérdidas de rendimiento varían según el momento de la infección, condiciones climáticas y susceptibilidad de los cultivares; reducciones de rendimiento del 20% o más son comunes. La infección de esta enfermedad en zonas tropicales y ambientes subtropicales pueden causar pérdidas totales de cultivos (Álvarez *et al.*, 1978).

Morfología

La bacteria presenta forma bacilar, Gram-negativa, mótil (con un flagelo polar), no esporulada, es una bacteria estrictamente aeróbica y quimio-organoheterótrofa. Produce pigmento amarillo característico (xanthomonadina) y polisacárido extracelular. Algunas cepas producen pigmentos pardos, tipo melanina, en medios de cultivo con tirosina (López, 2003).

Sintomatología

Los síntomas pueden aparecer en cualquier etapa del desarrollo del cultivo, siendo su principal característica las lesiones blandas de forma irregular, manchas amarillentas o manchas con apariencia acuosa. Las lesiones aumentan rápidamente de tamaño, se tornan de color bronceado a marrón y pueden extenderse a lo largo de toda la hoja. Cuando las condiciones climáticas se vuelven cálidas y secas, las hojas se marchitan y se vuelven quebradizas, pero conservan su color canela a marrón. Bajo un desarrollo favorable con temperaturas que oscilan entre los 16°-20°C y con una humedad relativa alta, todas las hojas pueden arruinarse por completo, lo que induce a una senescencia prematura de las plantas (Samson *et al.*, 2005).

Pudrición blanda por *Pectobacterium carotovorum*

Se sabe que varias bacterias causan la pudrición blanda de las hojas de cebolla y afectan la parte interna de los bulbos tanto en el campo como en el almacenamiento. En estas se incluyen especies de los géneros *Pectobacterium*, *Dickeya*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Bacillus* y *Escherichia*; se ha encontrado que están asociadas con bulbos de cebolla podridos o como parte de la microflora endofítica residente de la cebolla asintomática, que pueden convertirse en patógenos oportunistas bajo ciertas condiciones ambientales o de almacenamiento, prácticas de cosecha, condiciones físicas o fisiológicas (Samson *et al.*, 2005). Cabe recalcar que cepas del género *Pseudomonas* spp. y *Dickeya* spp. han sido reclasificadas e integradas a los géneros *Burkholderia* (Yabuuchi *et al.* 1992) y *Pantoea* (Gavini *et al.* 1989).

La enfermedad que se desarrolla en el campo bajo un clima cálido; el patógeno se puede adherir fácilmente a las plantas a partir de los residuos de plantas infectadas que se mantienen en el suelo. *Pectobacterium carotovorum* tiene un rango de huéspedes relativamente estrecho, pero está ampliamente distribuida en regiones templadas y tropicales del mundo (Mark *et al.*, 2002).

Taxonomía de (*Pectobacterium carotovorum*)

A continuación, se muestra la clasificación taxonómica por Bernner & Farmer (2005).

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Pectobacterium*

Especie: *P. carotovorum*

Morfología

Las células bacterianas de *Pectobacterium carotovorum* son de forma bacilar de 0.5-1.0 x 1.0-3.0 μm , con los extremos redondeados, es una bacteria Gram negativa, sus colonias muestran elevación convexa y son de color blanco cremoso (Figura 1), anaeróbica facultativa y móvil por flagelos periticos (Hauben *et al.*, 2005).

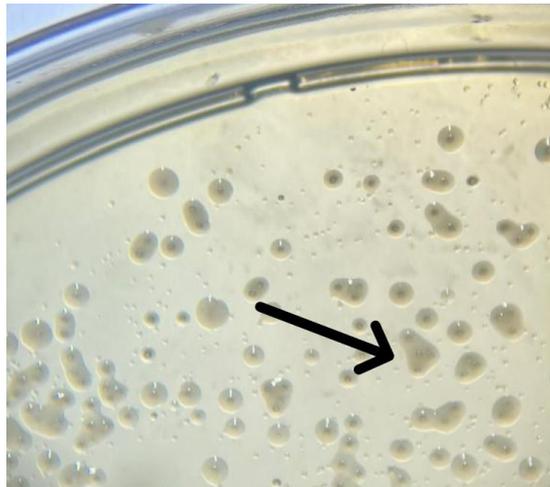


Figura 1. Morfología colonial de *Pectobacterium carotovorum*.

La flecha de color negro indica el crecimiento de *Pectobacterium carotovorum*

Su pared celular cuenta con una capa externa de lipopolisacárido (LPS) que contiene, dentro del polisacárido O, azúcares como la ramnosa, fucosa, glucosa y metilramnosa, se conoce que algunas estructuras celulares están involucradas en etapas tempranas de la infección y que contribuyen a su virulencia como lo son los pílilis; los flagelos están constituidos por capas de exopolisacáridos y las porinas, que son proteínas de canal que permiten la difusión pasiva de moléculas a través de la membrana (Berne *et al.*, 2015).

Sintomatología

Se presenta un blanqueamiento de las hojas y marchitamiento que puede causar pudrición del bulbo en el campo o durante el almacenamiento. La podredumbre suele iniciarse en el tejido del cuello y se extiende al bulbo. Los tejidos aparecen húmedos y de color amarillo claro a marrón, se reblandecen a medida que la pudrición progresa (Figura 2 A). Todo el interior del bulbo puede descomponerse y un líquido viscoso con olor sucio se desprende. (Schwartz & Mohan 2008).

El follaje se torna húmedo y amarillo pálido a marrón y se ablanda a medida que la pudrición progresa sobre el tejido interior del bulbo produce una exudación acuosa, mal oliente (Figura 2 B) (Hattingh, 1981).



Figura 2. Sintomatología de *Pectobacterium carotovorum*.

A) Pudrición en bulbo por *P. carotovorum*, **B)** Tizón en follaje de cebollas infectadas por *P. carotovorum*. Fotografías propias.

Epidemiología

P. carotovorum tiene como principales fuentes de inóculo los residuos de plantas infestadas, el suelo contaminado y el agua de riego. La diseminación de la bacteria puede ser por las salpicaduras de lluvia, e insectos plaga son capaces de propagar patógenos bacterianos (Snowdon, 2010).

Las bacterias entran en el bulbo también a través de las hojas y los tejidos del cuello de las plantas, a través de lesiones mecánicas o tejido dañado por insectos defoliadores (Snowdon, 2010). Es capaz de persistir en el tracto intestinal de larvas del gusano de la cebolla y moscas adultas, que puede propagar el patógeno de una planta a otra hasta tener brote de la infección (Wright, 1993).

Las aplicaciones tardías de fertilización con nitrógeno en la temporada de crecimiento tienden a aumentar la incidencia de pudrición blanda. Así mismo, se conoce que las lesiones por quemaduras solares son particularmente susceptibles a dicha enfermedad, especialmente si se mantienen en un lugar cálido (20-30°C) y condiciones húmedas. También se ha observado que la infección continúa su desarrollo si la temperatura durante el almacenamiento o el transporte del bulbo son superiores a 3 °C (Wright, 1993).

Piel agria de la cebolla causada por *Burkholderia cepacia* y *B. cenocepacia*

Burkholderia sp anteriormente (*Pseudomonas cepacia*) fue descrita por primera vez por W. H. Burkholder en 1950 como el fitopatógeno responsable de causar una enfermedad bacteriana que pudre la cebolla denominada “piel agria” (Burkholder, 1950).

Son muchos los cultivos de importancia antropogénica infestados por diferentes especies de *Burkholderia*. Desde el reporte de Burkholder en 1950, hasta inicios del siglo XXI, se han incrementado los reportes de enfermedades en plantas debidas a este controversial género bacteriano (Jacobs *et al.*, 2008).

La distribución de las cepas de *B. cepacia* y *B. cenocepacia* se encuentra presente en rizosferas de varios cultivos de importancia agrícola como lo son el maíz, el trigo

y la cebolla, el suelo de bosques y el agua de los ríos también son parte de su hábitat natural. Múltiples especies del complejo *B. cepacia* colonizan la rizosfera de la cebolla y tienen el potencial de causar la enfermedad de la piel agria de la cebolla. Además, la rizosfera de la cebolla es un hábitat natural y ambiente adecuado donde *B. cenocepacia* puede desarrollarse simultáneamente con el cultivo (Ramette *et al.*, 2005).

La presencia del complejo *B. cepacia* es común en el suelo, se han caracterizaron 1,290 aislamientos de *Burkholderia* en parcelas de cebolla (980 de la rizosfera y 310 de suelo), de los cuales 160 correspondieron a *B. cepacia*, 480 a *B. cenocepacia*, 623 a *B. ambifaria* y 27 a *B. pyrrocinia*. La mayoría de los aislamientos de *B. cepacia* (85%), *B. cenocepacia* (90%) y *B. ambifaria* (76%) resultaron ser patogénicos cuando se inocularon en bulbos de cebolla (Jacobs *et al.*, 2008).

Taxonomía de (*Burkholderia cepacia* y *B. cenocepacia*)

A continuación, se muestra la clasificación taxonómica por Yabuuchi *et al.* (1993).

Phylum: Proteobacteria

Clase: Betaproteobacteria

Orden: Burkholderiales

Familia: Burkholderiaceae

Género: *Burkholderia*

Especie: *B. cepacia*

Morfología

El género *Burkholderia* son bacterias con forma de bacilo, Gram negativos, no formadores de esporas, se mueven mediante uno o varios flagelos polares (dependiendo de la especie). Los individuos que pertenecen al género *Burkholderia*, son aerobios, oxidasa y catalasa positivas, mesófilos y sintetizan polihidroxitratato como material de reserva (Garrity *et al.*, 2006).

Su tamaño varía entre 1 a 5 µm de longitud y 0.5 a 1.0 µm de ancho. Normalmente las colonias de se pueden percibir a simple vista a las 24h de incubación, aunque

en algunos casos es necesario esperar hasta el tercer día, las colonias son lisas, ligeramente elevadas y pueden tener un aspecto mucoso. Crece en el rango de 30-37° C, aunque algunas cepas pueden tener un crecimiento óptimo a 42°C. La mayoría de los aislados no son pigmentados, pero en presencia de un medio que contenga hierro pueden producir un pigmento amarillo brillante (Figura 3). Los aislados de este complejo también se caracterizan por producir un olor muy característico (Li *et al.*, 2011).

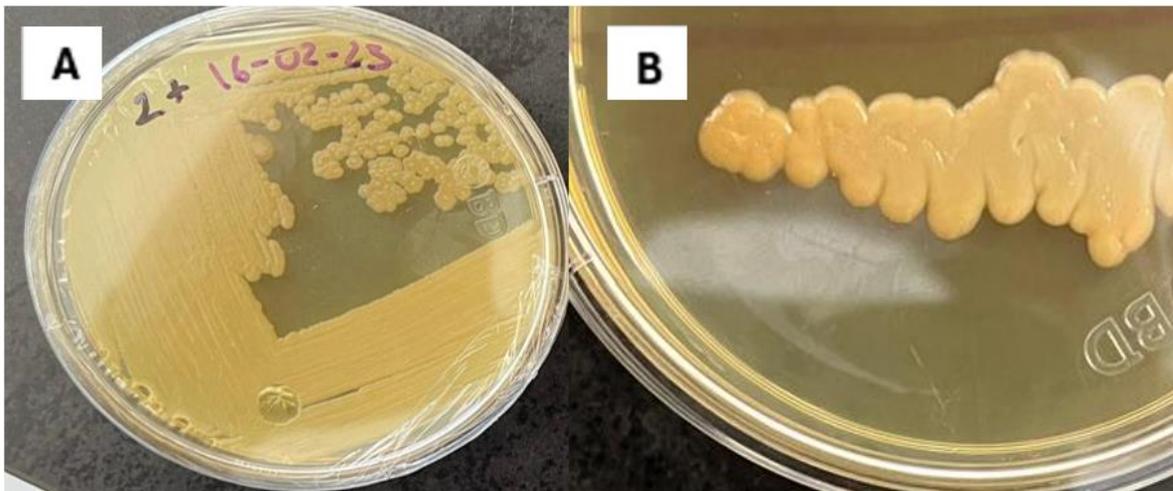


Figura 3. Crecimiento de colonias de Burkholderia cepacia.

A) Crecimiento colonial obtenido del aislamiento B) Desarrollo de colonia purificada. Fotografías propias.

Sintomatología

La enfermedad conocida como piel agria se caracteriza por mostrar síntomas de color amarillo pálido a marrón claro en las catáfilas externas de los bulbos (Figura 4A), presentándose el centro del bulbo firme (Figura 4B). La zona del cuello se ablanda luego de que caen las hojas. La infección ocurre por heridas provocadas por lluvias, y puede entrar cuando el follaje cae por la madurez y se cortan las hojas (Schwartz & Mohan, 2008).



Figura 4. Sintomatología de *Burkholderia cepacia*.

A) Bulbo afectado externamente por *B. cepacia*, **B)** Bulbo infectado por *B. cepacia* conservando su rigidez en el centro. Fotografías propias.

Epidemiología

Burkholderia es un género bifuncional debido a que algunas de sus especies establecen relaciones simbiótico-mutualistas con las plantas, mientras que otras establecen asociaciones simbiótico-patogénicas con plantas. La versatilidad nutricional es una característica sobresaliente de este grupo bacteriano ya que puede encontrarse viviendo como biótrofo o como saprófito (Caballero-Mellado *et al.*, 2004).

La dispersión de la bacteria principalmente se da por salpicadura, por arrastre del viento y por contacto en las cuales la enfermedad se desarrolla entre 30-35 °C, especialmente por la noche, cuando se presentan precipitaciones frecuentes (Ham *et al.*, 2010). Las salpicaduras de agua de lluvia o riego por aspersión diseminan el inóculo bacteriano desde el suelo hasta los cuellos de las plantas de cebolla y juegan un papel clave en el nivel de incidencia de la enfermedad (Teviotdale *et al.*, 1989).

Estrategias de Control

Control biológico

Los productos químicos aplicados en el campo pueden tener una eficacia limitada para prevenir la pudrición bacteriana del bulbo. Dada la preocupación por el desarrollo de patógenos bacterianos resistentes al cobre en los cultivos de cebolla y la eficacia mixta de otros productos, se han investigado opciones de control biológico como alternativas para prevenir las enfermedades bacterianas de la cebolla (Toit *et al.*, 2021).

Se han evaluado múltiples cepas bacterianas no fitopatógenas como agentes de control biológico; por ejemplo, *Pseudomonas marginalis*, *P. viridiflava*, *P. ananatis* y *Xanthomonas retroflexus* en temperaturas bajas que eran ideales para aplicarse durante el almacenamiento postcosecha de cebollas y así reducir significativamente la enfermedad, sin embargo la capacidad de estos organismos para suprimir la enfermedad bacteriana de la cebolla disminuyó a temperaturas >25°C, lo que genera que la bacteria puede ser ineficiente en infecciones bacterianas en el campo (Sadik *et al.*, 2015).

Los actinomicetos han sido de gran relevancia siendo los procariotas más valiosos económica y biotecnológicamente. Son los encargados de la producción de aproximadamente la mitad del metabolismo secundario bioactivo. En estudios pasados se aislaron 45 cepas de actinomicetos de suelos egipcios y las analizaron para determinar su efecto antagónico contra los patógenos de la pudrición bacteriana de la cebolla siendo las siguientes bacterias las principales causantes de dicha enfermedad; *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Burkholderia cepacia*. Las cepas más activas se identificaron en función de sus propiedades culturales, morfológicas y moleculares como *Streptomyces lavendulae* y *Streptomyces coelicolor*; este último colocándose como el más potente y, por lo tanto, se utilizó para controlar la pudrición bacteriana de la cebolla. La aplicación de *S. coelicolor* también se caracterizó por mostrar un vigor en las plantas muy notorio después de

su aplicación, lo que confirma un efecto promotor del crecimiento (Abdalla *et al.*, 2013)

Los agentes de biocontrol fúngico que se mencionan en seguida; *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. virens*, y los agentes de biocontrol bacterianos como lo son; *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *B. megaterium* tienen una capacidad significativa de controlar *P. carotovorum subsp. carotovorum* que causan la enfermedad de podredumbre blanda en cebolla (Abd-El-Khair *et al.*, 2021).

Control cultural

Se han realizado muchas investigaciones sobre los impactos de las prácticas de manejo cultural en las enfermedades bacterianas de la cebolla, incluidos estudios sobre manejo del riego, manejo de nutrientes, desmoche, levantamiento, curado y rotación de cultivos (Belo *et al.*, 2023).

Riego por goteo

El riego por goteo o por surcos puede reducir la pudrición de los bulbos en comparación con el riego por aspersion en climas áridos, semiáridos o mediterráneos, pero puede tener un impacto menor en climas húmedos o en temporadas de crecimiento más húmedas (Chorloque *et al.*, 2018). Siendo de gran importancia este proceso durante el cultivo debido a lo mencionado anteriormente que la bacteria tiene un mayor potencial de diseminación por medio de la lluvia y el agua de riego.

Manejo de nutrientes

La incidencia de la pudrición bacteriana de los bulbos aumentó con las tasas de aplicación de nitrógeno; el alto contenido de nitrógeno residual y el alto contenido de materia orgánica que conduce a la mineralización de nitrógeno. Lo cual durante o después del inicio del llenado del bulbo puede aumentar la incidencia y pudrición bacteriana del bulbo (Silva *et al.*, 2021).

Prácticas de cosecha

El corte puede reducir la incidencia de la pudrición bacteriana de los bulbos si los cuellos no están demasiado húmedos al corte. El corte mecánico puede reducir la

podrición bacteriana de los bulbos en comparación con el corte manual debido a la mayor variación en las longitudes de los cuellos con el corte manual. El corte de cuellos demasiado cortos (<5 cm) aumenta las pudriciones bacterianas de los bulbos en comparación con el corte de cuellos más largos (7,5 a 12,5 cm) (Toit *et al.*, 2021).

Rotación de cultivos

Es poco probable que la rotación de cultivos reduzca significativamente las pudriciones bacterianas de los bulbos, ya que muchos patógenos bacterianos de la cebolla pueden sobrevivir en las malezas o en cultivos rotativos como alternativa huéspedes (Dutta & Tyson, 2021). El manejo de malezas en cultivos de bulbos de cebolla puede mejorar el movimiento del aire y acelerar el secado del follaje después de las lluvias o los riegos sin embargo las malezas también pueden servir como huéspedes alternativos para algunos patógenos bacterianos de la cebolla (Dutta *et al.*, 2017).

Control químico

Una importante contribución a la comprensión del control químico de los patógenos de las plantas se remonta a 1885 cuando la mezcla bordelesa, que consistía en sulfato de cobre y cal, contrarrestó importantes pérdidas económicas en cultivos de vid (Millardet, 1933).

Los bactericidas a base de cobre (Cu) siguen siendo los productos de control químico más utilizados para enfermedades bacterianas, incluso en cultivos de cebolla. Dado que los productos a base de cobre solo funcionan de manera preventiva, deben aplicarse lo suficientemente temprano y con frecuencia, lo que puede generar altos niveles de Cu en el suelo (Brewster, 2008).

El exceso de Cu en las plantas, en particular a altas temperaturas, o en el suelo puede causar fitotoxicidad y posibles reducciones de rendimiento en varios cultivos, Además, las bacterias pueden volverse tolerantes al Cu utilizado regularmente para el control químico (Belo *et al.*, 2023).

El activador vegetal acibenzolar S-metilo brinda protección contra el tizón de la hoja causada por *Xanthomonas* y podía usarse junto con un tratamiento de biocontrol. Sin embargo, las aplicaciones semanales prolongadas de acibenzolar S-metil redujeron el rendimiento de la cebolla entre un 22- 27 % cuando no se presentaron registros de incidencia de la enfermedad (Gent & Schwartz, 2005). La tabla 4, muestra un listado de los bactericidas usados en el control de la pudrición blanda en cebollas.

Tabla 4. Bactericidas implementados en el control de Pudriciones en cebolla

Grupo Químico	I.A.
Aminoglucósido	Tetraciclina
Aminoglucósido	Sulfato de Gentamicina
Aminoglucósido	Clorhidrato de Oxitetraciclina
Aminoglucósido	Kasugamicina
Aminoglucósido	Sulfato de kanamicina
Bacteriostático	Oxitetraciclina
Bacteriostático	Sulfato de estreptomicina
Fungicida y bactericida	Sulfato de Cobre pentahidratado

Fuente: Blanco-Meneses et al., 2023.

METODOLOGÍA

Muestreo

Las plantas fueron colectadas en enero del 2024 en Tepalcingo, Morelos, México; las plantas presentaban la sintomatología característica de la enfermedad conocida como pudrición blanda, un blanqueamiento de las hojas y marchitamiento que puede causar pudrición del bulbo, también la aparición de tejidos que se tornan húmedos y de color amarillo claro a marrón y se reblandecen a medida que la pudrición progresa. La muestra fue cubierta con papel mantener la humedad en bolsas de plástico para posteriormente se trasladarán al laboratorio de fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Aislamiento y purificación

Se seccionaron las partes con síntomas de infección de los bulbos infectados, donde se realizó un corte de tejido sobre la parte enferma; para posteriormente realizar un macerado de los tejidos para así tener una mezcla homogénea de los tejidos seleccionados, se realizaron disoluciones seriadas para así reducir la concentración de microorganismos en una muestra. Se realizan en una secuencia de volúmenes estándar, utilizando como diluyente estéril como agua destilada. El macerado fue transferido por estría cruzada a cajas Petri con medio de cultivo agar B de King (Milipore®) y agar nutritivo (BD BIOXON®) para posteriormente incubar las cajas petri a temperatura constante de 28 °C durante 24-48 horas. Se seleccionaron las colonias de interés individualmente bajo un estereoscópico, colonias de color blanco-crema y colonias de color amarillo brillante; para posteriormente ser sembradas en agar B de King, se mantuvieron a las temperaturas antes mencionadas.

Identificación

Para la identificación se realizaron las pruebas bioquímicas y morfológicas (Tinción de Gram, tinción de flagelos, color, elevación, tamaño, consistencia, oxidasas, catalasa, oxido/fermentación, arginina, KOH, peroxidasa, LOPAT, hidrolisis de almidón, crecimiento a 40° c, crecimiento a 36° c, crecimiento 5% de NaCl) necesarias para la identificación de las bacterias *P. carotovorum* y *B. cepacia* (Goszczyńska *et al.*, 2000; Schaad *et al.*, 2001; Rodríguez, 2006).

Producción de inóculo

Se preparó caldo nutritivo peptona de gelatina y extracto de levadura (MCD LAB); en un matraz se colocaron 8 gr del polvo en un litro de agua destilada y calentando en agitación constante hasta disolverse, posteriormente fue esterilizando en el autoclave a 120° C durante 20 minutos; una vez que el agar se enfría se incorporó la muestra directamente con la ayuda de la asa bacteriológica, enseguida el matraz fue colocado en agitación constante durante siete días a 150 rpm, para posteriormente ajustar la concentración a una concentración de 1×10^8 UFC/mL.

Evaluación *in vitro* de la efectividad biológica de bactericidas (técnica de microplaca) en el control de *P. carotovorum* y *B. cepacia*.

La metodología utilizada fue mediante la técnica de microdilución en placa, adaptada de las técnicas propuestas por Masoko *et al.*, (2005) y Gabrielson *et al.*, (2002). Los productos para evaluar fueron los siguientes: TerraCu 5 %® (Oxitetraciclina) PROGRANIC Mega® (Extracto de gobernadora), Kasumin® (Kasugamicina), Actigar® (Acibenzolar S-metil), ácido salicílico (Sigma-Aldrich®), DELTA AZUL® (Sulfato de Cobre pentahidratado), VACCIPLANT® (Laminarina), Kaxtoli® (Sulfato de kanamicina), en placas de 96 pozos.

En las placas de 96 pozos se agregó 100 µL de caldo nutritivo a cada cavidad de la microplaca. Se preparó una solución de cada tratamiento a una concentración de 2000 mg/L, usando como solvente agua; posteriormente se colocaron 100 µL de las preparaciones a 2000 mg/L a partir de la columna cuatro, se mezclaron y se volvió

a tomar 100 μL , y se transfirieron a la columna cinco; así sucesivamente realizando diluciones seriadas al 50 % hasta la columna 12. teniendo como resultado concentraciones de 1500 mg/L, 750 mg/L, 375 mg/L, 187.5 mg/L, 93.75 mg/L, 46.875 mg/L, 23.437 mg/L, 11.718 mg/L y 5.859 mg/L. A continuación, se agregó 40 μL de agente revelador de crecimiento a todos los pozos. Finalmente, de la columna dos a la doce se agregó 10 μL de la caldo bacteriano a 1×10^8 UFC/mL.

Las microplacas se incubaron por 24 horas y se realizó una lectura de absorbancia a 490 nm en un espectro fotómetro Multiskan Go (Thermo Scientific). Considerando como crecimiento positivo a los tratamientos donde el pozo presentó un color rosado, además de sus respectivos valores de absorbancia.

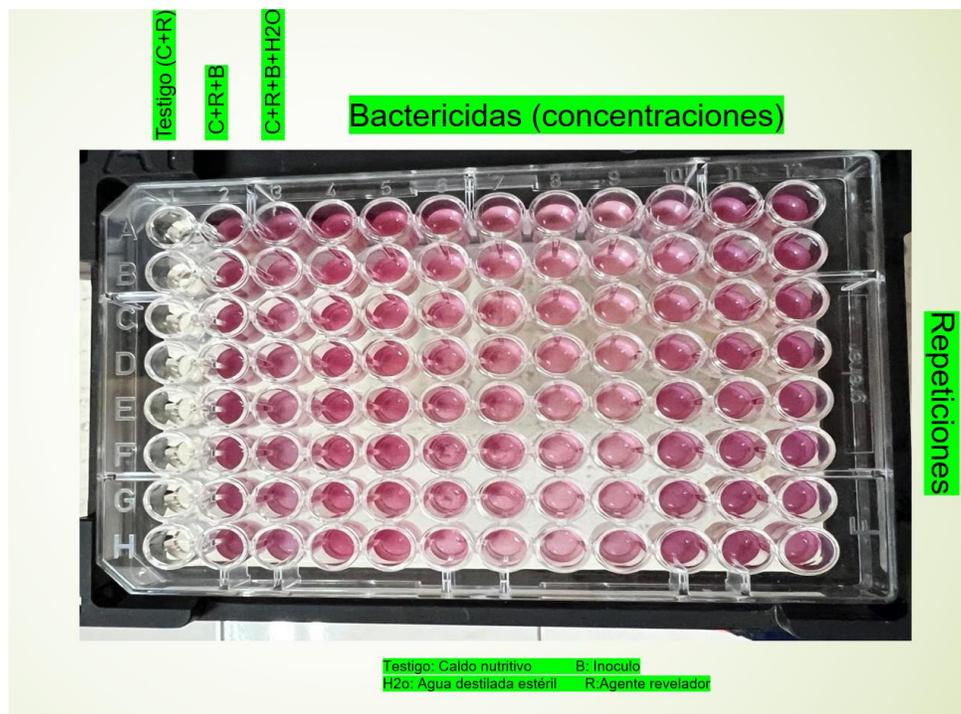


Figura 5. Evaluación de bactericidas por medio de la técnica de microplaca

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación. La tabla 5, muestra los resultados de la caracterización morfológica y bioquímica de *P. carotovorum* y *B. cepacia*; lo anterior concuerda con lo reportado por Goszczyńska *et al.*, (2000); Schaad *et al.*, (2001) y Rodríguez, (2006).

Tabla 5. Caracterizaciones morfológicas y bioquímicas de *P. carotovorum* y *B. cepacia*

Prueba bioquímica	<i>P. carotovorum</i>	<i>B. cepacia</i>
Tinción de Gram	-	-
Tinción de flagelos	Peritricos	> 1
Color	Blanco-crema	Amarillo
Elevación	Convexa	Ligeramente elevadas
Tamaño	Pequeñas	
Consistencia	Mucoide	Mucoide
Oxidasas	-	+
Catalasa	+	+
Oxido/fermentación	Anaeróbica facultativa	Aerobios
Arginina	NR	-
KOH	+	+
Peroxidasa	+	+
Hidrolisis de almidón	+	-
Crecimiento a 40° C	NR	V
Crecimiento a 36° C	+	+
Crecimiento 5% de NaCl	+	NR

Evaluación *in vitro* de los bactericidas en *P. carotovorum*. La tabla 6, muestra los rangos de inhibición de crecimiento de *P. carotovorum* al ser expuesta los bactericidas e inductores de resistencia, donde el rango de inhibición oscila entre 2.157 – 97.99 %; siendo los ingredientes activos oxitetraciclina, kasugamicina, ácido salicílico, sulfato de cobre pentahidratado y sulfato de kanamicina los que alcanzaron al menos un 80 % de inhibición en la bacteria. El antibiótico kasugamicina mostró un rango de inhibición de 3.027 – 87.687 %, donde las concentraciones de 1500, 750 y 375 ppm arrojaron inhibiciones del 87.687, 79.750 y 70.283, sin mostrar diferencia significativa ($p > 0.0001$). El ácido salicílico mostró un rango de inhibición de 3.420-97.999%, donde la concentración de 1500 ppm arrojó una inhibición del 97.999 % ($p > 0.0001$). Mientras, el sulfato de cobre pentahidratado mostro un rango de inhibición de 2.153-86.319, donde la concentración con mayor eficiencia en la inhibición fue 1500 ppm (86.319 % de inhibición, $p > 0.0001$).

Kim *et al.* (2022), evaluaron el efecto inhibitorio de la kasugamicina en cepas silvestres de *Erwinia amylovora* a concentraciones de 0.5 a 256 ppm, obteniendo un 100% de la inhibición a concentraciones a partir de 24 ppm; siendo lo antes mencionado superiores a lo obtenido en esta investigación. Arif *et al.* (2023), Evaluaron la kasugamicina en *Dickeya dadantii*, siendo esta bacteria un agente causal de la pudrición blanda de la cebolla en Pakistán, mostrando inhibiciones del 1.9 al 4.8% a concentraciones de 100-200 ppm; cabe resaltar que este resultado es inferior a lo obtenido a esta investigación.

Ntushelo (2017), evaluó el crecimiento de *Pectobacterium carotovorum* en medios suplementados con concentraciones de 100, 200, 400, 800 y 1200 ppm de ácido salicílico; donde realizando conteos a las 24 horas, las cuales a 800 y 1200 ppm tuvo el 100% de la inhibición.

Mills *et al.* (2006) utilizaron el sulfato de cobre pentahidratado en cepas de *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* en concentraciones de 499.36 - 49,936 ppm, teniendo como resultado un 100% de inhibición sobre *Erwinia carotovora*, cabe mencionar

que en esta investigación se obtuvo un control similar al reportado por Mills *et al.* (2006); cabe señalar que la concentración más elevada fue 33.33 veces inferior a la implementada por los autores antes mencionado.

Tabla 6. Inhibición *in vitro* de *P. carotovorum* por bactericidas

Concentración	Inhibición del crecimiento ± desviación estándar							
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
1500	82.624±7.968a	56.287±3.494a	87.678±0.952 ^a	28.863±2.859a	97.999±0.715a	86.319±4.370a	57.737±4.334a	81.809±4.150a
750	79.023±8.618a	38.410±3.630b	79.750±4.891 ^a	27.505±3.319ab	28.420±7.951b	71.765±4.162b	56.487±2.850a	79.858±1.702a
375	68.348±15.091ab	9.265±2.040c	70.283±11.707ab	26.445±5.500ab	9.120±1.651c	70.723±10.418b	49.960±5.910ab	77.270±3.787a
187.5	53.875±11.064b	7.093±5.314cd	51.789±29.770b	25.840±8.138abc	8.358±2.590c	57.417±8.919c	38.941±10.752bc	73.272±1.579a
93.75	29.629±12.140c	4.510±2.690cd	22.403±13.644c	25.122±4.980abc	7.869±3.201c	26.445±6.272d	31.508±11.982cd	71.000±5.564a
46.875	27.839±11.661c	4.221±3.547cd	9.664±8.864c	19.140±6.439bc	6.460±2.111c	5.170±2.537e	20.551±8.497de	55.492±17.560b
23.4375	21.175±13.260c	3.302±0.692d	7.350±3.899c	17.744±3.243cd	6.057±2.912c	3.387±1.028e	15.453±6.570e	34.370±5.993c
11.71875	14.640±10.064c	3.165±2.087d	3.307±1.483c	9.957±5.879d	5.629±5.360c	2.340±1.474e	12.624±9.080e	31.459±10.810c
5.8593	14.239±3.502c	3.028±0.854d	3.029±1.230c	9.783±5.182d	3.420±1.908c	2.153±2.817e	10.525±1.839e	29.683±10.382c
p-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Las medias en la misma columna seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey $\alpha=0.05$). **P1:** Oxitetraciclina, **P2:** extracto de gobernadora, **P3:** Kasugamicina, **P4:** Acibenzolar-s-metil, **P5:** ácido salicílico, **P6:** sulfato de cobre pentahidratado, **P7:** laminarina y **P8:** Sulfato de kanamicina.

Tabla 7. Inhibición *in vitro* de *B. cepacia* por bactericidas

Concentración	Inhibición del crecimiento \pm desviación estándar							
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
1500	47.888 \pm 16.999a	56.813 \pm 5.149a	95.930 \pm 0.579a	64.802 \pm 2.731a	98.140 \pm 0.508a	90.847 \pm 1.314a	72.324 \pm 5.660a	93.545 \pm 1.360a
750	36.638 \pm 17.183ab	50.314 \pm 7.203a	95.210 \pm 0.689a	51.820 \pm 1.848b	48.070 \pm 13.680b	66.720 \pm 5.393b	68.948 \pm 3.891a	91.807 \pm 1.732a
375	36.113 \pm 7.290ab	30.233 \pm 7.455b	95.773 \pm 0.743a	50.065 \pm 1.345b	42.543 \pm 15.757cb	59.771 \pm 3.483b	68.891 \pm 9.004a	91.022 \pm 1.734a
187.5	29.340 \pm 11.018b	28.767 \pm 5.961b	94.667 \pm 0.439a	47.100 \pm 10.765b	40.423 \pm 7.205cb	42.265 \pm 15.921b	64.435 \pm 10.756ab	91.258 \pm 0.584a
93.75	27.415 \pm 9.323bc	27.970 \pm 8.072b	86.732 \pm 9.555a	47.453 \pm 11.667b	36.280 \pm 7.839cbd	24.726 \pm 19.860c	61.548 \pm 9.085ab	91.262 \pm 0.994a
46.875	25.323 \pm 8.710bc	25.917 \pm 7.914b	58.820 \pm 8.757b	40.950 \pm 6.474b	33.760 \pm 6.554cd	24.471 \pm 14.384de	60.065 \pm 7.094ab	91.368 \pm 1.112a
23.44	25.323 \pm 8.710bc	22.920 \pm 12.484b	41.370 \pm 6.398c	40.077 \pm 5.935cb	24.941 \pm 1.949d	10.125 \pm 5.763de	59.080 \pm 7.605ab	87.642 \pm 4.157a
11.72	11.340 \pm 7.512cd	22.635 \pm 9.280b	14.935 \pm 7.493d	33.449 \pm 9.509cd	23.560 \pm 3.117d	9.231 \pm 9.245de	55.291 \pm 7.633b	56.849 \pm 11.177b
5.8593	5.841 \pm 3.342d	20.130 \pm 10.152b	11.464 \pm 7.812d	25.508 \pm 11.899d	23.143 \pm 3.185d	7.355 \pm 6.017e	36.444 \pm 11.077c	41.397 \pm 10.080c
p-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Las medias en la misma columna seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey $\alpha=0.05$). **P1:** Oxitetraciclina, **B2:** extracto de gobernadora, **B3:** Kasugamicina, **B4:** Acibenzolar-s-metil, **B5:** ácido salicílico, **B6:** sulfato de cobre pentahidratado, **B7:** laminarina y **B8:** Sulfato de kanamicina.

Evaluación *in vitro* de los bactericidas en *B. cepacia*. La tabla 7 muestra los rangos de inhibición de crecimiento de *B. cepacia* al ser expuesta a los bactericidas e inductores de resistencia, donde el rango de inhibición oscila entre 5.841 – 98.14 %; siendo los ingredientes activos kasugamicina, ácido salicílico, sulfato de cobre pentahidratado y sulfato de kanamicina los que alcanzaron al menos un 80 % de inhibición en la bacteria. El antibiótico kasugamicina mostró un rango de inhibición de 11.464 – 95.93%, donde las concentraciones de 93.75 - 1500 ppm arrojaron inhibiciones del 86.732 - 95.93, sin mostrar diferencia significativa ($p > 0.0001$). El ácido salicílico mostró un rango de inhibición de 23.143 - 98.140%, donde la concentración de 1500 ppm arrojó la mayor inhibición de 98.14% ($p > 0.0001$). El sulfato de cobre pentahidratado mostro un rango de inhibición de 7.355-90.847%, donde la concentración de 1500 ppm fue la más efectiva con 90.847 % de inhibición ($p > 0.0001$). Y por último el sulfato de kanamicina mostro un rango de inhibición de 41.397-93.545% donde las concentraciones de 23.44 a 1500 ppm arrojaron inhibiciones de 87.642 - 93.545% ($p > 0.0001$).

Waitz *et al.* (1972) utilizaron el sulfato de kanamicina en cepas de *Pseudomonas* sp. a concentraciones de 64 ppm, teniendo como resultado un 95% de inhibición de crecimiento bacteriano, en esta investigación se obtuvo un control similar al reportado por Waitz *et al.* (2006); donde se obtuvieron porcentajes de inhibición en el rango de 93.5-91.3 % en concentraciones de 41.87-1500 ppm.

Gomah (2008), realizó evaluaciones con el sulfato de cobre pentahidratado en cepas de *Pseudomonas* sp., en las cuales utilizó concentraciones de 1500 ppm obteniendo como resultado un porcentaje del 33.40% de inhibición bacteriana; siendo comparada con los datos obtenidos en esta investigación, en los cuales a 1500 ppm obtuvieron un porcentaje de 90.48% de inhibición sobre el crecimiento bacteriano de *B. cepacia*, porcentaje que es 2.7 veces superior al repostado por Gomah (2008).

En la tabla 8, podemos observar las concentraciones letales medias obtenidas para cada uno de los antibióticos en cada una de las especies evaluadas (*P. carotovorum* y *B. cepacia*); donde podemos destacar que los ingredientes activos con mayor efectividad en *B. cepacia* fueron kasugamicina, acibenzolar, ácido salicílico, sulfato de cobre pentahidratado, laminarina y el sulfato de kanamicina; cabe señalar que los que mostraron la menor CL₅₀ fueron kasugamicina, laminarina y el sulfato de sulfato de kanamicina, siendo que la laminarina solo obtuvo un 72.324 % de inhibición del crecimiento bacteriano. Así mismo, podemos observar que en las evaluaciones en *P. carotovorum*, los ingredientes activos de oxitetraciclina, kasugamicina, ácido salicílico, sulfato de cobre pentahidratado, la laminarina y el sulfato de kanamicina obtuvieron una CL₅₀ menor a 1000 ppm; destacando la CL₅₀ de sulfato de kanamicina con 38.836 ppm.

Tabla 8. Concentración letal media de los bactericidas evaluados en *Pectobacterium carotovorum* y *Burkholderia cepacia*.

<i>Burkholderia</i> sp.					
Tratamiento (i.a.)	CL ₅₀	Limites fiduciales		Ec. predicción	R ² *
		Inferior	Superior		
Oxitetraciclina	2088	1062	5924	y = -1.6124+0.4857x	0.6572
E. Gobernadora	1730	805.323	6113	y = -1.2680+0.3916x	0.9167
Kasugamicina	33.369	18.596	54.503	y = -2.3731+1.5578x	0.3407
Acibenzolar	242.722	137.196	525.407	y = -0.8150+0.3417x	0.7031
Ácido salicílico	227.466	71.678	2344	y = -1.4884+0.6315x	0.9333
Cobre	233.138	148.439	402.718	y = -2.5890+1.0935x	0.8435
Laminarina	11.222	2.836	24.443	y = -0.3199+0.3047x	0.4005
S. Kanamicina	3.477	0.060	12.318	y = -0.3960+0.7317x	0.1698
<i>Pectobacterium</i> sp.					
Oxitetraciclina	153.670	108.463	224.738	y = -2.0821+0.9522x	0.7111
E. Gobernadora	2265	746.817	87572	y = -3.2765+0.9766x	0.9566
Kasugamicina	215.990	165.604	287.068	y = -3.5173+1.5067x	0.7131
Acibenzolar	47905	7759	3040602	y = -1.4235+0.3041x	0.4214
Ácido salicílico	983.045	296.042	544331	y = -3.4664+1.1583x	0.9204
Cobre	234.773	164.428	346.636	y = -3.6748+1.5501x	0.6702
Laminarina	529.057	371.635	824.252	y = -1.8642+0.6845x	0.6630
S. Kanamicina	38.836	21.513	62.452	y = -1.1226+0.7064x	0.4365

Cabe destacar que para la kasugamicina se han reportado concentraciones mínimas inhibitorias para *Pseudomonas* spp. mayores 500 ppm (Levitan, 1967); la cual es una concentración 14.98 y 2.3 veces mayor a las obtenidas en esta investigación para *B. cepacia* y *P. carotovorum*. Hayashi *et al.*, (2000) reportan una concentración mínima inhibitoria para *B. cepacia* mayor a 512 ppm; la cual es una concentración 144.1 y 12.9 veces mayor a las obtenidas en esta investigación para *B. cepacia* y *P. carotovorum*. Oliveira (2012) menciona que obtuvo una concentración mínima inhibitoria de 1650 ppm para *B. cepacia* con el sulfato de kanamicina, mientras que en esta investigación la CL₅₀ obtenida por el sulfato de kanamicina fue 475.5 y 42.48 *B. cepacia* (3.48 ppm) y *P. carotovorum* (38.84 ppm). Yan *et al.* (2022), evaluaron nanopartículas de sulfato de cobre para el control *P. carotovorum*, con una CL₅₀ de 17 ppm; lo anterior representa una CL₅₀ 13.8 veces menor a la obtenida en las bacterias evaluadas en esta investigación (233.14 y 234.77 ppm). Díaz (2022) menciona que la CL₅₀ para *Fusarium solani* con ácido salicílico fue de 13,959 ppm., mientras que en esta investigación la CL₅₀ para *P. carotovorum* y *B. cepacia* fue de 227.46 y 983.04 ppm, siendo las CL₅₀ 61.37 y 14.2 veces inferiores a lo reportado por Díaz (2022).

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, los ingredientes activos que mostraron mayor porcentaje de inhibición en ambas bacterias (*B. cepacia* y *P. carotovorum*) fueron kasugamicina, ácido salicílico y sulfato de cobre pentahidratado. Siendo el sulfato de cobre pentahidratado el que mostró mayor eficiencia en ambas bacterias (90.84 y 86.31 % de inhibición); mientras que el sulfato de kanamicina solo mostro eficiencia del 93.54 en *B. cepacia*.

BIBLIOGRAFIA

- Abdalla, ME, Hamza, S., Fayzalla, SA, y Seeda, SEE (2013). Control poscosecha de patógenos bacterianos de pudrición blanda del bulbo de cebolla almacenado. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 4 (11), 945-957.
- Abd-El-Khair, H., Abdel-Gaied, TG, Mikhail, MS, Abdel-Alim, AI y El-Nasr, HIS (2021). Control biológico de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, agente causal de la podredumbre blanda bacteriana en hortalizas, pruebas in vitro e in vivo. *Boletín del Centro Nacional de Investigación*, 45, 1-9.
- Alvarez, A. M., Buddenhagen, I. W., Buddenhagen, E. S., and Domen, H. Y. 1978. Bacterial blight of onion, a new disease caused by *Xanthomonas* sp. *Phytopathology* 68:1132-1136
- Belo, T., du Toit, L. J., & LaHue, G. T. (2023). Reducing the risk of onion bacterial diseases: A review of cultural management strategies. *Agronomy Journal*, 115, 459–473.
- Bermúdez Reyes, T. F. (2019). Estructura productiva-económica, comercial externa y nivel de competitividad de la cebolla fresca de bulbo: 1990-2015.
- Berne, C., Ducret, A., Gail G.H., & Brun, Y. V. (2015). Adhesins involved in attachment to abiotic surfaces by Gram- negative bacteria. *Microbiology Spectrum*, 3(4), 1-45. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0018-2015>
- Blanco-Meneses, Mónica, Castro-Zúñiga, Oscar, & Calderón-Abarca, Anny. (2023). Diagnóstico del uso de antibióticos en regiones productoras de tomate en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 47 (1), 87-99. <https://dx.doi.org/10.15517/rac.v47i1.53967>
- Brenner, D. J., y Farmer III, J. J. 2005. Family I. Enterobacteriaceae. Pp. 587-607. In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (eds.). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Second edition. Volumen Two. Proteobacteria. Part B. The Gammaproteobacteria. Springer Michigan USA.
- Brewster, J. L. 2001. Las cebollas y otros Alliums. Ed. Acribia, S. A. España. 253p.

- Burkholder, W. H. 1950. Sour skin, a bacterial rot of onion bulbs. *Phytopathology* 40:115–118.
- Caballero-Mellado, J., Martínez-Aguilar, L., Pardes-Valdez, G., and Estrada-de los Santos, P. 2004. *Burkholderia unamae* sp. nov., an N₂-fixing rhizospheric and endophytic species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54:1165-1172. <http://dx.doi.org/10.1099/ijms.0.02951-0>
- Castillo, S. R. (2022). Alternativa biorracional para el control de la maleza en el cultivo de cebolla *Allium cepa* L. Tesis de licenciatura de Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 90.
- Chimal P., R. P. (2016). Análisis temporal de la enfermedad raíz rosada en cultivos de cebolla del estado de Morelos, México. ¿Instituto Politécnico Nacional (Tesis de maestría) 70 p. <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/19485/Tesis%20MC%20Reyna%20Paloma%20Chimal%20Pool%20Junio%202016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chorolque, A., Ardizzi, C. P., Pellejero, G., Aschkar, G., Navarro, F. J. G., & Ballesta, R. J. (2018). Incidence of bacterial diseases associated with irrigation methods on onions (*Allium cepa*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(14), 5534–5540.
- Da Silva, A., de Jesus, H., & Dutta, B. (2021). Effects of irrigation method, nitrogen rate, and fertilizer application timing on bacterial diseases in *Vidalia* onion, Georgia 2020. *Plant Disease Management Reports*, 15, V012
- Díaz, A. R. J. 2022. Manejo de la pudrición basal del ajo mediante principios activos de origen botánico y químico. Tesis doctoral Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 53.
- Dilruba S.; Alam M. M.; Rahman M. A.; Hasan M. F. 2006. Influence of nitrogen and potassium on yield contributing bulb traits of onion. *Internatinal Journal of Agricultural Reaserch*. 1: 85-90. ease of onion. Pages 267-292 in: *Allium Crop Science: Recent Ad-*
- Du Toit, L. J., Derie, M. L., Gundersen, B., Waters, T. D., & Darner, J. (2021a). Effects of late-season cultural practices on bacterial leaf blight and bulb rot in an onion bulb crop in Pasco, WA, 2020. *Plant Disease Management Reports*, 15, V100

- Dutta, B., & Tyson, C. (2021a). Evaluation of digging methods on post-harvest incidence of center rot and sour skin in onion, Georgia 2020. *Plant Disease Management Reports*, 15, V025.
- Dutta, B., Anderson, F., Smith, S., & Gitaitis, R. D. (2017). Epiphytic survival of *Pantoea ananatis* on *Richardia scabra* L. in Georgia. *Plant Disease*, 101(4), 613–618
- Fernández, J. (2016). Enfermedades del cultivo de cebolla en el Perú y el Mundo, Power point, 113 diapositivas <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2958/H20-C8-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Garrity, G., Staley, JT., Boone, DR., De Vos, P., Goodfellow, M., Rainey, F A., and Schleifer, KH. 2006. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume Two: The Proteobacteria*. D. J., Brenner, & N. R., Krieg (Eds.). Springer Science & Business Media. <https://www.springer.com/gp/book/9780387241449>
- Gent, D. H., & Schwartz, H. F. (2005). Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with a plant activator, biological control agents, and copper bactericides. *Plant Disease*, 89(6), 631–639
- Ham, JH., Melanson, RA. & Rush, MC. 2011. *Burkholderia glumae*: next major pathogen of rice? *Molecular Plant Pathology* 12: 329-339 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00676.x>
- Hattingh, M. J. y D. F. Walters, 1981. Stalk and leaf necrosis of onion caused by *Erwinia herbicola*. *Plant Dis.* 65:615-618.
- Hayashi, S., Abe, M., Kimoto, M., Furukawa, S., y Nakazawa, T. (2000). El sistema de formación de enlaces disulfuro dsbA-dsbB de *Burkholderia cepacia* está involucrado en la producción de proteasa y fosfatasa alcalina, motilidad, resistencia a metales y resistencia a múltiples fármacos. *Microbiología e inmunología*, 44 (1), 41-50.
- Jacobs, JL., Fasi, AC., Ramette, A., Smith, JJ., Hammerschmidt, R., and Sundin, GW. 2008. Identification and onion pathogenicity of *Burkholderia cepacia* Complex isolates from the onion rhizosphere and onion field soil. *Applied and Environmental Microbiology* 74:3121-3129. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01941-07>
- Kim, J., Kang, Y., Choi, O., Jeong, Y., Jeong, Y., Jeong, J-E., Lim, JY., Kim, M., Moon, JS., Suga, H. & Hwang, I. 2007. Regulation of polar flagellum genes is mediated by quorum sensing and FlhDC in *Burkholderia glumae*. *Molecular*

Microbiology, 64(1), pp.165-179. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05646.x>

- Kim, S.-G., Lee, S.-B., Jo, S.-J., Cho, K., Park, J.-K., Kwon, J., Giri, S. S., Kim, S.-W., Kang, J.-W., Jung, W.-J., Lee, Y.-M., Roh, E., & Park, S.-C. (2022). Phage Cocktail in Combination with Kasugamycin as a Potential Treatment for Fire Blight Caused by *Erwinia amylovora*. *Antibiotics*, 11(11), 1566. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111566>
- Li Puma JJ, Currie BJ, Peacock SJ, Vandamme PAR. Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Cupriavidus, Pandoraea, Brevundimonas, Comamonas, Delftia and Acidovorax. In: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed. Washington, DC: ASM press; 2011. p. 692–713.
- Lipinzki, V. M. 1997. Fertilización y riego. En: Galmarini C. R. (Ed), *Manuel del cultivo de la cebolla*. Centro Regional Cuyo, INTA, Argentina. p 57-60
- López, R. (2003). Caracterización de patógenos implicados en bacteriosis de judía-grano (*Phaseolus vulgaris* L.) en Castilla y León, puesta a punto de un método de inoculación y búsqueda de fuentes de resistencia en variedades locales. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Departamento de Producción Vegetal y Silvopascicultura.
- Mark, G. L., Gitaitis, R. D., and Lorbeer, J. W. 2002. Bacterial diseases of onion. Pages 267-292 in: *Allium Crop Science: Recent Advances*. H. D. Rabinowitch and L. Currah, eds. CABI Publishing, New York.
- Mata V. H.; Patistán P. J.; Vázquez G. E.; Ramírez M. M. 2011. Fertilización del cultivo de cebolla con riego por goteo en el sur de Tamaulipas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Noreste. Campo
- Medina G. G.; Zegbe D. J. A.; MENA C. J.; Gutiérrez L. R., Reveles H. M., Zandate H. R.; Ruiz C. J. A.; Díaz P. G.; Luna F. M. 2009. Potencial productivo de especies agrícolas en el Distrito de Desarrollo Rural Zacatecas, Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental Zacatecas. Publicación Técnica No. 3, 207p
- Mills AAS, Plat HW, Hurta RAR (2006). Sensitivity of *Erwinia* spp. to salt compounds in-vitro and their effect on the development of soft rot in potato tubers in storage. *PostHarvest Biol. Technol.* 41:208-214.

- Navarro G. M. 2012. Efecto de una correcta nutrición en la calidad final de la cebolla. Memoria 3er Conferencia de Cebollas. Irapuato, Gto., México. s/p
- Ntushelo K. (2017). Effect of Salicylic Acid on the Growth and Chemical Responses of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. Pakistan journal of biological sciences: PJBS, 20(6), 278–288. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.278.288>
- Núñez C., J. J. (2017). Uso de abono orgánico en el crecimiento de plántulas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Universidad Técnica de Cotopaxi. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, La Maná-Ecuador. (Tesis licenciatura) 31 p. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4131/1/UTCPIM-000048.pdf>
- Oliveira, VHJD (2012). *Estudios sobre la participación del quorum sensing en la regulación de la biosíntesis de exopolisacáridos por aislados del complejo Burkholderia cepacia* (Tesis doctoral).
- Ordoñez T., J. A. (2014). Evaluación agronómica de diez “familias” seleccionadas de Chalote (*Allium cepa* variedad *aggregatum*) en Puenbo-Pichincha. Universidad San Francisco de Quito. Quito, Ecuador. 64 p
- Osuna C., F. D. J., & Ramírez R., S. (2013). Manual para cultivar cebolla con fertirriego y riego por gravedad en el estado de Morelos. Centro de Investigación Regional Pacífico Sur Campo Experimental Zacatepec, Libro Técnico No. 12 Zacatepec, Morelos. <https://www.researchgate.net/profile/FelipeOsuna/publication/279852442>
- Ramette, A., J. J. LiPuma, and J. M. Tiedje. 2005. Species abundance and diversity of *Burkholderia cepacia* complex in the environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:1193–1201.
- RAMÍREZ, P. (1996). Botánica, morfología y fisiología. *El cultivo de ajos y cebollas en Colombia. Corpoica, ICA, Pronatta. Santa Fé de Bogotá*, 9-17.
- Reveles-Hernández, M.; Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres L. R. y Cid-Ríos J. A. 2014. Guía para producción de cebolla en Zacatecas. Folleto Técnico No. 62 Campo Experimental Zacatecas, CIRNOC- INIFAP. Calera, Zacatecas, México. 40 p
- Sadik, S., Mazouz, H., Benbouazza, A. B. A., & Achbani, E. H. (2015). Biological control of bacterial onion diseases using a bacterium,

Pantoea agglomerans 2066-7. International Journal of Science and Research, 4(1), 103–111

- Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R., Fischer-LeSaux, M., Achouak, W., and Gardan, L. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder *et al.* 1953) Brenner *et al.* 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. And delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 55:1415-1427.
- Schwartz HF, Mohan KS. 2008. Compendium of onion and garlic diseases and pests. 2nd ed. St Paul, MN, USA: American Phytopathological Society. 127p.
- Schwartz, HF y Mohan, SK (Eds.). (2016). *PARTE I: Enfermedades infecciosas/bióticas. Compendio de enfermedades y plagas de la cebolla y el ajo, segunda edición, 8–86.* doi:10.1094/9780890545003.002
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2013. Bases de Datos SAGARPA-SIAP. México, D.F.
- Stoffella, P. J. 1996. Planting arrangement and density of transplants influence sweet spanish onion yields and bulb size. HortScience 31:1129–1130. *thomonas* sp. Phytopathology 68:1132-1136. vances. H. D. Rabinowitch and L. Currah, eds. CABI Publishing,
- Teviotdale, B. L., R. M. Davis, J. P. Guerard, and D. H. Harper. 1989. Effect of irrigation management on sour skin of onion. Plant Dis. 73:819–822.
- Venegas, R. (2013). Producción de semilla botánica de cebolla, cultivar roja arequipeña (*Allium cepa* L.). Canaán 2750 msnm-Ayacucho.
- Waitz, JA, Moss Jr, EL, Drube, CG y Weinstein, MJ (1972). Actividad comparativa de sisomicina, gentamicina, kanamicina y tobramicina. *Agentes antimicrobianos y quimioterapia*, 2 (6), 431-437. Universidad Nacional de San Cristóbal. (Tesis licenciatura) 83 p. [file:///C:/Users/reycal/Downloads/TESIS%20AG1070 Ven.pdf](file:///C:/Users/reycal/Downloads/TESIS%20AG1070%20Ven.pdf)
- Wright, P. J. 1993. Effects of nitrogen fertilizer, plant maturity at lift-ing, and water during field curing on the incidence of bacterial softrot of onions in store. N.Z. J. Crop Hortic. Sci. 21:377-381.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Oyaizu, H., Yano, I., Hotta, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T., y Arakawa, M. "Propuesta de *Burkholderia* gen. nov. y transferencia de siete especies del grupo de homología II del género *Pseudomonas* al nuevo

género, con la especie tipo *Burkholderia cepacia* (Palleroni y Holmes 1981) comb. nov." *Microbiol. Immunol.* (1992) 36:1251-1275. [Fe de erratas: *Microbiol. Immunol.* (1993) 37:335.