

## Diferenciación de los aislamientos de la bacteria *Pseudomonas solanacearum* obtenidos de papa

V. PAZOS, M. CRUZ Y M. HEVESI

*Dpto. de Botánica, Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Escuela de C. Biológicas, UH*

*Recibido: 8 de julio de 1976*

**ABSTRACT.** Isolates of *Pseudomonas solanacearum* from potatoes, which showed pathogenicity on tomato and potato but not on tobacco, were inoculated on different host plants to determine to which race they belonged. They were inoculated on eggplants and banana and infiltrated on tobacco leaves. The bacterial isolates were pathogenic on eggplants were not on bananas, and induced a hypersensitive reaction on tobacco leaves. These bacterial isolated may be a new race or better yet, a different pathotype of race 3.

**RESUMEN.** Aislamientos de la bacteria *Pseudomonas solanacearum* obtenidos de papa en Cuba fueron patógenos en tomate y en papa, no así en tabaco. Para determinar a cuál raza pertenecían, se inocularon además en plantas de plátano, berenjena y se infiltraron en hojas de tabaco. Los aislamientos indujeron reacción de hipersensibilidad (HR) en las hojas de tabaco infiltradas, fueron patógenos en berenjena y no así en plátano. Estos aislamientos de acuerdo a los resultados obtenidos pudieron constituir una raza diferente o más bien un patotipo diferente de la raza 3.

### INTRODUCCION

*Pseudomonas solanacearum* (Smith) es un patógeno importante de plantas cultivables y silvestres, principalmente de la familia Solanaceae (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 1974; *Buddenhagen y Kelman*, 1964).

El estudio de esta bacteria (*Kelman*, 1953) y su diferenciación en subespecies ha sido objeto de trabajo de numerosos investigadores (*Lozano y Sequeira*, 1970; *Buddenhagen y cols.*, 1962).

Buddenhagen y cols., (1962) diferenciaron los aislamientos de *P. solanacearum* en tres razas, utilizando el rango de hospederos. Las razas se caracterizaron de la siguiente forma: raza 1, afecta al tabaco, tomate, otras solanáceas y ciertos plátanos diploides; raza 2, afecta a los plátanos triploides y ciertas heliconias; raza 3, afecta papa y tomate y no es altamente virulenta en otras solanáceas.

Lozano y Sequeira, (1970) propusieron diferenciar a *P. solanacearum* utilizando la técnica de infiltración en hojas de tabaco (Klement, 1963), dado que las tres razas de la bacteria inducen diferentes reacciones en las hojas infiltradas, la raza 1 no produce síntoma visible de HR en las hojas inoculadas a las 24 horas, después de 36 horas se observa una necrosis oscura rodeada de un halo amarillo; la raza 2 induce HR típico después de las 12 horas de realizada la infiltración; la raza 3 no induce HR, sino una decoloración amarilla en el área infiltrada después de 48 horas de realizada la infiltración.

En el presente trabajo se utilizaron las proposiciones de Buddenhagen y cols., (1962) y de Lozano y Sequeira, (1970) con vistas a la caracterización de los aislamientos de *P. solanacearum* obtenidos del cultivo de papa en nuestro país (Pazos y Hevesi, 1974).

## MATERIALES Y METODOS

### *Cultivos bacterianos*

Se utilizaron doce aislamientos de la bacteria *Pseudomonas solanacearum* (Smith), obtenidos de plantas de papa y tubérculos afectados de marchitamiento bacteriano (Pazos y Hevesi, 1974), mantenidos en agua destilada estéril a 7°C. Para observar la virulencia de los cultivos, se sembró en medio de Kelman con 2, 3, 5-cloruro de trifetil tetrazolium, seleccionándose las colonias blancas, fluidas con el centro ligeramente rosado (Kelman, 1954).

Las bacterias se cultivaron en medio de Kelman sin cloruro de tetrazolium. La incubación se realizó a 28°C.

*Pruebas de patogenicidad*

Se realizó infiltración en hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) variedades Harvin, White Burley, San Vicente y Criollo con jeringuilla y aguja hipodérmica, con suspensiones de la bacteria de  $10^8$  células/ml, medida en espectrofotómetro Spekol EKI, lavadas de un cultivo de 24 horas de crecimiento en medio plano inclinado (*Klement, 1963*). Las plantas se mantuvieron a una temperatura aproximada de  $26^{\circ}\text{C}$  e iluminación natural. Las plantas testigos fueron infiltradas sin bacteria.

Para observar los cambios de la población bacteriana en el tabaco, se infiltraron tres mitades de hojas de dos plantas de tabaco var. White Burley con suspensiones de aproximadamente  $10^8$  cel/ml, medidas en espectrofotómetro. Se tomaron muestras con un horador de 7 mm de diámetro de cada mitad de hoja infiltrada, macerándose en 0,3 ml de suero fisiológico en un mortero estéril, realizándose diluciones decimales seriadas, las cuales se sembraron en placas Petri con medio de Kelman sin cloruro de tetrazolium. Las muestras se tomaron a diferentes tiempos, la primera inmediatamente después de realizada la infiltración y a las 10, 12, 14 y 17 horas siguientes.

Se utilizó como control de trabajo la concentración bacteriana obtenida en el primer tiempo, comparándolas con las que se obtuvieron en los tiempos siguientes.

Se inocularon plantas de plátano vars. Valery, Parecido al Rey y Cavendish Enano, con dos de los aislamientos bacterianos, con una jeringuilla y aguja hipodérmica en el pseudotallo (*Berg, 1971*), utilizando unas suspensiones bacterianas de una concentración aproximada de  $8.6 \times 10^8$  y  $2 \times 10^{10}$  cel/ml.

De igual forma se inocularon las plantas testigo utilizando suero fisiológico estéril.

Se inocularon plantas de berenjena de aproximadamente 15 cm de altura con los aislamientos bacterianos, punzándole el tallo con un pequeño inóculo extraído de un cultivo de 24 horas de crecimiento. Se dejaron plantas testigos, punzadas en el tallo sin inóculo.

## RESULTADOS

Los doce aislamientos de la bacteria indujeron reacción necrótica (HR) en las hojas de tabaco infiltradas, después de 17 horas de realizada la infiltración (Fig. 1).



Fig. 1. Reacción de hipersensibilidad inducida en hojas de tabaco por los aislamientos obtenidos de papa de la bacteria *Pseudomonas solanacearum*.

La población bacteriana en las hojas de tabaco infiltradas, experimentó un ligero incremento en las primeras 10 horas, cayendo abruptamente a partir del momento en que se observó la necrosis del tejido, alrededor de las 17 horas (Fig. 2).

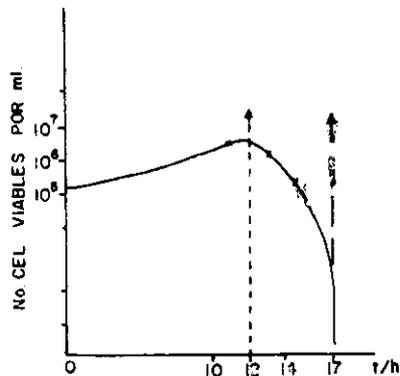


Fig. 2. Cambios en la población de la bacteria infiltrada en hojas de tabaco var. White Burley.

Las plantas de plátano no presentaron síntomas típicos de la enfermedad, (marchitez). A los tres días se observaron pequeñas manchas necróticas atípicas, en las hojas que estaban en contacto con la suspensión bacteriana. Las plantas testigos no presentaron alteración alguna.

Las plantas de berenjena presentaron marchitez típica a partir de los 4 días de haberse inoculado (Fig. 3).



Fig. 3. Plantas de berenjena, a la izquierda planta testigo, a la derecha planta con síntomas avanzados de marchitez, después de habersele realizado inoculación artificial.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Lozano y Sequeira, (1970) plantearon que las razas de *Pseudomonas solanacearum* (Smith) pueden diferenciarse utilizando la técnica de infiltración en hojas de tabaco (Klement, 1963) y que existe correlación entre estos resultados y las razas descritas por Buddenhagen y cols., (1962).

Los aislamientos de papa nuestros presentan patogenicidad en el tomate y en la papa no así en el tabaco (Pazos y Hevesi, 1974) son fuertemente patógenos en la berenjena, no son patógenos en el plátano e inducen HR en las hojas de tabaco infiltradas. Se corresponderían a la raza 3 según el criterio de Buddenhagen y cols., (1962) pero presentan fuerte patogenicidad en la berenjena y no debían inducir HR, según lo establecido por Lozano y Sequeira, (1970), luego si se interrelacionan los criterios constituirían una raza distinta a las descritas, ya que inducen HR, no son patógenas al tabaco y son fuertemente patógenas en la berenjena.

Es de señalar que otros autores (*Granada y Sequeira, 1975*) encontraron inducción de HR en hojas de tabaco, con aislamientos compatibles de la bacteria (raza 1).

Luego la inducción de necrosis (HR) en las hojas de tabaco, no constituye un criterio sólido para diferenciar razas de esta bacteria, dado que los autores referidos encontraron esa reacción en la raza 1 y nosotros la encontramos con nuestros aislamientos, que no son compatibles en el tabaco, los cuales constituirían la raza 3, dado que son aislamientos de papa. Podríamos pensar que estamos en presencia de una nueva raza o más bien de un patotipo diferente de la raza 3.

### RECONOCIMIENTOS

Agradecemos a Caridad Pérez y María E. Fajardo la colaboración prestada durante la realización del trabajo.

### REFERENCIAS

- BERG Z. A. Weed hosts of the SFR strains of *Pseudomonas solanacearum*, causal organism of bacterial wilt of bananas. *Phytopathology*, 61, 1314, 1971.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Edition. The William and Wilkins Co., Baltimore, 1974.
- BUDDENHAGEN I. W., SEQUEIRA L. AND KELMAN A. Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52, 727, (Abstract), 1962.
- GRANADA G. A. AND SEQUEIRA L. A hypersensitive reaction induced in tobacco leaves by a compatible (race 1) isolate. *Phytopathology* 65, 731, 1975.
- KELMAN A. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina. *Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. No. 99*, 194, 1953.
- KELMAN A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44, 693, 1954.
- KLEMENT Z. Rapid detection of pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonas*. *Nature* 199, 299, 1963.
- LOZANO J. C. AND SEQUEIRA L. Differentiation of races of *Pseudomonas solanacearum* by a leaf infiltration technique. *Phytopathology* 60, 833, 1970.
- PAZOS V. Y HEVESI M. Marchitamiento bacteriano de la papa. *Revista Cenic* 5, 131, 1974.