

Carácter serológico de *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson

A. DUARTE, V. PAZOS Y M. HEVESI

*Escuela de Ciencias Biológicas y Dpto. de Botánica,
Centro Nacional de Investigaciones Científicas,
La Habana, Cuba*

Recibido: 26 de diciembre de 1975

ABSTRACT. *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson the causal agent of the cabbage rot disease was observed on cauliflower culture in 1973. This work is a serological study to compare the isolates of the bacteria of both culture (cauliflower and cabbage) from 1973 with the isolates of the bacteria from cabbage obtained a year before. It was observed two serotypes of this bacteria.

RESUMEN. La bacteria *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson, agente causal del ennegrecimiento de las nerviaciones de la col, se observó en el cultivo de la coliflor en el año 1973. Este trabajo es un estudio serológico para comparar los aislamientos de la bacteria obtenidas de cultivo de col y de coliflor de un año anterior. Se observaron dos serotipos de la bacteria.

INTRODUCCION

Los cultivos de la col en nuestro país, se han visto gravemente afectados por la enfermedad ennegrecimiento de las nerviaciones, durante los años 1972 y 1973. También se observó la enfermedad en el cultivo de la coliflor en el año 1973.

La bacteria *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dawson, agente causal de esta enfermedad, es de gran importancia por las afectaciones que ocasiona en las crucíferas; se caracterizó bioquímicamente y con pruebas de patogenicidad con vistas a su identificación (*Pazos y Hevesi, 1974*) en el cultivo de col. Los aislamientos de la bacteria obtenidos del cultivo de coliflor (datos no publicados) presentan iguales características bioquímicas y de patogenicidad que los aislamientos de col. Dada la poca literatura que sobre esta bacteria existe y la no observación de diferen-

cias bioquímicas y de patogenicidad entre los aislamientos obtenidos nos llevó a la diferenciación de los mismos utilizando métodos serológicos.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 13 aislamientos de la bacteria a partir de plantas de col (*Brassica oleracea* var. Premium) obtenidas en nuestro laboratorio (*Pazos y Hevesi, 1974*).

Se seleccionaron dos de los aislamientos de la bacteria de col CO₃ y CO₉ para obtener antisuero. Antes de comenzar a realizar la inoculación al conejo para obtener el suero, se hizo la preinmunización con una suspensión bacteriana de 10⁸ cel/ml que se había tratado en la autoclave durante 30 minutos a 121°C y a 1 atm. de presión, inoculándose 0.15 ml intravenosamente. Tres días después se inoculó 0.1 ml de suspensión bacteriana, no tratada con calor (concentración aproximada de 10⁸ cel/ml), con intervalos de 3 días se inoculó 0.3 ml y 0.5 ml. Cinco días después 2 ml y por último 5 ml de la suspensión bacteriana.

Antes de matar al conejo se tomó una muestra de sangre para conocer el título que tenía el suero. La titulación obtenida fue de 1 : 1280, considerándose como buena. La concentración de fenol utilizada para preservar el suero es de 0.5%.

Para la preparación de las suspensiones bacterianas se hizo siembra masiva de la bacteria en frasco Roux con medio agar nutriente lavada con suero fisiológico con una concentración aproximada de 10⁸ cel/ml.

Se realizó una primera prueba de aglutinación con suspensiones de la bacteria viva según el método de Mackie y Mc. Cartney.

Los tubos de aglutinación se ponen en Baño de María a 37°C durante 2 horas, observándose los resultados 24 horas después.

Preparación de las diluciones.

Se prepararon 14 tubos con 0.5 ml de suero fisiológico y un primer tubo con 0.9 ml, el cual constituyó la primera dilución del antisuero 1 : 10 y a partir del mismo se tomaron 0.5 ml de suero fisiológico formando 1 : 20 y así sucesivamente, hasta lograr una dilución 1 : 1280.

Para una segunda prueba de aglutinación se trató la suspensión de bacteria de una concentración aproximada de 10⁸ cel/ml en Baño de

María a 100°C durante 2 horas para eliminar antígenos termolábiles (*Lovrekovich y Klement, 1961*).

Se realizó por el método de difusión en gel de agar (*Ouchterlony, 1958*). Para este método se preparó una suspensión bacteriana de aproximadamente 10^8 cel/ml tratada en autoclave a 121°C y a 1 atm de presión durante 2 horas; se llenaron para ello placas de Petri de 10 cm con 15 ml de medio Ion-Agar al 0.75% (en suero fisiológico con 0.5% de fenol) se hicieron reacciones cruzadas con los antisueros y los aislamientos de los dos diferentes años. Se mantuvieron las placas a una temperatura aproximada de 24°C.

RESULTADOS

Con la técnica de inmunodifusión en gel de agar se obtuvieron los siguientes resultados:

Se observa parcial identidad entre los aislamientos de col aislados en 1972 y 1973 (Fig. 1).

En los aislamientos de coliflor aislados de 1973 se observa identidad antigénica, pero muestran una parcial identidad con los aislamientos de col de 1972 que sí son homogéneos entre sí (Fig. 2).

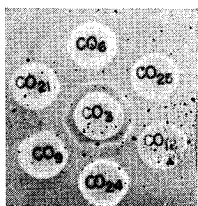


Fig. 1

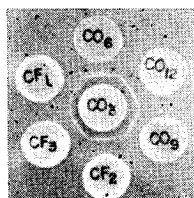


Fig. 2

Fig. 1. Se puede ver que los aislamientos de col del año 1972 (CO_6 , CO_{12} y CO_9) y las del año 1973 (CO_{24} , CO_{25} y CO_{21}) presentan parcial identidad.

Fig. 2. Los cultivos de col del año 1972 (CO_6 , CO_{12} y CO_9) son homogéneos y los aislamientos de coliflor (CF_1 , CF_2 y CF_3) del año 1973 son homogéneos pero entre ambos grupos hay parcial identidad.

Luego probablemente la fuente de infección causante de la enfermedad en los 2 años eran distintas, ya que se pudo observar, la presencia de dos serotipos de la bacteria, un serotipo cada año.

CONCLUSIONES

No se observaron diferencias entre los cultivos bacterianos obtenidos de col en los dos años, ni con los cultivos de coliflor utilizando la técnica de aglutinación en tubos, cuando se usaron suspensiones bacterianas tratadas o no al calor.

REFERENCIAS

- LOVREKOVICH L. Y KLEMENT Z. Species specific antigens of *Pseudomonas tabaci*. *Acta Microbial. Hung.* 8, 303, 1961.
- OUCHTERLONY O. Diffusion in gel methods for immunological analysis. *Progs. Allergy.* 5, 1, 1958.
- PAZOS V. Y HEVESI M. Ennegrecimiento de las nervaciones de la col. *Revista CNIC.* 5, 121, 1974.