

# **BACTERIOSIS QUE AFECTAN AL CULTIVO DEL TABACO** BACTERIOSIS THAT AFFECTS CULTIVO OF THE TOBACCO

Ing. María Victoria Ramírez Medina

Centro Meteorológico Provincial. Matanzas

Email: maria.ramirez@mtz.insmet.cu

Zunilda Amador García Centro Meteorológico Provincial. Matanzas Cuba

#### **RESUMEN:**

Hasta el momento se han estudiado las principales Bacteriosis que afectan al cultivo del tabaco con este material facilitamos información detallada de éstas, su sintomatología en Cuba y otros Países, imágenes de los síntomas, agentes causales y su descripción, su clasificación taxonómica, en fin pretendemos con este material que productores y personas interesadas adquieran más conocimientos a la hora de atender el cultivo y detectar a tiempo cualquier síntoma de enfermedades producidas por bacterias en el cultivo del tabaco

Palabras claves: Bacteria, tabaco

### ABSTRACT:

Until the main moment they have studied the Bacteriosis that affects to the culture of the tobacco with this material we facilitated detailed information of these, its group of symptoms in Cuba and other Countries, images of the symptoms, causal agents and their description, its taxonomic classification, in aim we try with this material that producing and interested people more knowledge at the time of taking care of the culture acquire and in time detecting any symptom of diseases produced by bacteria in the culture of the tobacco

**Keywords:** Bacteria, Tobacco,

# INTRODUCCIÓN

El tabaco (Nicotiana tabacum L.) en nuestro país, constituye un cultivo importante, ya que es la fuente de ingreso de muchos agricultores.

El tabaco (Nicotiana tabacum L.) se usa con frecuencia en pruebas de hipersensibilidad porque tiene hojas con espacios internevales grandes que se infiltran fácilmente. El colapso dentro de las 48 horas del tejido vegetal en la zona infiltrada indica que la bacteria posiblemente sea un patógeno de otro hospedante.

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar las principales enfermedades producidas por bacterias en el cultivo del tabaco, entre estas tenemos:





- Marchitamiento Bacteriano o Podredumbre parda. (cuarentenada en Cuba)
- Quema Bacteriana o Fuego Salvaje. (cuarentenada en Cuba)
- Mancha angular de la hoja o quemado negro (mancha angulata)
- Podredumbre blanda bacteriana del tabaco
- Pudrición Foliar

#### ANTECEDENTES:

Estudios realizados por diferentes autores sobre bacterias en el cultivo del tabaco han demostrado algunos detalles sobre las principales bacterias que lo afectan por separado, algunos describen uno u otro síntoma de la enfermedad, otros escriben sobre su distribución geográfica en Cuba y otros Países, otros detallan sobre los agentes causales y su descripción y otros presentan algunas imágenes de las bacterias.

# DESARROLLO MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras: Durante la estación de crecimiento del cultivo, cada 15 días se recorrerán los lotes de tabaco, recolectando hojas que presenten síntomas característicos de enfermedades bacterianas, registrando: fecha, variedad y una descripción de los síntomas observados a campo.

<u>Aislamientos y patogenicidad:</u> De cada muestra colectada, cinco trozos de tejido lesionado, cortados asépticamente, serán macerados en una caja de petri con 5 ml de agua estéril. Luego de 10 minutos de reposo la suspensión obtenida se sembrará en estrías sobre placas petri con medio semiselectivo king B (KB) para *Pseudomonas* sp. o YDC para *Xanthomonas* sp. (Schaad, 1988).

Cada aislamiento será purificado realizando diluciones en serie y siembra en los medios de cultivo mencionados. Para cada aislamiento se realizarán pruebas de patogenicidad, sobre diez hojas de plantas del cultivar DM 4800 RR crecidas en invernáculo, en estado V<sub>1</sub> de la escala de Fehr *et al.* (1971) dejando una hoja sin inocular como testigo. La inoculación consistirá en provocar heridas en las hojas, presionándolas suavemente con un papel de lija N° 60 estéril y asperjar un mililitro de una suspensión conteniendo 10<sup>8</sup> UFC/ml (Lopez y Cambra, 1996)

Luego de la inoculación las plantas serán colocadas en cámaras húmedas (RH> 90%, Temp. 25 ± 5° C) por 24 h, posteriormente trasladadas al invernáculo para observar el progreso de los síntomas. Los pasos de aislamiento y purificación serán repetidos desde las plantas donde se desarrollan síntomas, para cumplir con los postulados de Koch.

## Identificación de las bacterias



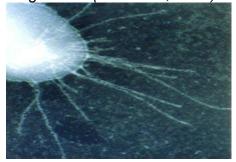


Las cepas aisladas con el procedimiento descrito se identificarán utilizando técnicas inmunológicas como ELISA (Enzime Linked Immunosorbent Assay) y pruebas bioquímicas siguiendo los lineamientos propuestos por Schaad (1988).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Sintomatología en Cuba y otros países

Marchitamiento Bacteriano: Lucas (1975) plantea que los primeros síntomas de esta enfermedad se manifiestan por la marchitez de una o dos hojas de la planta durante el calor del día pudiéndose recuperar estas hojas durante la noche. Si la enfermedad progresa lentamente, las adquieren un verde más claro y pueden tomarse hoias afectadas amarillas poco a poco, la vena central y secundarias se ponen flácidas y formando las hoias quedan colgadas como una sombrilla. Frecuentemente aparecen zonas necróticas entre las venas y los bordes de las hojas de las plantas. Los tejidos vasculares muestran una coloración castaña a negra en el tallo, la raíz principal y secundarias (Echando, 1991). La aparición viscosa en forma de diminutas burbujas de color blanco sucio en el tallo es un signo característico para el diagnóstico (Akerhurst, 1973).



Agente causal: Ralstonia solanacearum (Smith) Yabucci et al.

R. solanacearum es una bacteria de forma bacilar, bastonada, sus células miden aproximadamente 0.5 x 1.5 u (Haywad y Waterton, 1964), no forma esporas. Las células virulentas no poseen flagelos mientras que los cultivos avirulentos muestran de 1 a 4 flagelos polares y son altamente móviles. La bacteria acumula gránulos de poli-betahidroxibutirato (PHB), material orgánico de reserva (lípidos) y produce un pigmento carmelita que difunde en los medios de cultivo y se acentúa en presencia de tirosina. Reduce los nitratos a nitritos con una frecuente producción de amoniaco, no hidroliza el almidón y licua la gelatina. La temperatura óptima de crecimiento varia entre las cepas y se sitúa entre 25-35 °C (Bradbury, 1964, Mehan et. al., 1964) En el medio de cultivo TZC (Kelman, 1954) las colonias virulentas son de forma irregular, blancas con centro rozado y apariencia lechosa. El color del centro de la colonia se hace más intenso con la edad del cultivo bacteriano.

Clasificación taxonómica

Dominio: Bacterias





Filum: Proteobacteria
Clase: Betaproteobacteria
Orden: Burklolderiales
Familia: Ralstoniaceae

Fuego Salvaje: En las hojas los síntomas iníciales se presentan en forma de pequeñas manchas de color verde oscuro o pardo, redondas o ligeramente angulares que pueden ser escasas o abundantes según el grado de desarrollo de la enfermedad. El halo clorótico en la fase inicial es tenue y los síntomas se aprecian mejor en el envés de la hoja. Posteriormente las pequeñas manchas coalescen y forman lesiones necróticas grandes, de color pardo rodeado de tejidos cloróticos. Resalta el color negruzco de las manchas y en los tejidos alrededor. El halo clorótico se percibe a simple vista, la bacteria puede sobrevivir hasta dos años en la semilla siendo esta fuente primaria de propagación, también puede sobrevivir en restos de plantas o malezas u otros hospederos nativos capaces de servir como fuente de inóculo.



Agente causal: Pseudomonas syringae pv tabaco

Es una bacteria aerobia, gran negativa, en forma de cocos, bacilos mótiles, por la presencia de flagelos polares que pueden estar en números hasta seis, las características Bioquímicas es positiva a la producción de levan, no tiene actividad pectinolítica, es oxidasa negativa, arginosa dihydrolase negativa, reducción de nitratos y no crece a temperaturas de 41°C, es positiva al Betain, inositol, manitol, sorbitol, triglonelline, quinate y L tartrato y no utiliza adonitol, D-tartrate,, L-lactate, anthranilate, homoserina, geranitol, benzoato, celobiaza, trehalose, D-arabinose, L-rhamnosa, D-aspartato

## Pseudomonas syringae pv tabaco

Dominio: Bacterias

Filum: Proteobacteria
Clase: Betaproteobacteria
Orden: Burklolderiales
Familia: Pseudomonas

Mancha angular de la hoja o quemado negro: Produce manchas más oscuras que *Pseudomonas tabaci* y carentes del halo, tienen un aspecto





angular, generalmente las manchas son muy pequeñas en los semilleros, y su identificación requiere una observación minuciosa. En el campo pueden juntarse y adquirir una forma circular. En las infecciones muy graves los nervios se pudren y se vuelven negros.





➤ Podredumbre blanda bacteriana del tabaco: Pudrición de plántulas, la cual se inicia en los tallos y posteriormente toda la planta colapsada, ataca a las hojas y el tallo, incluso a las hojas en la casa de curación si estas vienen contaminadas del campo, es la enfermedad bacteriana más frecuente aún cuando no ocasiona severos daños, vive en el suelo y sobrevive en restos de cosecha, penetra por heridas, afecta toda la planta, follaje, raíces y tallos., dura 3 meses en el suelo.



Agente causal: *Pectobacterium carotoborum* subsp. *carotovora*. G. Actual Pectobacteriun

Colonias de color blanco traslúcidas en medio agar nutritivo y blanco crema en agar carbonato de calcio levadura, brillantes, redondeadas y levantadas, Gram negativa con forma de bastón anaeróbica facultativa, catalasa positiva y oxidasa negativa, positiva a la producción de H<sub>2</sub>S, licuefacción de la gelatina, producción de indol, acetoin, hidrólisis del asculin y agar dextrosa rojo fenol y negativa a la hidrólisis del almidón, fosfatasa y lecitinasa. Creció en el medio D<sub>3</sub> de Kado con coloración típica para ese medio y produjo ácido de trehalosa, celobiosa, fructosa, galactosa, glucosa, glicerol, lactosa, manitol, sucrosa y xilosa.

Pectobacterium carotoborum a subsp. Carotovora





Dominio: *Bacterias*Filum: *Aerobacteria* 

Clase: Betaproteobacteria

Orden: Pantotoea
Familia: Pectobacterium

Pudrición Foliar: Manchas húmedas de color pardo oscuro que al desarrollarse provocan la pudrición de la planta, las yemas terminales se necrosan, poniéndose ligeramente húmedas y blandas, cuando el síntoma se extiende y cubre la hoja esta adquiere color verde olivo y se torna completamente transparente, las nerviaciones primarias y secundarias se reblandecen y oscurecen alcanzándose a las 72 horas la desintegración total de las plantas.

#### AC: Pseudomonas cichorrii

Colonias bacterianas de color blanco opaco, forma de basto, tamaño 1,71  $\square$  m (1) y 0,69  $\square$  m (a), con presencia de flagelos polares, fluorescencia en medio B de King; no produce oxidasa, ni indol no pudre la papa, arginina- dehidrolasa negativa, Bacilos y cocos Gram. +

#### CONCLUSIONES

- ➤ Uso de variedades resistentes de tabaco para un mayor éxito en el control de la enfermedad. (López et al.,1978; Quezado – Soraes et al., Dalal et al 1999)
- Rotación de los cultivos. Alternando los suelos con cultivos no susceptibles para contribuir a deprimir los niveles del patógeno en el suelo. Por Ejemplo: En el Marchitamiento Bacteriano la incidencia de la enfermedad fue reducida, aumentando los rendimientos del tabaco curado al fuego a través del uso de cultivares resistentes y rotación con maíz y fríjol de soya en comparación con el tabaco cosechado continuo (Melton y Powell, 1991). Se debe rotar las áreas de semilleros.
- Utilizar semilla sana o desinfestada para su propagación La detección temprana de la enfermedad, cumplimiento de medidas cuarentenarias en los campos infestados, el control de malezas hospederos y en algunos casos nemátodos.





- Desinfección del suelo, estos organismos pueden sobrevivir en el suelo y ser trasladados por las corrientes de agua superficial de las lluvias o el riego, marco de plantación que permita buena ventilación.
- Mantener niveles óptimos de humedad para evitar encharcamientos ( la humedad favorece el desarrollo de las bacterias en el cultivo)
- ➤ El saneamiento es una táctica preventiva que contribuye a disminuir las posibilidades de entrada y establecimiento de las bacterias en los campos principalmente las siguientes medidas:
  - a) Desinfección de los instrumentos de labores culturales (machetes, cuchillos, azadas, etc).
  - b) Limpieza y desinfección de las manos.
  - c) Desinfección de las suelas de los zapatos.
  - d) Corte, extracción del campo y quema de los órganos infestados
- ➤ El acceso a los campos debe ser mínimo ya que estos organismos pueden ser trasladados en la capa del suelo que se adhiere a las suelas de los zapatos, neumáticos de los tractores y otros vehículos.
- Cuba es probablemente el único País de América Latina que ha podido mantener la enfermedad (marchitamiento bacteriano y fuego salvaje) bajo control y limitar su presencia, gracias a las medidas establecidas dentro del programa de defensa.
- > Tratamientos con productos cúpricos: oxicloruro de cobre, sulfato cúprico, óxido cuproso, etc. o Kasugamicina.

# **BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**

- 1. Adhikari TB, Basnyat RC. Effect of crop rotation and cultivar resistance on bacterial Witt tomato in Nepal Can. J. Pathol.20:283-28. 1998
- 2. Albomoz A. *Ralstonia solanacearum* Determinación de los biovares existentes en Cuba CNCV. LCCV Informe Técnico. 2001
- 3. Bradbury, J.F. 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB, International Mycological Institute. 1986. p. 1-6.
- 4. Budde,I.P y Ullrich, M.S. Interactions of *Pseudomonas syringae* pv glyciniab with host and nonhost plant in relation to temperature and phytotoxin synthesis.Mol Plant-Microbe Interact. 2000. 13:951-961
- 5. Burger, A. and Eichenlaub, R. Genetics of phytopathogenic bacteria. Prog. Bot. 64:98-114. (Gram positive bacteria). 2003
- 6. Cother, E. J.; K. Sivasithamparam. 1983. Erwinia: The "*Carotovora*" Group. *In*: Plant Bacterial Diseases. A diagnostic guide. P. C. Fahy and G. J. Persley (eds). New York. Academic Press. p. 87-101. 1983
- 7. Dalal NR, Dalal SR, Golliwar, VG.. Khobragade RI. Studies on grading and prepackaging of some bacterial wilt resistant brinjal (Solanum melongena L.) varieties. J. Soils & Crops, 9:223-226. 1999
- 8. Echandi E. Bacterial Wilt.In: Shew HD, Lucas GB, eds. Compendium of tobacco Diseases. St. Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society. 1991 33-35





- 9. EPPO, PQR. database (version 4.1). Paris, France: European and Mrditerranean Plant Protection Organization. 2002
- 10. Faria A.; Y. HERNÁNDEZ; G. TRUJILLO.. Obtención de antisueros a *Erwinia chrysanthemi* y a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. Fitopatología Venezolana 10:26 (Resumen). 1997
- 11. Forting, B.A and Martin, S:B. Disease management strategies for control of bacterial will of tobacco in the Southeaster USA .1998. pp 394-402.
- 12. Goto, M. 1990. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. New York, Academic Press. 1990.341 p.
- 13. Granada G.A. *Pseudomona solanacearum* Potencial inóculo y su determinación. La Marchitez Bacteriana *Pseudomona solanacearum* de la papa en América Latina CIP Lima. Perú. 1984. pp 55 71.
- 14. Jordan A. Lista oficial de Organismos Cuarentenados Grupo I y II y de Organismos peligrosos. Resolución 441/96. Gaceta Oficial de la República de Cuba. La Habana 7 de Octubre. 1996
- 15. Kado C.I.; M.G. Hesket. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas and Xanthomonas. Phytopathology 60:969-976. 1970.
- 16. KWON S. W.; S. J. GO; H. W. KANG; J. C. RYU; J. K. JO,. Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA gene sequences. Int. J. Syst. Bacteriol. 47:1061-1067. 1997
- 17. Marques, A.; Corbiére, R.; Gardan, L.; Tourte, C.; Monceau, C.; Taylor, J.D. y Samson, R. Multhiphasic apoca for the different classification levels of *Pseudomonas savantanoi pv phaseolicola. Eur.J.Plant Pathol*. 106:715-734. 2000
- 18. Mergaert J.; L. Hauben, M. C. Cnocart; J. Swings. Reclassification of non-pigmented *Erwinia herbicola* strains from trees as *Erwinia billingiae* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:377-383. 1999
- 19. Ministerio de Agricultura y Cría (MAC). Dirección de Estadística e Informática. Caracas, Venezuela. 1997
- 20. Schaad N.W y Jones, J.B. Plant Pathogenic Bacteria. Third edition.APS PRESS. Pág 84-102. 2000.
- 21. Stefanova M. Estudios sobre el Marchitamiento Bacteriano causado por Pseudomonas solanacearum en Cuba. Tesis Canditatura. 1982
- 22. Tanaka, M.A.S.; Ito, Dudienas, C. Y Rodríguez Neto, J, *Pseudomonas syringae pv tabaci* on snap bean at Itababa región. *Summa Phytopathol.* 19(1):31-34. 1993.
- 23. Trujillo G.; Y. Hernández. Plantas de tabaco afectadas por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Fitopatología Venezolana 10:25 (Resumen). 1997.
- 24. Wullings BA, Van BeuningenBeuningen AR, Janse JD, Akkermans ADL. Detection of Ralstonia solanacearum, Which causes brown rot of potato, by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA-targeted probes. Applied and Environmental Microbiology, 64:4546-4554. 1998.



25. Zdorovenko G.M., Solyanik L.P.; Yakovleva L.M y Paramonov N.A. Characterization of O-Antigens from different strains of *Pseudomonas syringae pv tabaci.* 2002.

Fecha de recepción: 19/02/2009 Fecha de aprobado: 03/04/2009